

Revista de la
Facultad de **Medicina Veterinaria**
y de **Zootecnia**

ISSN-L: 0120-2952

ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN, REPORTES DE CASO Y REVISIÓN

VOL. **69** N.º **3**
SEPTIEMBRE-DICIEMBRE
DE 2022



Revista de la
Facultad de **Medicina Veterinaria**
y de **Zootecnia**



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Artículos de Investigación, Reportes de Caso y Revisión

Volumen 69 n.º 3, septiembre-diciembre de 2022

© UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y DE ZOOTECNIA

Vol. 69 n.º 3, septiembre-diciembre 2022

ISSN-enlace (ISSN-L): 0120-2952

ISSN en línea: 2357-3813

DOI: 10.15446/rfmvz (CrossRef)

<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/remezvz/index>

Correo electrónico: rev_fmvzbog@unal.edu.co

Teléfono: 3165000 Ext. 15403 y 15331

Bogotá, D. C., Colombia

DECANA

Lucía Botero Espinosa

VICEDECANA

Gloria Amparo Casas Bedoya

DIRECTOR DE BIENESTAR

Harvey Lozano Márquez

DIRECTOR DEPARTAMENTO DE SALUD ANIMAL

Hugo Andrés Gutiérrez Trujillo

DIRECTOR DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Miguel Ángel Landines Parra

DIRECTORA DE PROGRAMA DE POSGRADO

Ligia Mercedes Jiménez Robayo

DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN

Jairo Aureliano Jaime Correa

REPRESENTANTE DE LOS PROFESORES

Giovanni Vargas Hernández

SECRETARIO ACADÉMICO

Juan Sebastián Mora Cárdenas

EDITOR GENERAL

Sandra Milena Vásquez Mejía Universidad Nacional de Colombia. smvasque@unal.edu.co

COMITÉ CIENTÍFICO Y EDITORIAL:

Benjamin M. Bohrer. Ph. D., The Ohio State University. Estados Unidos.

Alexandra Calle Madrid. Ph. D., Texas Tech University. Estados Unidos

Aroa Suárez Vega. Ph. D., Universidad de Leon. España.

Francisco Javier Martínez Cordero. Ph. D., Research Center for Food and Development. México.

Hans Henrik Stein. Ph. D., University of Illinois. Estados Unidos.

Isabel Gómez-Redondo. Ph. D., GlaxoSmithKline. España.

Lizandra Amoroso. Ph. D., Universidade Estadual Paulista. UNESP. Brasil.

César Agustín Corzo Rugeles. Ph. D., University of Minnesota. Estados Unidos.

Martha Olivera Ángel. Ph. D., Universidad de Antioquia. Colombia.

Silvia Martha Feijóo, Especialista en Clínicas Médica de Pequeños Animales, Universidad de Buenos Aires. Argentina.

Águeda Aparecida de Oliveira, Ph.D., Universidad Federal Rural de Rio de Janeiro. Brasil.

Jerri Teixeira Zanusso, Ph.D., Universidad Federal de Pelotas. Brasil.

COORDINADOR (A) EDITORIAL:

Luz Grass Bernal. I. A. rev_fmvzbog@unal.edu.co

CORRECCIÓN DE ESTILO

Lina Rojas Camargo

MAQUETACIÓN

Julián Hernández–Taller de diseño. director@julianhernandez.co

DERECHOS DE AUTOR Y COPYRIGHT

Los derechos de publicación de los contenidos de esta revista pertenecen a la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia. Se autoriza la citación y reproducción de los contenidos con fines académicos y científicos, siempre y cuando se indique explícitamente el nombre de la revista, el nombre de los autores, el año, el volumen, el número y las páginas del material fuente, de acuerdo con los estándares de citación de literatura científica vigentes. La reproducción de la totalidad de alguno de los artículos en otros medios de difusión debe contar con la aprobación del editor de la revista. Los contenidos publicados son responsabilidad exclusiva de los autores.

DOAJ
DIRECTORY OF
OPEN ACCESS
JOURNALS
www.doaj.org

SciELO Colombia
www.scielo.org.co

SciELO
<https://scielo.org/>

redalyc.org
www.redalyc.org

latindex
catálogo
www.latindex.org

e-revist@s
<https://ddd.uab.cat>

Dialnet
<https://dialnet.unirioja.es/>

CAB ABSTRACTS
www.cabi.org

REDIB
www.redib.org

AGRIS
www.fao.org/agris/data-provider/universidad-nacional-de-colombia

LILACS
Literatura Latinoamericana y del
Caribe en Ciencias de la Salud
<https://lilacs.bvsalud.org/>

EBSCO
EBSCO Essentials

Contenido

Política editorial _____ 233

Editorial

Aplicaciones y perspectivas del monitoreo de la salud intestinal en avicultura

Diana Marcela Álvarez Mira _____ 234

Artículos de investigación

Salud animal

Supervivencia observada en tres familias de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) infectadas con *Streptococcus agalactiae*

[Survival observed in three families of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected with *Streptococcus agalactiae*]

C. O. Sánchez Roncancio, R. T. Fonseca de Freitas _____ 236

Isolation of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum β -lactamases from dog urine of the Metropolitan Area of the Aburrá Valley (Antioquia, Colombia)

[Aislamiento de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de beta-lactamasas de espectro extendido a partir de orina de perros del Área metropolitana del Valle de Aburrá Antioquia -Colombia]

A. M. Ochoa, M. I. García, A. V. Cienfuegos, L. Vásquez-Jaramillo _____ 245

Diagnóstico de parasitosis gastrointestinal en ganado vacuno de razas carniceras con diferentes técnicas coproparasitológicas

[Diagnosis of gastrointestinal parasitosis in beef cattle of butcher breeds with different coproparasitological techniques]

M. A. Saldivia Paredes, E. J. Espinoza Cornuy, N. F. Figueroa Alfaro, M. Delgado Gutiérrez, A. Droppelmann Delgado _____ 259

Producción animal

Lack of evidence for *Mycoplasma* spp. in bulk tank milk of herds located in mid-western Colombia

[Falta de evidencia para *Mycoplasma* spp. en leche de tanques de enfriamiento de hatos del centro-occidente colombiano]

J. Velasco-Bolaños, A. S. Jaramillo-Jaramillo, N. A. Villa-Arcila, S. Piepers, S. Dufour, A. Ceballos-Márquez _____ 268

Establecimiento de biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno, tendiente a la producción de zooplancton

[Establishment of biofloc at three carbon/nitrogen ratios, tending to the production of zooplankton]

L. F. Collazos-Lasso, M. Ueno-Fukura, Y. Jiménez-Moreno (Q.E.P.D.), L. Suárez-Contento, E. Aya-Baquero _____ 281

Artículo de revisión**Desarrollo rural**

Apropiación de los elementos de innovación social en organizaciones comunitarias agropecuarias del departamento de Boyacá, Colombia

[Appropriation of the elements of social innovation in community agricultural organizations of the department of Boyaca, Colombia]

C. A. Vega-Pérez, L. S. Camargo-Castillo _____ 299

Producción animal

Perspectivas de uso sostenible del grillo doméstico tropical (*Grylloides sigillatus*) para la alimentación humana en Colombia

[Prospects for the sustainable use of the tropical house cricket (*Grylloides sigillatus*) for human consumption in Colombia]

H. Arévalo Arévalo, D. Vernot, K. Barragán-Fonseca _____ 310

Reportes de caso**Salud animal**

Unilateral perineal hernia surgery. Case report

[Cirugía unilateral de hernia perineal. Reporte de caso]

P. S. Nakaza, A. C. Rodrigues Silva, A. L. Alves de Brucker, D. Mesquita Grangeiro, P. U. Carnauba Vicente, J. Cirqueira dos Santos, D. Carvalho Viana _____ 325

Instrucciones para los autores y consideraciones éticas _____ 334

Instructions for authors and ethical considerations _____ 339

Instruções aos autores e considerações éticas _____ 343

Índice de autores _____ 348

INDEXACIÓN:

La REVISTA DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá D. C., se encuentra referenciada en los siguientes índices y bases de datos:

- SciELO Colombia
- Scielo Citation Index-Web of Science (Thomson Reuters)
- CAB-Abstracts (CAB International)
- Redalyc
- DOAJ (Directory of Open Acces Journals)
- LILACS
- Latindex (UNAM)
- Agris-FAO
- Dialnet
- e-revistas
- Redib
- Ebsco Essentials

Nuestros contenidos Open-Access se pueden consultar y bajar en:
www.revistas.unal.edu.co/index.php/remezvez/index

Política editorial

La *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia* fue creada en 1929 por el doctor Doménico Geovine, decano de la Escuela Nacional de Medicina Veterinaria, hoy Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. En el medio universitario y en el área pecuaria, es la revista del área de mayor antigüedad. Desde su creación su objetivo ha sido ofrecer un medio escrito de expresión para toda la comunidad académica interna y externa, en el cual exponer sus ideas, resultados de investigación, ensayos etc., en relación con el quehacer científico en el área de las Ciencias Animales y otras afines. Su filosofía ha sido tener un carácter abierto, decididamente transparente y democrático, no solo en la participación de los articulistas sino en los procedimientos internos de gestión. La Revista busca cumplir con sus objetivos de divulgar los trabajos de investigación, documentos críticos y de revisión técnico científica, permitiendo la difusión del conocimiento entre profesionales de las áreas pecuarias; siempre en la búsqueda de información pertinente y actualizada de temas relacionados con el sector y propendiendo a obtener reconocimiento en la comunidad en general, editando una revista que permita la interacción de la academia con el medio.

Periodicidad: cuatrimestral.

Arbitraje:

Los manuscritos y propuestas de publicación serán evaluados por medio de criterios explícitos, según el tipo de material, por pares académicos externos mediante la modalidad de doble ciego con cuando menos dos evaluadores por manuscrito. La evaluación procurará identificar los aportes a la innovación científica tecnológica o pedagógica de las propuestas, frente al estado vigente de conocimiento en una disciplina; los pares académicos externos deben emitir un concepto de aprobación, modificación o reprobación y en caso de un concepto dividido será el Comité Editorial quien determine la decisión final. Así mismo, el Comité Editorial o el editor en jefe podrán recomendar o negar la publicación del manuscrito, o solicitar la corrección de forma o de fondo del mismo.

Los criterios por aplicar en la evaluación académica de los manuscritos y propuestas son los siguientes:

- Pertinencia de contenido o temática: los textos deberán abordar las cuestiones que resulten relevantes de manera directa o indirecta, para la comprensión de alguna de las disciplinas y profesionales de la salud y la producción animal.
- Rigor argumental: los trabajos deberán tener un pensamiento formal coherente y lógico.
- Coherencia metodológica: concordancia entre el planteamiento del problema, los objetivos, resultados e interpretaciones.
- Claridad conceptual: correspondencia entre términos científicos o técnicos empleados en la finalidad temática.

Aplicaciones y perspectivas del monitoreo de la salud intestinal en avicultura

La integridad intestinal es crucial para la salud, el bienestar y el desempeño productivo de los animales. La avicultura es un sistema de producción de proteína de origen animal sostenible y sus altos estándares de eficiencia exigen un monitoreo constante de la salud intestinal como una herramienta clave para la toma de decisiones oportunas a nivel de campo.

La producción avícola ha demostrado un crecimiento considerable a nivel mundial desde 1970. En 2021, la industria avícola colombiana produjo 1,7 millones de toneladas de carne de pollo y 17 millones de unidades de huevos, para un crecimiento del 4,4%. El consumo per cápita también se incrementó respecto a 2020, ubicándose en 2021 en 35,1 kg de pollo y 334 huevos al año, aportando el 30% del PIB agropecuario colombiano (Fenavi, 2022). Estas cifras posicionan a la carne de pollo y al huevo como las principales fuentes de proteína consumidas por los colombianos y resaltan su importancia para la seguridad alimentaria y la economía del país.

La situación económica y sociopolítica global pospandemia ha llevado a un incremento histórico en los precios de los suministros y la energía, lo cual refuerza la necesidad de producir alimentos de manera eficiente y sostenible. En la industria avícola, el alimento es el mayor componente del total de costo de producción, lo que lleva a buscar la mejor eficiencia nutricional posible.

El término salud intestinal aún no está completamente definido a pesar de ser foco de investigación en la última década. Recientemente se han propuesto seis dominios principales de funcionalidad del tracto gastrointestinal, los cuales incluyen: la dieta, la estructura y función de la barrera intestinal, la interacción del huésped con la microbiota, la digestión y la absorción de nutrientes, el estado inmunológico y la función motora y neuroendocrina. Estos componentes están vinculados entre sí a través de una variedad de mecanismos fisiológicos complejos.

En la pérdida de la función intestinal están involucrados tres mecanismos diferentes pero interconectados: la disbiosis, la permeabilidad de la barrera mucosa y la inflamación. La identificación de estos componentes y el desarrollo de posibles biomarcadores será esencial para facilitar estudios sobre la patogénesis de las afecciones entéricas, monitorear el estado de salud intestinal bajo condiciones de campo y ayudar al desarrollo de estrategias de prevención pronta y oportuna que puedan reducir la necesidad de antibióticos usados en forma terapéutica.

Diversas investigaciones han postulado varios biomarcadores con sus ventajas y desventajas. Un buen biomarcador debe ser sensible, predictivo, confiable y específico. La mayoría de los marcadores más confiables que se encuentran disponibles actualmente requieren de una muestra invasiva, lo que implica el sacrificio del animal; estos son: la medición de parámetros de morfología intestinal, la regulación de genes relacionados con la mucosa (proteínas de unión estrecha, receptores inmunes, citoquinas de respuesta inmune innata y adaptativa, péptidos de restauración celular, radicales libres de oxígeno y enzimas), proteínas de fase aguda y metabolitos o componentes bacterianos en hígado. No obstante, también existen marcadores no invasivos que se

evalúan en materia fecal, relacionados principalmente con la microbiota, sus productos metabólicos o proteínas a través de tecnologías ómicas o de ELISA.

A pesar de todo lo anterior, son muchos los retos y desafíos que se presentan al momento de escoger el marcador indicado, dónde y cuándo utilizarlo e identificar si realmente es predictivo de salud. Igualmente, en diversas regiones del mundo, hay varios desafíos para poder llevar estas estrategias de un nivel individual a uno poblacional y del laboratorio al campo. El desarrollo y la validación de las técnicas, la ausencia de reactivos, las limitaciones tecnológicas, la poca disponibilidad de información en relación con los rangos de referencia y las diferencias en los modelos y metodologías hacen difícil extrapolar los hallazgos a diferentes sistemas productivos y realizar comparaciones significativas.

Debido a la complejidad de las interacciones entre los componentes claves de la funcionalidad gastrointestinal, es claro que no existe un biomarcador único y/o universal para evaluar la salud intestinal y se necesitan biomarcadores que puedan ser detectados fácilmente en fluidos biológicos o excretas para una evaluación rápida y temprana a nivel de granja. La mejor opción podría ser utilizar un panel o combinación de múltiples marcadores que incluya uno de cada área o dominio, teniendo una aproximación holística desde diferentes técnicas y relacionándolo con indicadores de desempeño, salud y bienestar. A mediano y largo plazo, el desarrollo tecnológico de las ciencias ómicas asociado al aprendizaje automático y al desarrollo de algoritmos específicos para el monitoreo continuo de la salud intestinal serán herramientas poderosas.

En los próximos años, la medición de rutina de la salud intestinal en granja deberá ser posible mediante el uso de herramientas rápidas, sencillas y costoefectivas para predecir el rendimiento productivo y asegurar la salud y el bienestar animal.

Diana Marcela Álvarez Mira

MV. MSc. Profesora Medicina Aviar

Coordinadora Laboratorio de Patología Aviar

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia

Universidad Nacional de Colombia

REFERENCIAS

Fenavi. 2022. Información estadística Fenavi, Federación Nacional de Avicultores de Colombia. Disponible en: <https://fenavi.org/estadisticas/>

Supervivencia observada en tres familias de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) infectadas con *Streptococcus agalactiae*

C. O. Sánchez Roncancio^{1*} , R. T. Fonseca de Freitas² 

Recibido: 15/06/2021. Aprobado: 02/01/2022

RESUMEN

La estreptococosis es una de las principales enfermedades en los peces de agua dulce que causa altas tasas de mortalidad. El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta en la supervivencia a la infección por *Streptococcus agalactiae* en tres familias de tilapia. El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Enfermedades de los Peces de la Universidad Federal de Lavras. Se utilizaron peces con un peso de $93,7 \pm 5,4$ g de tres familias diferentes (FA, FB y FC). Se utilizaron 36 peces en cada unidad experimental, inoculados intraperitonealmente con 10^7 UFC/mL de *Streptococcus agalactiae* por peces y un grupo control por familia con 9 peces con 1 mL de caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón) evaluados durante 15 días. No hubo mortalidad del grupo control. Se observó la presencia de exoftalmia, coloración oscura en todo el cuerpo, letargo y dilatación abdominal antes de la muerte en las tres familias evaluadas expuestas al patógeno. El estimador no paramétrico de Kaplan-Meier se utilizó para observar las curvas de supervivencia. Durante los 15 días del desafío, el tiempo promedio de supervivencia de un individuo en las familias FA, FB y FC fue de 9,4; 6,90 y 8,14 días, respectivamente. Pruebas de *Log-rank* y *Peto & Peto* para evaluar la diferencia entre las curvas de supervivencia arrojaron que no hubo diferencias significativas entre las familias evaluadas ($P=0,08$ y $P= 0,09$), respectivamente.

Palabras clave: estreptococosis, *Streptococcus agalactiae*, *Oreochromis niloticus*, tilapia, Kaplan-Meier.

Survival observed in three families of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected with *Streptococcus agalactiae*

ABSTRACT

Streptococcosis is one of the main diseases in freshwater fish that causes high mortality rates. The objective of this study was to evaluate the survival response to *Streptococcus agalactiae* infection in three families of tilapia. The experiment was carried out at the Laboratory of Fish Diseases of the Federal University of Lavras. Fish weighing 93.7

¹ Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Zootecnia, Campus Universitário. Caixa Postal 3037–CEP: 37.200-000 Lavras, Minas Gerais, Brasil. Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Producción Animal-Docente ocasional, Bogotá, Colombia.

² Professor titular do departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus Universitário. Caixa Postal 3037– CEP: 37.200-000 Lavras, Minas Gerais, Brasil.

* Correo electrónico: cosanchezr@unal.edu.co

± 5.4 g from three different families (FA, FB, and FC) were used. 36 fish were used in each experimental unit, intraperitoneally inoculated with 107 CFU/mL of *Streptococcus agalactiae* per fish and a control group per family with 9 fish with 1 mL of BHI broth (Brain Heart Infusion) evaluated for 15 days. There was no mortality in the control group. The three evaluated families exposed to the pathogen observed the presence of exophthalmia, dark coloration throughout the body, lethargy, and abdominal dilation before death. The Kaplan-Meier nonparametric estimator was used to observe the survival curves. During the 15 days of the challenge, the average survival time of an individual in the FA, FB, and FC families was 9.4, 6.90, and 8.14 days, respectively. Log-rank and Peto & Peto test to evaluate the difference between the survival curves showed no significant differences between the assessed families ($P=0.08$ and $P=0.09$), respectively.

Keywords: streptococcus, *Streptococcus agalactiae*, *Oreochromis niloticus*, tilapia, Kaplan-Meier.

INTRODUCCIÓN

La aparición de brotes de enfermedades infecciosas ha demostrado ser una de las principales limitaciones para la piscicultura intensiva. La estreptococosis es una enfermedad bacteriana causada por *Streptococcus agalactiae* responsable de las altas tasas de morbilidad y mortalidad de muchas especies de peces de agua dulce, marinos y estuarinos, y se caracteriza por septicemia y meningoencefalitis (Evans *et al.* 2002; Mian *et al.* 2009). Los efectos ambientales, sociales y económicos de los brotes de enfermedades en la acuicultura son muchos y pueden ser muy importantes (FAO 2020). En 2017, la tilapia fue uno de los 10 principales grupos de especies acuícolas (clasificada en el cuarto lugar) en términos de cantidad y valor de producción (Cai *et al.* 2019).

La tilapia *Oreochromis niloticus* es la más afectada por enfermedades producidas por *Streptococcus agalactiae*, lo que resulta en una alta mortalidad que puede alcanzar entre 30% y 90% al año, asociada con grandes pérdidas económicas para la industria de la acuicultura anualmente (Li *et al.* 2015). En los cultivos de tilapia, se ha observado un aumento en el número de

casos informados durante la última década, como consecuencia de la intensificación de la producción (Mian *et al.* 2009).

En condiciones naturales, la interacción pez-patógeno habitualmente no es causa de enfermedad; sin embargo, en los sistemas intensivos de producción y según las condiciones de manejo, los agentes etiológicos se exacerbaban y producen cuadros clínicos asociados a pérdidas económicas (Fu *et al.* 2014). Los principales factores de riesgo para la aparición de brotes de estreptococosis son el aumento de la temperatura del agua (por encima de 27 °C), el manejo intensivo, las altas densidades de población, la interacción con los individuos y las altas concentraciones de amoníaco y nitrito (Evans *et al.* 2002; Mian *et al.* 2009; Yannog y Francis-Floid 2013). La presentación clínica de estreptococosis en la forma clásica de la enfermedad es atípica y puede ocurrir de manera concomitante en las fincas (Leal y Figueredo 2018). La tilapia puede infectarse debido a varias razones, incluido el estrés como factor predisponente (Liao *et al.* 2020).

Los métodos para controlar la enfermedad son la vacunación como medida preventiva y el uso de tratamientos con

antibióticos, lo que conlleva el aumento de los costos de la producción. Otra alternativa es la selección genética de peces resistentes a la enfermedad. Es posible que los genes de resistencia y tolerancia estén asociados con los principales factores de la respuesta inmune (Glass 2012). Se puede utilizar la información presente en los candidatos seleccionados o en padres cercanos, especialmente en el caso de enfermedades (Yáñez *et al.* 2014). Varios estudios en diferentes especies acuícolas han demostrado que la resistencia a enfermedades tiene una moderada heredabilidad (h^2) en condiciones de desafío a patógenos bacterianos y virales varían entre 0,03 a 0,60 (Ødegård *et al.* 2011). La variación genética aditiva de *Streptococcus sp.* en tilapia cultivada se determinó con una h^2 del $0,42 \pm 0,07$ para *S. iniae* y $0,58 \pm 0,09$ para *S. agalactiae* (Lafrentz *et al.* 2016) y $0,38 \pm 0,11$ en la selección para *S. agalactiae* (Shoemaker *et al.* 2016). Mediante el uso de diferentes modelos de estimación en el desarrollo de líneas resistentes de tilapia del Nilo a *S. agalactiae* se han encontrado h^2 que oscilan entre $0,15 \pm 0,03$ y $0,26 \pm 0,05$ (Joshi *et al.* 2021). El desarrollo de individuos resistentes representa una estrategia sostenible a largo plazo para controlar esta enfermedad.

Se deben considerar diferentes variables al elegir mejorar la resistencia, como la supervivencia. La metodología de Kaplan-Meier (Kaplan y Meier 1958) permite el análisis de las respuestas de supervivencia, definidas como la probabilidad de que un individuo sobreviva en un periodo de tiempo dado frente a un desafío o tratamiento considerando el tiempo en muchos intervalos pequeños; cuando algunos de los sujetos pueden no experimentar el evento o la muerte antes del final del estudio, se conoce como observaciones censuradas (Goel *et al.* 2010). Analizar

la supervivencia y estimar el tiempo que los animales sobreviven bajo condiciones de enfermedad son buenos estimadores, en contraste con la comparación de los porcentajes de individuos que desarrollan el evento (Goel *et al.* 2010). La selección indirecta de candidatos permite la selección de peces más resistentes dentro de la familia.

Comprender el panorama en relación con la sanidad de los peces y programar una estrategia para seleccionar genes resistentes a una enfermedad determinada reducirá sustancialmente la probabilidad de epidemias porque se observa que, incluso en casos de brotes causados por diferentes bacterias, hay algunos animales que no muestran síntomas de enfermedad y sobreviven. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta en la supervivencia a la infección por *Streptococcus agalactiae* en tres familias de tilapia.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Enfermedades de los Peces de la Universidad Federal de Lavras (UFLA) en Brasil. Se utilizaron 135 peces con un peso de $93,7 \pm 54$ g. Se utilizaron 45 peces para cada una de las tres familias (FA, FB y FC), provenientes del plantel de piscicultura de la UFLA, distribuidos aleatoriamente en cada unidad experimental (cuatro réplicas + grupo de control), en acuarios de vidrio de 57 litros con flujo continuo de agua. Los parámetros de calidad del agua fueron monitoreados al principio y al final de cada día, temperatura promedio de 26°C , pH ($7,3 \pm 0,8$) y concentración de oxígeno disuelto ($\text{OD} = 6 \text{ mg/L} \pm 1$), alimentados dos veces al día con alimento comercial extruido (30% PC), en la proporción de 2% de peso vivo.

Comité de ética

El experimento se realizó de acuerdo con el Comité de Ética sobre el Uso de Animales (CEUA) de la Universidade Federal de Lavras (UFLA), protocolo 017/13.

Para el estudio, se utilizó un aislado patogénico de *Streptococcus agalactiae* obtenido de un brote de estreptococosis en tilapia del Nilo en el estado de Minas Gerais, Brasil, perteneciente al banco bacteriano del Laboratorio de Bacteriología del Departamento de Medicina Veterinaria de la UFLA. La muestra utilizada fue previamente identificada en términos fenotípicos y genotípicos mediante pruebas bioquímicas y posteriormente mediante PCR especie-específico para *S. agalactiae* (Berridge *et al.* 2001). El aislado bacteriano fue almacenado en un congelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, se descongeló y se sembró en agar triptícasas de soya suplementado con sangre equina al 5% (TSA sangre) a $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h. Transcurrido este tiempo, se inocularon en caldo BHI (Infusión Cerebro Corazón) durante 18h a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta alcanzar una densidad óptica de 0,1 a 600 nm, equivalente a una carga bacteriana de 10^7 UFC/mL.

Los peces se aclimataron por 10 días, después de lo cual se suspendió la alimentación durante un día. Durante el experimento de inoculación, los peces fueron anestesiados por inmersión con benzocaína con una dosis de 100 mg / L. Posteriormente, cada pez fue inoculado por vía intraperitoneal (IP) con (10^7 UFC/mL) de *Streptococcus agalactiae*. El grupo control negativo fue solo inoculado vía IP con 1 mL de caldo BHI. Luego de esto, la temperatura del agua de los acuarios se elevó de los $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ y fueron monitoreados durante 15 días. Los peces que morían en cada acuario fueron contados y sometidos a exámenes bacteriológicos de riñón y cerebro.

Para visualizar las curvas de supervivencia, se realizó un Kaplan-Meier y las pruebas de *Log-rank* y *Peto & Peto* para comparar los resultados de supervivencia entre grupos de familias de tilapia desafiadas con *Streptococcus agalactiae* con un $\alpha = 0,05$. Los análisis se realizaron con el software RStudio 3.2.3.

RESULTADOS

Durante el experimento, no hubo mortalidad en los grupos de control de las tres familias. Por tanto, se evaluaron 36 peces por familia, excluyendo el grupo de control de estos análisis. En los peces inoculados, independientemente del día de muerte, se obtuvo crecimiento de *S. agalactiae* en todas las placas en las que se sembraron muestras de riñón y cerebro, lo que resultó en una eficiente inoculación de todas las familias evaluadas. Los peces que murieron 24 h después de la inoculación mostraron un comportamiento similar en las tres familias con natación errática, lenta y balanceo lateral del cuerpo y no mostraron signos clínicos de la enfermedad antes de la muerte. Después de 48 h del desafío, se observó la presencia de exoftalmos, coloración oscura en toda el cuerpo, letargo y dilatación abdominal antes de la muerte en varios peces de las tres familias evaluadas. En la necropsia, se confirmó la presencia de *S. agalactiae* en los peces inoculados. Se presentó mortalidad del 2,8%, 25% y 8,3% para las familias FA, FB y FC, respectivamente a las 24 horas de iniciado el desafío. Sin embargo, en el último día del estudio se presentaron valores del 78%, 91% y 75% como promedio acumulado de mortalidad para las familias FA, FB y FC, respectivamente.

Se observa en la tabla 1 que la variable “sin censura” es la cantidad de peces

muertos durante el desafío por familia. Los peces censurados fueron los que sobrevivieron al desafío, siendo inferiores en FB. Durante los 15 días del desafío, el tiempo promedio de supervivencia de un individuo en las familias FA, FB y FC fue de 9,4, 6,90 y 8,14 días, respectivamente. La mediana de supervivencia que se estimó con el percentil 50 de la distribución en las familias FA, FB y FC fue de 9, 8 y 7 días, respectivamente.

La tabla 2 muestra dos pruebas no paramétricas para la comparación de las curvas de supervivencia *Log-rank* propuesta por Mantel-Haenszel y la *Peto & Peto*, en la que se evidencia que no hubo diferencia significativa entre las familias ($p > 0,05$).

Las funciones de supervivencia estimadas de Kaplan-Meier (figura 1) no fueron estadísticamente significativas entre las curvas de supervivencia de las tres familias evaluadas ($p > 0,05$), la estimación de las curvas solo cambió en momentos en que ocurría un evento, siendo más pronunciados a medida que se censuraron más peces, *number risk* indica que después de 10 días de desafío quedan en riesgo de evento 14,5 y 12 individuos de la FA, FB y FC, respectivamente. En el tiempo cero, la probabilidad de supervivencia es 1,0 (100% vivos) para las tres familias, en el día 1, la mayor caída fue observada en la familia FB, llegando al 0,75 (75%) y muy leve en la familia FA 0,97 (97%); en

TABLA 1. Supervivencia promedio de la tilapia del Nilo hasta el día 15 después de la inoculación de *Streptococcus agalactiae*, con el número de peces censurados y sin censura por familia

Familias	N.º	Supervivencia %	Mediana	Censurados**	No censurados**
FA	36	9,40	9	8	28
FB	36	6,90	8	3	33
FC	36	8,14	7	9	27

*Peces sobrevivientes al desafío.

**Peces muertos por familia.

Fuente: elaboración propia.

TABLA 2. Pruebas no paramétricas de *Log-rank* y *Peto & Peto* utilizadas para comparar curvas de supervivencia de diferentes familias

Familias	N.º	Observado	Esperado	(O-E)²/E	(O-E)²/V
FA	36	28	34,3	1,14	2,17
FB	36	33	24,4	2,99	4,90
FC	36	27	29,3	0,18	0,31
Log-rank : Chisq= 5,1 on 2 degrees of freedom, $p= 0,08$					
Familias	N.º	Observado	Esperado	(O-E)²/E	(O-E)²/V
FA	36	15,4	21	1,450	3,71
FB	36	21,6	16,4	1,663	3,63
FC	36	18,1	17,8	0,005	0,01
Peto & Peto : Chisq= 4,9 on 2 degrees of freedom, $p= 0,09$					

Fuente: elaboración propia.

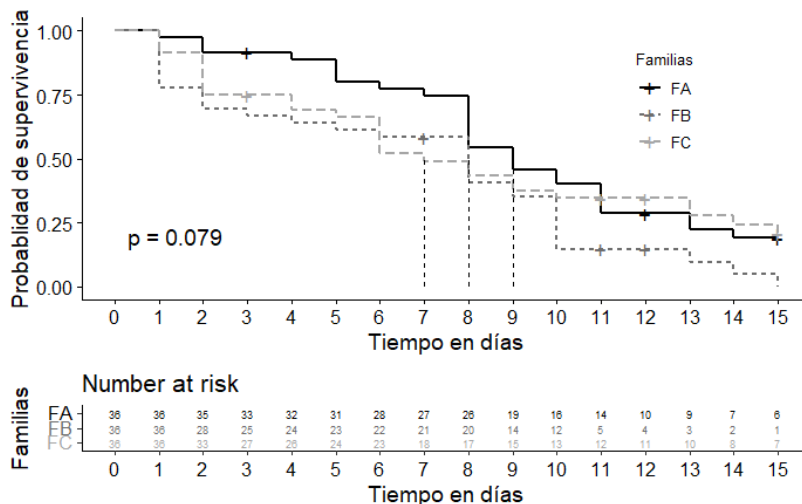


FIGURA 1. Función de distribución de supervivencia de Kaplan-Meier por familias durante el desafío de 15 días.

Fuente: elaboración propia.

el día 6, la probabilidad de supervivencia es aproximadamente 0,78 (78%) para la familia FA, 0,61 (61%) para la familia FB y 0,52 (52%) para la familia FC; al final del desafío (día 15), la probabilidad de supervivencia es del 0,08% de la familia FB y del 22% y 25% de las familias FA y FC, respectivamente.

En la evaluación de frecuencias (figura 2), es posible observar las distribuciones de cada familia según cada grupo de barras en el histograma, en los días 8, 1 y 2 hubo una mayor incidencia de mortalidad para las familias FA, FB y FC, respectivamente.

DISCUSIÓN

Gjedrem (2015) reporta que la selección en los programas de mejoramiento genético reduce con éxito la mortalidad, con una ganancia genética bastante baja en la supervivencia de (5%-8,4%) por generación en diferentes especies, siendo del 5% en

Oreochromis spp. Joshi *et al.* (2021) observan en 35 días de desafío con *S. agalactiae* una mortalidad promedio del 60,2 % y osciló entre 49,5% y el 67% en todas las líneas de tilapia del Nilo. Joshi *et al.* (2020) encuentran que el porcentaje de mortalidad para tilapias del Nilo desafiadas a *S. agalactiae* vía IP en líneas seleccionadas y normales es del 28,67% y 49,67%, respectivamente, y el Kaplan-Meier arroja significancias estadísticas, entre ellas $P < 0,0001$. En el presente estudio, la mortalidad promedio es del 81,3% con 15 días de desafío, y el gráfico de supervivencia de Kaplan-Meier no revela diferencias significativas entre las tres familias FA, FB, FC ($P > 0,05$). Fagundes *et al.* (2016) evalúa la supervivencia en tilapias del Nilo con pesos de $(100 \pm 10 \text{ g})$ las cuales fueron inoculadas con suero inactivado y suero activado que contenía anticuerpos anti *Streptococcus agalactiae* y, luego de 48 horas de desafío, con LD50 ($1 \times 10^8 \text{ UFC/mL}$) de *S. agalactiae*; en la evaluación de

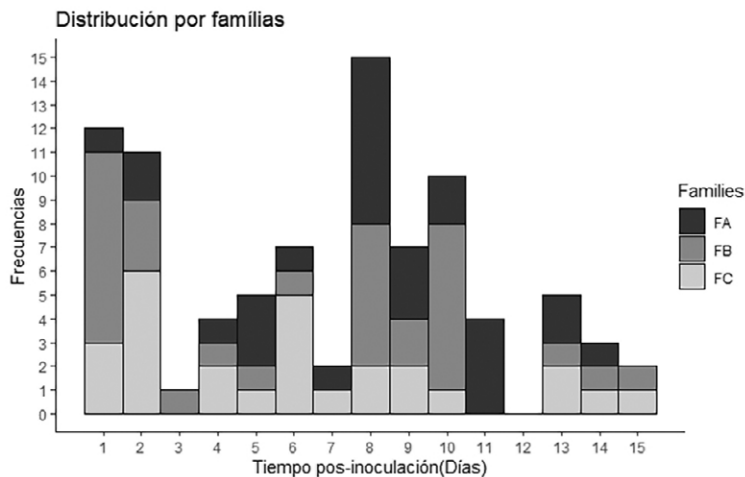


FIGURA 2. Frecuencias de mortalidad de peces después de la exposición a *Streptococcus agalactiae*. Fuente: elaboración propia.

supervivencia, el grupo control muestra una tasa de supervivencia del 0%.

Anshary *et al.* (2014) observan una supervivencia promedio de 1,83 días en el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier en tilapia del Nilo infectada con 10^7 UFC de *S. agalactiae*. En comparación con esta investigación, en los resultados obtenidos en este estudio se encuentra un mayor valor de supervivencia, con 9,4, 6,9 y 8,14 días para las familias FA, FB y FC, respectivamente. Sukhavachana *et al.* (2019) encuentran después de 14 días de inoculación por vía intraperitoneal (1×10^9 UFC/mL) de *S. agalactiae* en tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en las 128 familias de las generaciones base (G0) evaluadas una tasa de supervivencia del 15% y 19 % para los lotes 1 y 2, respectivamente.

Delannoy *et al.* (2014), tras inocular, vía intraperitoneal, diferentes dosis (102, 105 e 107 UFC/mL) de la cepa S 60 de *S. agalactiae* en tilapia, encuentran, por la metodología de Kaplan-Meier, con la

dosis de 107 UFC, en el día 5 después de la inoculación, una mortalidad del 100%. Se observa que en las tres familias evaluadas no se presentó mortalidad del 100 % a los 15 días de la posinoculación en peces llamados censurados.

Abuseliana *et al.* (2011) evalúan diferentes dosis de *S. agalactiae* en juveniles de tilapia roja infectadas por vía intraperitoneal (IP), e identifican que la dosis (3×10^7 CFU / ml) presenta en el día 5 después de la infección un 80% de mortalidad (16/20) y el día con mayor mortalidad es el día 2 (7 peces), siendo el más letal. Suebsong *et al.* (2019) inocularon por vía intraperitoneal 30 peces por familia con *S. agalactiae* con una dosis (1×10^7 UFC / ml), después de 14 días de desafío observan una supervivencia promedio de 9,9% y 18,7% para los lotes 1 y 2, respectivamente. Según la metodología de Kaplan-Meier, las familias evaluadas no difieren entre sí, siendo un resultado confiable para incluir en programa de selección.

CONCLUSIONES

Aunque no se presentaron diferencias al análisis de supervivencia en los peces expuestos a la bacteria *S. agalactiae* entre las diferentes familias, los resultados demuestran que este análisis en desafíos contra patógenos es un punto importante para incluir en los planes de selección de peces para resistencia a enfermedades.

AGRADECIMIENTOS

Universidad Federal de Lavras, UFLA, MG /Brasil.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

FUENTES DE FINANCIACIÓN

Este trabajo fue financiado con recursos de la Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais–FAPEMIG–CVZ APQ 02098/13.

REFERENCIAS





- Abuseliana AF, Daud HHM, Abdul AS, Bejo SK, Alsaid M. 2011. Pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* isolated from a fish in Selangor to Juvenile Red tilapia (*Oreochromis* sp.). *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 10:914- 919. <https://doi.org/10.3923/javaa.2011.914.919>.
- Anshary H, Kurniawan RA, Sriwulan S, Ramli R, Baxa D. 2014. Isolation and molecular identification of the etiological agents of *streptococcosis* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in Lake Sentani, Papua, Indonesia. *Springer plus*. 3:627. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-627>.
- Berridge, BR, Bercovier, H, Frelrier, PF. 2001. *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus diffcile* 16S-23S intergenic rDNA: genetic homogeneity and species-specific PCR. *Veterinary microbiology*. 78:165- 173. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(00\)00285-6](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(00)00285-6)
- Cai J, Zhou X, Yan X, Lucente D, Lagana C. 2017. Food and agriculture organization of the united nation-FAO. 2019. Top 10 species groups in global aquaculture 2017. wapi factsheet (june 2019). rome. Disponible en: <http://www.fao.org/3/ca5224en/ca5224en.pdf>.
- Delannoy CMJ, Zadoks RN, Crumlish M, Rodgers D, Lainson FA, Fergusonm HW, Turnbull J, Fontaine MC. 2014. Genomic comparison of virulent and non-virulent *Streptococcus agalactiae* in fish. *Journal of Fish Diseases*. 39:13-29. <https://doi.org/10.1111/jfd.12319>
- Evans JJ, Klesius PH, Gilbert PM, Shoemaker C A, Al Sarawi MA, Landsberg J, Duremdez R , Marzouk A, Zenki S Al. 2002. Characterization of haemolytic group b *Streptococcus agalactiae* in cultured seabream, *Sparus auratus* L., and wild mullet, *Liza klunzingeri* (day), in kuwait. *Journal of Fish Diseases*. 25(9):505- 513. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00392.x>.
- Fagundes LC, ETO SF, Marcusso PF, Fernandes DC, Marinho-Neto FA, Claudiano GS, Moraes JRE, Moraes FR, Loyola W, Freitas JC, Salvador R. 2016. Transferência passiva de soro hiperimune anti-*Streptococcus agalactiae* e seu efeito profilático em tilápias-do-nilo infectadas experimentalmente: sobrevivência e títulos de anticorpos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 68(2):379-386. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8170>.
- FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>.
- Fu GH, Wan ZY, Xia JH, Liu F, Liu XJ, Yue GH. 2014. The MCP-8 gene and its possible association with resistance to *Streptococcus agalactiae* in tilapia. *Fish & shellfish immunology*. 40:331-6. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.07.019>.
- Glass EJ. 2012. The molecular pathways underlying host resistance and tolerance to pathogens. *Frontiers in genetics*. 3 :1-12. <https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00263>.
- Gjedrem T. 2015. Disease Resistant Fish and Shellfish Are within Reach: A Review. *Journal of Marine Science and Engineering*. 3:146-153. <https://doi.org/10.3390/jmse3010146>.

- Goel MK, Khanna P, Kishore J. 2010. Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate. International Journal Ayurveda Research. 1(4):274-278. <https://doi.org/10.4103/0974-7788.76794>.
- Joshi R, Skaaurd A, Tola Álvarez A. 2020. Experimental validation of genetic selection for resistance against *Streptococcus agalactiae* via different routes of infection in the commercial Nile tilapia breeding programme. J Anim Breed Genet. 138(3):338-348. <https://doi.org/10.1111/jbg.12516>.
- Joshi R, Skaaurd A, Álvarez AT, Moen T, Ødegård J. 2021. Bayesian genomic models boost prediction accuracy for survival to *Streptococcus agalactiae* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Genetics Selection Evolution. 53:37-47. <https://doi.org/10.1186/s12711-021-00629-y>.
- Kaplan EL, Meier P. 1958. Nonparametric estimation from incomplete observations. Journal of the American Statistical Association, 53(283):457-481. <https://doi.org/10.2307/2281868>.
- LaFrentz BR, Lozano CA, Shoemaker CA, García JC, Xu DH, Løvoll M, Rye M. 2016. Controlled challenge experiment demonstrates substantial additive genetic variation in resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Streptococcus iniae*. Aquaculture, 458,134-139. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.034>
- Leal CA, Figueiredo CP. 2018. Mortalidade na piscicultura? O que coletar e como enviar para diagnostico laboratorial. Panaroma da Aquicultura. 168:28-35.
- Li LP, Wang R, Liang WW, Huang T, Huang Y, Luo FG, Lei AY, Chen M, Gan X. 2015. Development of live attenuated *Streptococcus agalactiae* vaccine for tilapia via continuous passage in vitro. Fish & shellfish immunology. 4 5:955-63. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.06.014>
- Liao PC, Tsai YL, Chen YC, Wang PC, Liu SC, Chen SC. 2020. Analysis of Streptococcal Infection and Correlation with Climatic Factors in Cultured Tilapia *Oreochromis* spp. in Taiwan. Applied Sciences. 10:1-10. <https://doi.org/10.3390/app10114018>
- Mian GF, Godoy DT, Leal CAG, Yuhara TY, Costa GM, Figueiredo HCP. 2009. Aspects of the natural history and virulence of *S. agalactiae* infection in Nile tilapia. Veterinary Microbiology. 136:180-183. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.10.016>
- RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA Disponible en: <http://www.rstudio.com/>
- Shoemaker CA, Lozano CA, LaFrentz BR, García JC, Soto E, Xu DH, Beck BH, Rye M. 2016. Additive genetic variation in resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Streptococcus iniae* and *S. agalactiae* capsular type Ib: Is genetic resistance correlated. Aquaculture. 468:193-198. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.10.022>
- Suebsong W, Poompuang S, Srisapoom P, Koonawootrittriron S, Luengnaruemitchai A, Johansen H, Rye M. 2019. Selection response for *Streptococcus agalactiae* resistance in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Journal Fish Diseases. 11:1553-1562. <https://doi.org/10.1111/jfd.13074>
- Sukhavachana S, Poompuanga S, Onmingc S, Luengnaruemitchai A. 2019 Heritability estimates and selection response for resistance to *Streptococcus agalactiae* in red tilapia *Oreochromis* spp. Aquaculture. 502:384-390. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.075>
- Ødegård, J, Baranski, M, Gjerde, B, Gjedrem, T. 2011. Methodology for genetic evaluation of disease resistance in aquaculture species: Challenges and future prospects. Aquaculture Research. 42:103-114. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02669.x>
- Yáñez JM, Houston RD, Newman S. 2014. Genetics and genomics of disease resistance in salmonid species. Frontiers in genetics. 5:1-13 <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00415>

Forma de citación del artículo:

Sánchez Roncancio CO, Fonseca de Freitas RT. 2022. Supervivencia observada en tres familias de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) infectadas con *Streptococcus agalactiae*. Rev Med Vet Zoot. 69(3):236-244. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n3.103804>

Isolation of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum β -lactamases from dog urine of the Metropolitan Area of the Aburrá Valley (Antioquia, Colombia)

A. M. Ochoa¹ , M. I. García¹ , A.V. Cienfuegos² , L. Vásquez-Jaramillo^{1*} 

Recibido: 05/08/2021. Aprobado: 19/11/2021

ABSTRACT

Escherichia coli and *Klebsiella pneumoniae* are the most common pathogens causing urinary tract infections in humans and animals. Close contact between humans and companion animals can facilitate the spread of multidrug resistant pathogens between both species. The objective of the research was to characterize extended-spectrum β -lactamases (ESBL)-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* isolated from dogs with urinary tract infections in the metropolitan area of Valle del Aburrá (Antioquia, Colombia). Three-hundred seventy-one urine samples collected from March 2018 to March 2019 in a veterinary clinical laboratory were analyzed. *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates were detected in chromogenic agar and identified by biochemical tests. Susceptibility testing was performed by disc diffusion and ESBL production was evaluated by the double disk test in all isolates. MIC determination of ESBL-positive isolates were performed on the automated VITEK®2 system. Multiple PCR was used for the detection of CTX-M beta-lactamases (group 1, 2, 9 and 8/25), SHV, TEM, and AmpC of plasmid origin in ESBL-positive isolates. In total 22 out 371 isolates were positive for ESBL production by double disc test, 11 *E. coli* (ESBL-*Ec*) and 11 *K. pneumoniae* (ESBL-*Kp*). The multiple PCR detected CTX-M group 1 in the 22 ESBL-positive isolates. Multi-drug resistance was observed in all ESBL-producing isolates. In conclusion, a high frequency of antibiotic multi-resistance was found in ESBL-*Ec* and ESBL-*Kp*. The main ESBL detected was CTX-M group 1, which also prevails in human isolates.

Keywords: beta-lactam, resistance, dogs, enterobacteriaceae, public health, urinary tract infection.

Aislamiento de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido a partir de orina de perros del Área metropolitana del Valle de Aburrá (Antioquia, Colombia)

RESUMEN

Escherichia coli y *Klebsiella pneumoniae* son los patógenos más comunes causantes de infecciones en tracto urinario en humanos y animales. El contacto estrecho con los animales

¹ Línea de Epidemiología y Salud Pública Veterinaria, Grupo Centauro, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia.

² Línea de Epidemiología Molecular Bacteriana, Grupo Microbiología Básica y Aplicada -MICROBA-, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia.

* Correo electrónico: laura.vasquezj@udea.edu.co

de compañía puede favorecer la diseminación de patógenos multiresistentes entre ambas especies. El objetivo de la investigación fue caracterizar *E. coli* (Ec-BLEE) y *K. pneumoniae* (Kp-BLEE) productores de betalactamasas de espectro extendido provenientes de aislados de caninos con infecciones del tracto urinario del Área Metropolitana del Valle de Aburrá. 371 muestras de orina de caninos colectadas entre marzo de 2018 y marzo 2019 en un laboratorio clínico veterinario fueron analizadas. *E. coli* y *K. pneumoniae* se detectaron en agar cromogénico y se identificaron mediante pruebas bioquímicas. La prueba de susceptibilidad se realizó por difusión en disco y la producción de BLEE se evaluó por test de doble disco en todos los aislados. La determinación de la CIM en aislados positivos a BLEE se realizó en el sistema automatizado VITEK®2. Se utilizó PCR múltiple para la detección de betalactamasas tipo CTX-M (grupo 1, 2, 9 y 8/25), SHV, TEM y AmpC de origen plasmídico en aislados positivos a BLEE. Un total de 22 de 371 aislados fueron positivos a BLEE por test de doble disco, 11 *E. coli* (Ec-BLEE) y 11 *K. pneumoniae* (Kp-BLEE). La PCR detectó CTX-M grupo 1 en los 22 aislados positivos a BLEE. Se observó multiresistencia en todos los aislamientos productores de BLEE. En conclusión, se encontró una alta frecuencia de multiresistencia en Ec-BLEE y Kp-BLEE. La principal BLEE detectada fue CTX-M grupo 1, que también predomina en aislados humanos.

Palabras clave: resistencia a betalactámicos, perros, enterobacteriales, infección del tracto urinario, salud pública.

INTRODUCTION

Bacterial urinary tract infections (UTIs) are a common cause of disease in dogs. The most frequently isolated bacteria in both humans and dogs are *Escherichia coli*, followed by *Staphylococcus*, *Proteus*, and *Klebsiella* species (Byron 2019; Gómez Beltrán *et al.* 2020; Sierra González and Arango Uribe 2017). UTIs and other bacterial infections are frequently treated with β -lactam antibiotics, however resistance to this antibiotic group has increased in the last decade. The main mechanism of resistance to β -lactam in Enterobacteriaceae is the production of extended-spectrum β -lactamases (ESBL). These enzymes confer resistance to penicillins, cephalosporins (including oximinocephalosporins), and aztreonam. On the contrary, ESBL are unable to hydrolyze cefamycins (cefoxitin and cefotetan) and carbapenems (Paterson and Bonomo 2005).

Most ESBLs can be classified into three groups: (i) TEM and (ii) SHV—derived from gene mutations in the classic narrow-spectrum β -lactamases TEM-1, TEM-2, and SHV-1-, and (iii) CTX-M group which predominates over the other ESBL-types globally. CTX-M enzymes possess preferential hydrolytic activity over cefotaxime and have been classified into five groups (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, and CTX-M-25), based on amino acid identities (Bonnet 2004). ESBL-type enzymes are usually encoded in plasmids, facilitating their rapid dissemination between different species through horizontal transfer by conjugation (Morejón García 2013). In addition, the same plasmid can carry genes that encode resistance to quinolones, aminoglycosides, tetracyclines, and trimethoprim/sulfamethoxazole, which contribute to antibiotic multi-resistance

(Tafur *et al.* 2011). Due to their impact on morbidity, mortality, and frequent resistance and limited therapeutic options, carbapenem-resistant and ESBL-producing Enterobacteriaceae are included in the priority pathogens list on antibiotic resistance of the World Health Organization (Tacconelli *et al.* 2017).

Close contact between humans (owners, vets, animal caretakers, etc.) and pets, as well as direct contact with animal secretions during the performance of routine actions related to their care (feeding, grooming, cleaning living spaces, petting), implies a potential transmission risk of pathogens between both species, as well as the transfer of resistance genes. Moreover, since it is very common that dogs urinate in public areas, the contamination of the soil and water sources could represent a problem for the community and the environmental health.

In Colombia, in the clinical practice in companion animals the use of antibiotics that are also used in human medicine is frequent (Cabrera García 2010), mainly β -lactams (Astaiza Martínez *et al.* 2016; Gutiérrez *et al.* 2002). In addition, it is common in daily practice the recognition of pathologies based on presumptive diagnoses and the scarce use of diagnostic aids, such as culture with antibiogram, resulting in the establishment of empirical antibiotic therapies is common in the daily practice (Gómez Beltrán *et al.* 2021; Sánchez *et al.* 2015).

Estimating the use of antimicrobials in companion animal species in Colombia is also difficult. Usually, its magnitude is assessed in reference to the sales reported by the manufacturing laboratories, without considering the dispensing of authorized antimicrobials for human use, as well as injectable antimicrobials designed for

food-producing animals that are also used in companion ones (Cabrera García 2010).

The widespread and excessive use of antibiotics, mainly third-generation cephalosporins have usually been attributed as a selection pressure that drives ESBL evolution (Paterson and Bonomo 2005). Thus, inappropriate use of antibiotics in animals can contribute to the spread of resistant bacteria that cause complicated infections in both animals and humans, and that are associated with higher morbidity, mortality, and treatment costs in humane medicine (Alós 2015). Therefore, understanding the phenomenon of antimicrobial resistance from a veterinary medicine perspective is important to determine its impact on public health.

Although urinary infections in dogs are very common, as well as the use of antibiotics in companion animals is high and contaminated urine can be discharged into the environment, information about the phenomenon of antimicrobial resistance in companion animals in Colombia is limited. Therefore, this study aimed to characterize isolates of ESBLs producing *E. coli* and *K. pneumoniae*, obtained from urine samples of dogs from the metropolitan area of Valle del Aburrá (Antioquia, Colombia).

MATERIALS AND METHODS

Location

In this study urine samples from canines collected at TESTLAB© Veterinary Clinical Laboratory were included. This laboratory performs ESBL-detection test routinely in *E. coli* and *K. pneumoniae* urine isolates. In addition, the laboratory is certified under the Colombian law (ICA ISO 17025 standard). The laboratory

receives samples from veterinary clinics located in the metropolitan area of Valle del Aburrá (Province of Antioquia, Colombia), where Medellín is the main city surrounded by the municipalities of Barbosa, Girardota, Copacabana, Bello, Itagüí, Sabaneta, Envigado, La Estrella, and Caldas. It is estimated that the study region had a population of 480,659 dogs in 2018 (Área Metropolitana del Valle de Aburrá 2018).

Data collection

Information on dogs' characteristics and clinical practices related to the presence of ESBL producing *E. coli* (ESBL-*Ec*) and ESBL producing *K. pneumoniae* (ESBL-*Kp*) in urine was retrieved from clinical records. Information on the use of antibiotics, infectious diseases, hospitalizations, and surgeries during the last 12 months, as well as the method used to obtain the urine sample and cohabits with other animals were obtained through the medical history and the attending veterinarian.

Ethics committee

The study was approved by the Ethics Committee for Animal Experimentation (CEEAA) of the Universidad de Antioquia (act number 120, October 9th, 2018).

Samples

All urine samples from dogs (n=371, one sample from each dog) analyzed at the laboratory for microbiological culture and antibiogram between March 2018 and March 2019 were included in the study. The urine sample was considered as the sampling unit, and the dogs and the isolates as analysis units. A urine sample was considered positive when the growth of at least one (1) isolate of ESBL-*Ec* or ESBL-*Kp* was confirmed.

Bacterial isolation and identification

The BBL™ CHROMagar™ Orientation (Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA) was used for the isolation, characterization, differentiation, and enumeration of the bacteria present in the urine samples. In the cultures with significant growth of uropathogens, one colony compatible with *E. coli* and *K. pneumoniae* in each positive culture was selected for genus and species confirmation by biochemical oxidase tests, Simmons citrate, TSI agar, lysine decarboxylation, urease, indole production, and mobility of the bacteria.

Antimicrobial susceptibility testing and ESBL evaluation

Antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion and ESBL evaluation by double disc test was performed simultaneously in accordance with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recommendations (CLSI M100-S25, 2015 y CLSI VET08, 2018). Briefly, the bacterial colonies were suspended in saline solution, adjusted to 0.5 McFarland turbidity standard and plated on Mueller-Hinton agar. According to the request of the attending veterinarian, different antibiotics were evaluated for each isolate, including amoxicillin 25 µg (AML), ampicillin (AMP), amoxicillin/clavulanic acid 30 µg (AMC), ampicillin/sulbactam 20 µg (SAM), cefotaxime 30 µg (CTX), ceftazidime 30 µg (CAZ), ceftriaxone 30 µg (CRO), imipenem 10 µg (IPM), ertapenem 10 µg (ETP), nitrofurantoin 300 µg (F), trimethoprim/sulfamethoxazole 25 µg (SXT), enrofloxacin 5 µg (ENR), ciprofloxacin 5 µg (CIP), chloramphenicol 30 µg (C), norfloxacin 10 µg (NOR), amikacin 30 µg (AK), gentamicin 10 µg (CN), doxycycline

30 µg (DO), erythromycin 15 µg (E), tetracyclines 30 µg (TE), oxytetracycline 30 µg (OT), minocycline 30 µg (MH), oxacillin (OX), azithromycin 15 µg (AZM), and neomycin 30 µg (N).

ESBL production was evaluated by double-disk test as recommended by CLSI (CLSI M100-S25, 2015; Papich 2018). Briefly, a bacterial suspension with a turbidity pattern of 0.5 McFarland was plated on Mueller-Hinton agar. Ceftazidime/clavulanic acid (30/10µg), cefotaxime/clavulanic acid (30/10 µg), ceftazidime (30 µg), and cefotaxime (30 µg) disks were used. Antibiotic disks were placed at a 25 mm center-to-center distance and incubated at 37° C for 18-24 h. An increase of ≥5 mm in the halo zone diameter for cephalosporin disks combined with clavulanic acid compared to the antibiotic alone was considered positive for ESBL-production. *E. coli* ATCC 25922 and *K. pneumoniae* ATCC 700603 were used as negative and positive controls, respectively. Positive isolates for the ESBL-production were stored in cryobeads (CRYOBANK™) for preservation and subsequent determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) and molecular analysis.

Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC)

The MIC for ESBL-*Ec* and ESBL-*Kp* isolates was determined using the VITEK®2 automated system (bioMérieux, Marcy l'Étoile, France). A total of 14 antibiotics were evaluated and interpreted according to the standards (CLSI M100-S25, 2015 y CLSI VET08, 2018), including ampicillin/sulbactam (SAM), ceftoxitin (FOX), ceftazidime (CAZ), ceftriaxone (CRO), cefepime (FEP), doripenem (DOR), ertapenem (ETP), imipenem (IPM), meropenem (MEM), amikacin (AK),

gentamycin (CN), ciprofloxacin (CIP), tigecycline (TGC), and colistin (CT).

Molecular detection of ESBL genes by multiple polymerase chain reaction (PCR)

Bacterial DNA extraction from positive ESBL-producing isolates was performed using the Wizard® Genomic DNA Purification kit (Promega Corporation, Madison, USA) and according to the manufacturer's instructions. Subsequently, *bla* genes of the TEM, SHV, and CTX-M subtypes (groups 1, 2, 8, 9, and 25) were amplified using primers and conditions previously described (Dallenne et al. 2010). A non-ESBL- *Ec* strain (ATCC 25922) was used as negative control. The PCR products were visualized by ethidium bromide in 2% agarose gel electrophoresis (AMRESCO Inc, Solon Ohio, USA ISO 9002). The size of the bands was evaluated by comparison with a 100 bp molecular weight DNA ladder (Gene Ruler- Qiagen, Germantown, USA).

Statistical analysis

The information collected was stored in Excel 2010 (Microsoft, Redmond, USA). The data were analyzed using descriptive statistics. Absolute and relative frequencies were calculated for the qualitative variables, and summary and central tendency measures for the quantitative ones, according to the normality assumption of the data. STATA 15.1 (Statacorp, Texas, USA) software was used for the statistical analysis.

RESULTS

A total of 371 urine samples were sent to the laboratory for urine culture and antibiogram during March 2018 and March 2019. In 190 samples *E. coli* and *K. pneumoniae* were identified. *E. coli* was

isolated from 165 samples, of which 6.6% (11/165) were ESBL positive by double disc test. *K. pneumoniae* was isolated from 25 samples, of which 44% (11/25) were ESBL positive by double disc test.

The mean age of the 22 dogs with ESBL-positive isolates was 9.4 ± 3.1 years and most of the dogs 59.09% (13/22) were males. 81.8% (18/22) were purebred dogs (i.e., Jack Russell Terrier, Yorkshire Terrier, Labrador Retriever, Pitbull, Cocker Spaniel, Pug, Schnauzer, Beagle, Shih-Tzu, German Shepherd, Dachshund, Golden Retriever, French Bulldog, and English Bulldog), and 18.2% (4/22) were mixed-breed. Fifty percent (11/22) of dogs had undergone a previous sterilization process more than 6 months ago and 50% (11/22) lived with other dogs. A high frequency of hospitalization (77.3%, 17/22) and the use of antibiotic-based treatments (77.3%, 17/22) were found in the last year.

Regarding the ESBL-*Ec* isolates, resistance to enrofloxacin and ciprofloxacin was found in 87.5% (7/8) and 70% (7/10), respectively. The highest susceptibility was found to nitrofurantoin (70%, 7/10). Two of the isolates were resistant to all the antibiotics evaluated.

In addition, 82% (9/11) of the *K. pneumoniae* isolates were resistant to all the antibiotics evaluated, being nitrofurantoin 100% (9/9), trimethoprim/sulfamethoxazole 100% (6/6), enrofloxacin 88.8% (8/9), and ciprofloxacin 88% (7/8) the antibiotics with the highest proportion of resistance. One of the other two isolates was susceptible to enrofloxacin and ciprofloxacin and the other one to amikacin, imipenem, ertapenem, and meropenem.

In general, all isolates showed resistance to three or more antibiotics groups by the Kirby Bauer (disk diffusion) method. In

addition to the resistance to cephalosporins, a high resistance to ciprofloxacin (78%, 14/18), enrofloxacin (88%, 15/17), and trimethoprim-sulfamethoxazole (85%, 11/13) was found.

The MICs of the 14 antibiotics, obtained through the broth microdilution method using the VITEK®2 system for the 22 isolates of *E. coli* and *K. pneumoniae*, are shown in tables 1 and 2, respectively. These results showed all isolates were susceptible to carbapenems (ertapenem, imipenem, meropenem and doripenem), and most of them were susceptible to amikacin, and tigecycline. In addition, resistance to gentamicin was more frequent in *K. pneumoniae* than *E. coli*.

The 22 isolates harbored group 1 CTX-M genes, based on the multiple PCR analysis. The CTX-M group (2, 8, 9, and 25 genes) were not detected in any isolate. Two of the 22 isolates were also positive to TEM and SHV genes, carrying all three genes simultaneously.

DISCUSSION

In this study, a general frequency of 11.6% (22/190) of *E. coli* and *K. pneumoniae* producing ESBL was found. When compared to similar studies where both bacteria were analyzed in dog urine, this frequency was slightly higher than the one found in Brazil of 9.6% (2/62) (Melo *et al.* 2018) but lower than that reported in Switzerland of 25% (39/156) (Zogg *et al.* 2018). However, if we consider the difference in the length of the study of those researches (two and four years respectively) compared with this one-year study, our findings may represent a major concern by showing a greater number of diseased dogs carrying *E. coli* and

TABLE 1. Minimum inhibitory concentration (MIC) values for *Escherichia coli* isolates obtained from urine samples of dogs from the metropolitan area of Valle del Aburrá (Province of Antioquia, Colombia), 2018-2019

ISOLATE	SAM	TZP	FOX	CAZ	CRO	FEP	DOR	ETP	IPM	MEM	AMK	CN	CIP	TGC
2-241447-KP	>=32	8	<=4	4	>=64	4	<=0,12	<=0,5	1	<=0,25	<=2	<=1	2	<=0,5
3-237353-KP	>=32	<=4	<=4	4	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,25	<=0,25	<=2	>=16	<=0,25	<=0,5
4-242407-KP	>=32	16	<=4	16	>=64	>=64	<=0,12	<=0,5	<=0,25	<=0,25	4	>=16	>=4	<=0,5
7-243889-KP	>=32	16	<=4	8	>=64	4	<=0,12	<=0,5	<=0,25	<=0,25	<=2	>=16	2	1
8-247697-KP	>=32	16	<=4	16	>=64	32	<=0,12	<=0,5	<=0,25	<=0,25	4	>=16	>=4	<=0,5
14-255779-KP	>=32	16	<=4	8	>=64	4	<=0,12	<=0,5	<=0,25	<=0,25	<=2	>=16	>=4	1
15-259003-KP	>=32	16	<=4	4	>=64	4	<=0,12	<=0,5	<=0,25	<=0,25	<=2	<=1	2	<=0,5
16-259320-KP	>=32	32	>=64	>=64	>=64	32	<=0,12	<=0,5	0,5	<=0,25	>=64	>=16	2	2
20-271234-KP	>=32	16	<=4	8	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,25	<=0,25	<=2	>=16	1	1
21-274461-KP	>=32	>=128	8	16	>=64	32	<=0,12	<=0,5	0,5	<=0,25	<=2	>=16	>=4	2
27-295328-KP	>=32	64	>=64	>=64	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,25	<=0,25	>=64	>=16	2	2

SAM (ampicillin/sulbactam), TZP (piperacillin/tazobactam), FOX (cefoxitin), CAZ (ceftazidime), CRO (ceftriaxone), FEP (cefepime), DOR (doripenem), ETP (ertapenem), IPM (imipenem), MEM (meropenem), AK (amikacin), CN (gentamicin), CIP (ciprofloxacin), TGC (tigecycline). Gray shade indicates intermediate or resistance to the antibiotic. Source: self-made.

TABLE 2. Minimum inhibitory concentration (MIC) values for *Klebsiella pneumoniae* isolates obtained from urine samples of dogs from the metropolitan area of Valle del Aburrá (Province of Antioquia, Colombia), 2018-2019

ISOLATE	SAM	TZP	FOX	CAZ	CRO	FEP	DOR	ETP	IPM	MEM	AK	CN	CIP	TGC
5-242857-EC	16	4	4	16	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,2	<=0,25	<=2	>=16	>=0,4	<=0,5
6-243280-EC	4	4	4	8	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,2	<=0,25	<=2	<=1	<=0,25	<=0,5
9-248019-EC	4	4	4	4	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,2	<=0,25	<=2	<=1	<=0,25	<=0,5
10-253735-EC	8	4	8	16	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,2	<=0,25	<=2	<=1	1	<=0,5
11-253824-EC	4	4	4	4	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,2	<=0,25	<=2	<=1	1	<=0,5
18-267995-EC	16	4	4	16	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,2	<=0,25	<=2	>=16	>=4	<=0,5
19-268858-EC	8	4	8	16	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,2	<=0,25	<=2	<=1	1	<=0,5
22-276305-EC	4	4	4	4	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,2	<=0,25	<=2	<=1	<=0,25	<=0,5
24-278733-EC	4	4	4	4	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,2	<=0,25	<=2	<=1	<=0,25	<=0,5
25-281253-EC	4	4	4	4	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,2	<=0,25	<=2	<=1	<=0,25	<=0,5
26-294656-EC	4	5	5	4	>=64	4	<=0,12	<=0,5	<=0,2	<=0,25	<=2	<=1	<=0,25	<=0,5
28-300603-EC	4	4	4	4	>=64	2	<=0,12	<=0,5	<=0,2	<=0,25	<=2	<=1	>=4	<=0,5

SAM (ampicillin/sulbactam), TZP (piperacillin/tazobactam), FOX (cefoxitin), CAZ (ceftazidime), CRO (ceftriaxone), FEP (cefepime), DOR (doripenem), ETP (ertapenem), IPM (imipenem), MEM (meropenem), AK (amikacin), CN (gentamicin), CIP (ciprofloxacin), TGC (tigecycline), MIC (minimum inhibitory concentration). Gray shade indicates intermediate or resistance to the antibiotic. Source: self-made.

K. pneumoniae producing ESBL in a shorter period of time.

In the same way, the frequency of isolates ESBL producing *E. coli* and *K. pneumoniae* observed is also remarkably higher than those obtained from diseased companion animals between 2008 and 2010 in a European surveillance program (Bogaerts *et al.* 2015) where only five *E. coli* and one *K. pneumoniae* were isolated. Such a difference can probably be explained by the fact that all chronically diseased animals, as well as those who had been recently treated with antibiotics, were excluded in that study, while the majority of the animals in our study had a history of hospitalization and/or use of antibiotics in the previous year.

Other studies have also evaluated the presence of ESBL-*Ec* in dogs suffering from UTI worldwide. Among the isolates of *E. coli* in this study, the observed frequency of 6,6% (11/22) of ESBL producers is higher but not so far than that found previously in the United States (4%), Switzerland (3,4%) and China (3,8%) (Huber *et al.* 2013; Li *et al.* 2017; O'Keefe *et al.* 2010), although data from those studies were single-institution based and may not be entirely comparable.

As it has been mentioned, research — particularly in animals — has been more focused on studying ESBLs produced by *E. coli*, yet the predominance of ESBL production in this study was higher in *K. pneumoniae* isolates than in *E. coli*. Some studies in Japan, Italy, Portugal, Germany, and other European countries have also reported a high number of multidrug resistance and third-generation cephalosporin resistant *K. pneumoniae* strains among companion animals (Donati *et al.* 2014; Ewers *et al.* 2012; Harada *et al.* 2012;

Marques *et al.* 2018). The latest suggests that ESBL-*Kp* is frequent in clinical samples from companion animals and that it is necessary to continue monitoring resistance mechanisms in this species.

The predominant gene class detected in our study was CTX-M. The CTX-M family of enzymes is grouped based on the similarities in amino acid sequences; for example, within the group CTX-M-1 are the enzymes CTX-M-1, CTX-M-3, CTX-M-10, CTX-M-12, CTX-M-15, and CTX-M-32 (Galvis and Moreno 2019). Several studies suggest that CTX-M-1 is the most frequent genotype, not only in companion animals, but also in food-producing animals, food, wild animals, and veterinarians that work with dogs and cats (Abbas *et al.* 2019; Baede *et al.* 2015; Cormier *et al.* 2019; Darwich *et al.* 2019; Ewers *et al.*, 2012; Irrgang *et al.* 2018).

In Colombia, a few studies had analyzed the presence of *bla*_{CTX-M} genes. From the poultry chain, Castellanos *et al.* (2017) identified *Escherichia coli* carrying *bla*_{CTX-M-2}, *bla*_{CTX-M-8} and *bla*_{CTX-M-15} and then, in 2018, *bla*_{CTX-M-2} group was found to be the most prevalent ESBL gene among *Salmonella enterica* isolates (Castellanos *et al.* 2018). In addition, CTX-M group 1 was detected in *enterobacteriaceae* isolated from bulk tank milk samples (Vásquez Jaramillo *et al.* 2017).

In addition, the predominant circulation of the CTX-M group 1 in dogs described here is consistent with the epidemiology of CTX-M in *E. coli* and *K. pneumoniae* causing UTI in humans in Colombia, both at hospital and community settings (Blanco *et al.* 2016; Galvis and Moreno 2019; Leal *et al.* 2013; Martínez *et al.* 2012; Rada *et al.* 2019). They all reported the presence of the CTX-M group 1, with

*bla*_{CTX-M-1}, *bla*_{CTX-M-3}, *bla*_{CTX-M-15} and *bla*_{CTX-M-32} being the mainly found enzymes. We also detected TEM and SHV-like genes in some isolates, but it is important to note that these genes could also encode narrow-spectrum beta-lactamases and confirmation of ESBL-type should be performed by gene sequencing.

The detection of CTX-M type enzymes in dog's uropathogens increases the risk of clinical failure because of the use of inappropriate empirical treatments and therefore results in complicated urinary infections. In our study, the highest frequency of resistance was found to enrofloxacin and ciprofloxacin, while the lowest resistance was observed against nitrofurantoin among the *E. coli* isolates, in addition to resistance to penicillins and cephalosporins.

Regarding *K. pneumoniae* isolates, it was observed that the vast majority were multidrug-resistant, highlighting the resistance to nitrofurantoin, trimethoprim/sulfamethoxazole, enrofloxacin, and ciprofloxacin. These findings agreed with a previous retrospective study carried out in a veterinary diagnostic laboratory in Medellín, Colombia, which evaluated the susceptibility to antimicrobials of bacterial isolates from dogs and reported that in general, the level of resistance was high (20-50%) to at least 6 or more antimicrobials. Specifically for urinary tract infections caused by *E. coli* or *enterobacteriaceae* (*Klebsiella* spp., *Proteus* spp.), amikacin and florfenicol were the only drugs that demonstrated 100% in vitro efficacy (Gómez Beltrán *et al.* 2020).

The resistance of ESBL-producing strains to other classes of antimicrobial agents can be explained by the fact that plasmids harboring *bla*_{CTX-M-like} genes frequently carry genes that confer resistance

to fluoroquinolones, aminoglycosides, and SXT among other antibiotics (Coque *et al.* 2018; Wieler *et al.* 2011), as already reported in *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates from urine of dogs with UTIs (Huber *et al.* 2013; Zogg *et al.* 2018). This suggests that veterinarians are encouraged to improve antibiotic prescriptions, based on susceptibility testing in order to reduce the selection pressure on the pathogens.

Surveillance studies implementing a One Health approach are required to assess the level of genetic relatedness among resistant bacteria from animal and human origins as well as to help elucidate the complex epidemiology of transmission and the role of companion animals in the spread of multi-resistant bacteria. Additionally, these findings contribute to the design of policies related to the use of antibiotics in both human and veterinary medicine, as well as other factors such as hygiene procedures, that may be associated with the emergence of the antimicrobial resistance phenomenon in the country.

This study has some limitations. First, it was difficult to obtain accurate data from the patients' clinical record, such as the type of UTI and details on previous antimicrobial treatment. Because veterinarians request urine culture and antibiogram more frequently from complicated than uncomplicated cases our results likely correspond to those of complicated UTI patients. Second, the selection of antibiotics to be evaluated in each patient was defined by the treating veterinarian rather than being standardized, which makes the comparison of susceptibility results in all the isolates difficult. Finally, it will be important to include in future studies additional molecular techniques to investigate the predominant ESBL-positive clones causing UTI in dogs.

CONCLUSIONS

An overall frequency of 11,6% (22/190) ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates in urine samples from dogs with UTI. CTX-M group 1 was the main ESBL detected, and a multidrug resistance profile was identified in *K. pneumoniae*. The timely identification of ESBL-producing strains of enterobacteriaceae is essential for evaluating the development of antimicrobial resistance and for establishing successful antibiotic therapies in the small-species daily practice, as well as to strengthen the implementation of infection control measures and the rational administration of antibiotics for the protection of public health.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

FUNDING SOURCES

This study was financed by the RedSIN Research Seedbed Network of the Universidad de Antioquia.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank TESTLAB© Veterinary Clinical Laboratory, the laboratory of the School of Microbiology of the Universidad de Antioquia, and the participating veterinary clinics.

REFERENCES

Abbas G, Khan I, Mohsin M. 2019. High rates of CTX-M group-1 extended-spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* from pets and their owners in Faisalabad, Pakistan. *Infection and drug resistance*. 12:571-578. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6411320/>

- Alós J I 2015. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 33(10): 692-699. Available in: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-06672015000100013
- Área Metropolitana del Valle de Aburrá. 2018. Resolución Metropolitana 002274 Septiembre 5 de 2018. Available in: https://www.metropol.gov.co/ResolucionesMetropolitanas/Resoluci%C3%B3n_2018_002274.pdf
- Astaiza Martínez JM, Benavides Melo CJ, Muñoz García GK, Mora Muñoz MF, Cháves Velasquez CA. 2016. Principales hábitos de medicación por los propietarios de caninos que acuden a consulta veterinaria en Pasto, Nariño, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. 45(1):92-108. Available in: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/58019>
- Baede VO, Wagenaar JA, Broens EM, Duim B, Dohmen W, Nijse R, Hordijk J. 2015. Longitudinal study of extended-spectrum- β -lactamase- and AmpC-producing Enterobacteriaceae in household dogs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 59(6):3117-3124.
- Blanco VM, Maya JJ, Correa A, Perenguez M, Muñoz JS, Motoa G, Villegas MV. 2016. Prevalence and risk factors for extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* causing community-onset urinary tract infections in Colombia. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 34(9):559-565. Available in: <https://europepmc.org/article/med/26774256>
- Bogaerts P, Huang TD, Bouchahrouf W, Bauraing C, Berhin C, El Garch F, ComPath Study Group. 2015. Characterization of ESBL-and AmpC-producing Enterobacteriaceae from diseased companion animals in Europe. *Microbial Drug Resistance*. 21(6):643-650. Available in: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/mdr.2014.0284>
- Bonnet R. 2004. Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(1): 1-14. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC310187/>
- Byron J K. 2019. Urinary tract infection. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 49(2):211-221. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30591189/>

- Cabrera García PA. 2010. Utilización de antibióticos de uso humano en caninos y felinos atendidos en la Clínica de Pequeños Animales de la Universidad Nacional de Colombia/Use of antibiotics used for humans in canines and felines attended in the Clínica de Pequeños Animales of the Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Farmacia. Available in: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/70528>
- Castellanos LR, Donado-Godoy P, León M, Clavijo V, Arévalo A, Bernal JF, Timmerman AJ, Mevius DJ, Wagenaar JA, Hordijk J. 2017. High Heterogeneity of *Escherichia coli* Sequence Types Harboring ESBL/AmpC Genes on Inc11 Plasmids in the Colombian Poultry Chain. *PLoS one*, 12(1):e0170777. Available in: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0170777>
- Castellanos LR, Van der Graaf-Van Bloois L, Donado-Godoy P, León M, Clavijo V, Arévalo A, Hordijk J. 2018 . Genomic characterization of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Salmonella enterica* in the Colombian poultry chain. *Frontiers in microbiology*. 9:2431. Available in: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.02431/full>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI Document M100-S25. Wayne, PA.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018. Development of Quality Control Ranges, Breakpoints, and Interpretive Categories for Antimicrobial Agents Used in Veterinary Medicine. CLSI Document VET02. Wayne, PA.
- Coque TM, Baquero F, Canton R. 2008. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Eurosurveillance*. 13(47):19044. Available in: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/ese.13.47.19044-en>
- Cormier A, Zhang PL, Chalmers G, Weese JS, Deckert A, Mulvey M, Boerlin P. 2019 . Diversity of CTX-M-positive *Escherichia coli* recovered from animals in Canada. *Veterinary Microbiology*. 231: 71-75. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113519300057>
- Darwich L, Vidal A, Seminati C, Albamonte A, Casado A, López F, Migura-García L. 2019. High prevalence and diversity of extended-spectrum β -lactamase and emergence of OXA-48 producing Enterobacteriales in wildlife in Catalonia. *PLoS One*. 14(8):e0210686. Available in: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0210686>
- Donati V, Feltrin F, Hendriksen RS, Svendsen CA, Cordaro G, García-Fernández A *et al*. 2014. Extended-Spectrum-Beta-Lactamases, AmpC Beta-Lactamases and Plasmid Mediated Quinolone Resistance in *Klebsiella* spp. from Companion Animals in Italy. *PLoS ONE*. 9(3):e90564. Available in: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0090564>
- Ewers CATS, Bethe A, Semmler T, Guenther S, Wieler LH. 2012. Extended-spectrum β -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective. *Clinical Microbiology and Infection*. 18(7):646-655. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14645596>
- Galvis F, Moreno L. 2019. Caracterización molecular y detección de genes blaCTX-M grupos 1 y 9 en *Klebsiella pneumoniae* resistentes a ceftazidima, en un hospital de San José de Cúcuta, Colombia. *Revista Chilena de Infectología*. 36(3): 304-311. Available in: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0716-10182019000300304&script=sci_arttext&tlng=en
- Gómez-Beltrán DA, Schaeffer DJ, Ferguson DC, Monsalve LK, Villar D. 2021. Antimicrobial Prescribing Practices in Dogs and Cats by Colombian Veterinarians in the City of Medellín. *Vet. Sci*. 8: 73. Available in: <https://www.mdpi.com/2306-7381/8/5/73>
- Gómez-Beltrán DA, Villar D, López-Osorio S, Ferguson D, Monsalve LK, Chaparro-Gutiérrez JJ. 2020. Prevalence of Antimicrobial Resistance in Bacterial Isolates from Dogs and Cats in a Veterinary Diagnostic Laboratory in Colombia from 2016-2019. *Veterinary Sciences*. 7(4):173. Available in: <https://www.mdpi.com/2306-7381/7/4/173>


- Gutiérrez H, Ruiz B, Molina S, Toro T. 2002. Caracterización retrospectiva de los indicadores farmacoepidemiológicos en la prescripción medicamentosa en las especies de compañía de Medellín. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 15(1):68-79. Available in: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/rccp/article/view/323790>
- Harada K, Arima S, Niina A, Kataoka Y, Takahashi T. 2012. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from dogs and cats in Japan: current status of antimicrobial resistance and prevailing resistance mechanisms. *Microbiology and immunology*. 56(2):123-127. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1348-0421.2011.00416.x>
- Huber H, Zweifel C, Wittenbrink M M, Stephan R. 2013. ESBL-producing uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Switzerland. *Veterinary Microbiology*. 162(2-4):992-996. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113512005688>
- Irrgang A, Hammerl J A, Falgenhauer L, Guiral E, Schmogger S, Imirzalioglu C, Käsbohrer A. 2018. Diversity of CTX-M-1-producing *E. coli* from German food samples and genetic diversity of the blaCTX-M-1 region on Inc11 S plasmids. *Veterinary Microbiology*. 221:98-104. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037811351830141X>
- Leal AL, Cortés JA, Arias G, Ovalle MV, Saavedra SY, Buitrago G, Castro BE. 2013. Emergencia de fenotipos resistentes a cefalosporinas de tercera generación en Enterobacteriaceae causantes de infección del tracto urinario de inicio comunitario en hospitales de Colombia. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 31(5):298-303. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X12001735>
- Li S, Liu J, Zhou Y, Miao Z. 2017. Characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* recovered from companion dogs in Tai'an, China. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 11(03):282-286. Available in: <http://www.jidc.org/index.php/journal/article/view/8138>
- Martínez P, Garzón D, Mattar S. 2012. CTX-M-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from community-acquired urinary tract infections in Valledupar, Colombia. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 16(5):420-425. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1413867012001171>
- Marqués C, Menezes J, Belas A, Aboim C, Cavaco-Silva P, Trigueiro G, Pomba C. 2019. *Klebsiella pneumoniae* causing urinary tract infections in companion animals and humans: population structure, antimicrobial resistance and virulence genes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 74(3):594-602. Available in: <https://academic.oup.com/jac/article/74/3/594/5237779?login=true>
- Melo LC, Oresco C, Leigue L, Netto HM, Melville PA, Benites NR, Saras E, Haenni M, Lincopan N, Madec JY. 2018. Prevalence and molecular features of ESBL/pAmpC-producing Enterobacteriaceae in healthy and diseased companion animals in Brazil. *Veterinary Microbiology*. 221:59-66. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037811351830141X>
- Morejón García M. 2013. Betalactamasas de espectro extendido. *Revista cubana de medicina*. 52(4):272-280. Available in: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232013000400006&lng=es
- O'Keefe A, Hutton TA, Schifferli DM, Rankin SC. 2010. First detection of CTX-M and SHV extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* urinary tract isolates from dogs and cats in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 54(8):3489-3492. Available in: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.01701-09>
- Papich MG, Lindeman C. 2018. Cephalixin susceptibility breakpoint for veterinary isolates: Clinical Laboratory Standards Institute revision. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 30(1):113-120. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29145786/>
- Paterson DL, Bonomo RA. 2005. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clinical microbiology reviews*. 18(4):657-686. Available in: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/CMR.18.4.657-686.2005>
- Rada AM, Hernández-Gómez C, Restrepo E, Villegas MV. 2019. Distribución y caracterización molecular de betalactamasas en bacterias Gram negativas en Colombia, 2001-2016. *Biomédica*.

- 39: 199-220. Available in : <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/4351>
- Sánchez M, Gutiérrez N, Padilla M, Suárez L. (2015). Resistencia antimicrobiana de bacterias aisladas de clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué, Colombia. *Universidad y Salud*. 17(1): 18-31. Available in: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-71072015000100003&lng=en&tlng=es.
- Sierra González SI, Arango Uribe MC, Echavarría Villegas L. 2017. Prevalencia de bacterias que producen infecciones en las vías urinarias en caninos y felinos y su sensibilidad a los antibióticos durante 2014 y 2015. Available in: <https://repository.ces.edu.co/handle/10946/2943>
- Tacconelli E, Magrini N, Kahlmeter G, Singh N. 2017. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. World Health Organization. 27:318-327. Available in: https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf
- Tafur JD, Torres JA, Villegas MV. 2011 . Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio*. 12(3). Available in: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922008000300007&lng=en.
- Vásquez-Jaramillo L, Ramírez NF, Akineden Ö, Fernández-Silva JA. 2017. Presence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in bulk-tank milk of bovine dairy farms in Antioquia, Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 30(2):85-100. Available in: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902017000200085
- Wieler LH, Ewers C, Guenther S, Walther B, Lübke-Becker A. 2011. Methicillin-resistant staphylococci (MRS) and extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in companion animals: nosocomial infections as one reason for the rising prevalence of these potential zoonotic pathogens in clinical samples. *International journal of medical microbiology*. 301(8):635-641. Available in : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438422111000956>
- Zogg AL, Zurfluh K, Schmitt S, Nüesch-Inderbinen M, Stephan R. 2018. Antimicrobial resistance, multilocus sequence types and virulence profiles of ESBL producing and non-ESBL producing uropathogenic *Escherichia coli* isolated from cats and dogs in Switzerland. *Veterinary Microbiology*. 216:79-84. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113517311185>

Forma de citación del artículo:

Ochoa AM, García MI, Cienfuegos AV, Vásquez-Jaramillo L. 2022. Isolation of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended spectrum β -lactamases from dog urine of the Metropolitan Area of the Aburrá Valley (Antioquia, Colombia). *Rev Med Vet Zoot*. 69(3):245-258. <https://doi.org/10.15446/rfmv.v69n3.103805>

Diagnóstico de parasitosis gastrointestinal en ganado vacuno de razas carniceras con diferentes técnicas coproparasitológicas

M. A. Saldivia Paredes¹ , E. J. Espinoza Cornuy¹, N. F. Figueroa Alfaro¹,
M. Delgado Gutiérrez¹, A. Droppelmann Delgado¹

Recibido: 10/09/2021. Aprobado: 13/01/2022

RESUMEN

Las parasitosis gastrointestinales en bovinos de producción son uno de los problemas sanitarios más importantes a nivel mundial. Estos nematodos ocasionan problemas gastroentéricos que se caracterizan clínicamente por diarrea, debilidad, hemorragias y deshidratación. Entre las parasitosis gastrointestinales causadas por nematodos en ganado bovino, se destacan las familias: Trichuridae, Trichostrongylidae, Ancylostomidae, Ascaridae y Strongyloididae. El propósito de esta investigación fue determinar la eficacia de las distintas técnicas coproparasitológicas cualitativas y cuantitativas para la detección de nematodos gastrointestinales en ganado bovino. Para este estudio se utilizaron 250 muestras de vacas de raza carnicera, divididos en diferentes grupos, para la aplicación de las técnicas coproparasitológicas de tipo cualitativo y cuantitativo, los cuales fueron escogidos específicamente teniendo en cuenta criterios de inclusión y exclusión para cada animal. Los resultados entregados por este estudio indicaron que el mayor porcentaje en la identificación de estados infectantes parasitarios fue por medio de las técnicas coproparasitológicas de tipo cualitativo, principalmente aquellas de flotación de sulfato de zinc y magnesio con un 50%.

Palabras clave: parasitosis, bovinos, cualitativa, cuantitativa, nematodos.

Diagnosis of gastrointestinal parasitosis in beef cattle of butcher breeds with different coparasitological techniques

ABSTRACT

Gastrointestinal parasites in production cattle are one of the most important health problems worldwide. These nematodes cause gastroenteric problems that are clinically characterized by diarrhoea, weakness, bleeding and dehydration. Within the gastrointestinal parasites caused by nematodes in cattle, the following families stand out: Trichuridae, Trichostrongylidae, Ancylostomidae, Ascaridae and Strongyloididae. The purpose of this research was to determine the efficacy of the different qualitative and quantitative coparasitological techniques for the detection of gastrointestinal nematodes in cattle. For this study, 250 samples of beef breed cows were used, divided into different groups,

¹ Universidad Santo Tomás, Unidad de Fisiología Animal, Escuela de Medicina Veterinaria, Puerto Montt, Chile.

* Correo electrónico: vetmanuelch@hotmail.com

for the application of qualitative and quantitative coproparasitological techniques, which were specifically chosen taking into account inclusion and exclusion criteria for each animal. The results delivered by this study indicated that the highest percentage in the identification of parasitic infective states was through qualitative coproparasitological techniques, focused mainly on zinc and magnesium sulfate flotation techniques with 50%.

Keywords: parasitosis, bovinos, qualitative, quantitative, nematodes.

INTRODUCCIÓN

La parasitosis consiste en la presencia de un agente parasitario que vive en otro animal u organismo, generándole daño, afectando animales de compañía, producción e incluso a seres humanos, considerándose como una zoonosis (Senasa 2017).

Las parasitosis gastrointestinales en bovinos de producción son unos de los problemas sanitarios más importantes a nivel mundial. Estos nematodos ocasionan problemas gastroentéricos que se caracterizan clínicamente por diarrea, debilidad, hemorragias y deshidratación (Senasa 2017). Entre las parasitosis gastrointestinales causadas por nematodos en ganado bovino, destacamos las familias: Trichuridae, Trichostrongylidae, Ancylostomidae, Ascaridae y Strongyloididae (Colina *et al.* 2013; Pinilla *et al.* 2019; Regassa *et al.* 2006).

En países latinoamericanos como Brasil, se han estimado pérdidas de 13,96 billones de dólares americanos debido a las parasitosis en bovinos, considerando solamente las reducciones en producción y sin contemplar el impacto económico relacionado con honorarios veterinarios, costo del personal de campo y de los medicamentos. Estas pérdidas económicas (en dólares) fueron discriminadas de la siguiente manera: por parásitos gastrointestinales, 7,11 billones; garrapatas (*Rhipicephalus microplus*), 3,24 billones; Mosca palettera (*Haematobia irritans*), 2,56 billones; tórsalo (*Dermatobia hominis*),

0,38 billones; gusaneras (*Cochliomyia hominivorax*), 0,34 billones; y mosca de los establos (*Stomoxys calcitrans*) 0,34 billones. Al considerar que en América Latina la existencia de ganado bovino es de alrededor de 400 millones de cabezas y hacer un paralelo con la información de Brasil, teniendo en cuenta un impacto económico del 75% (debido a que en las áreas centro sur de Uruguay, Chile y Argentina el impacto de los ectoparásitos es muy reducido), podemos estimar que las pérdidas económicas llegan a 22,79 billones de dólares para América Latina (Grisi *et al.* 2014).

Para el diagnóstico de diversas formas parasitarias (huevos, larvas o estados adultos), es necesario disponer de la realización de técnicas coproparasitológicas, las cuales corresponden a un conjunto de técnicas que constituyen la indicación metodológica para la identificación de la mayoría de las enteroparasitosis de tipo protozoarios o helmintos. La sensibilidad para establecer un diagnóstico correcto depende de la adecuada indicación y preparación de la muestra, los datos clínicos y antecedentes de interés que sean aportados al laboratorio, y de su correcta y completa ejecución con examen directo microscópico, enriquecimiento y examen macroscópico (Salvatella y Eirale 1996).

Las técnicas de laboratorio se dividen en cualitativas y cuantitativas. Las cualitativas solo indican si el animal está parasitado o no, pero esto no es contundente, ya que,

mientras la presencia de parásitos significa indudablemente que el animal es positivo, la ausencia no significa que sea negativo, debido a varios factores, que pueden ser desde una muestra insuficiente hasta causas biológicas inherentes de cada parásito, como la frecuencia de ovoposición y el número de hembras parasitando al animal (Alarcón 2016; Espitia 2010).

Las técnicas cuantitativas indican el número de huevos y/u ooquistes presentes en un gramo de heces. Para su interpretación, se deben considerar los factores que determinan la variación en la cantidad de huevos y/u ooquistes eliminados, tales como: diferencias en la prolificidad de las especies, ritmo en la ovoposición, número de hembras y consistencia de las heces (Alarcón 2016; Espitia 2010; López 2003).

El objetivo del presente estudio fue comparar la eficacia de las diferentes técnicas coproparasitológicas descritas en medicina veterinaria en ganado bovino de producción de carne con el fin de determinar cuál es la más efectiva en la detección de parásitos gastrointestinales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los bovinos incluidos en este estudio se encontraban en la localidad de Polincay, Región de los Lagos, Chile. Las muestras se tomaron entre los meses de septiembre a noviembre de 2020. Se incluyeron bovinos de producción cárnica que no presentaban sinología clínica que evidenciara la existencia de alguna enfermedad sistémica, en este caso se procedió a la realización de un examen clínico a cada paciente, considerando condición corporal de 3-3,5, pesos según registros prediales de 400 a 600 kilos, superiores a 1 año e inferior a 3 años, sin distinción racial y de sexo, en el caso de las hembras ninguna de ellas se

encontraba en periodo de gestación y sin antecedentes de desparasitación antes de 6 meses de la toma de muestras.

Se realizó la recolección transrectal de 150 gramos heces de manera individualizada, con la finalidad de ejecutar las técnicas coproparasitológicas de tipo cualitativo: examen directo de heces frescas, método de flotación, método de sedimentación, y de tipo cuantitativo: coprocultivo, técnica de McMaster, técnica de sedimentación-flotación, técnica de Baermann. Se analizó un total de 250 muestras, que fueron subdividida s en 12 grupos, asignando una letra en orden alfabético desde la A hasta la O. Cada grupo fue de 20 muestras, con la excepción del grupo E, el cual fue de 30 muestras.

En cuanto a la preparación y visualización de la muestra, se empleó microscopía óptica en el laboratorio de ciencias de la Universidad Santo Tomás en la sede de Puerto Montt.

Comité de ética

El trabajo en mención, por formar parte de actividades propias de asignaturas de la carrera de medicina veterinaria, es declarado por parte del Comité de Ética Macrosur ORD: N.º 132 de la Universidad Santo Tomás, Puerto Montt, en la calidad de a lugar, sin restricciones en ejecución por ser parte de una actividad académica.

Análisis estadístico

La elaboración de la base de datos se ejecutó por medio del análisis de variables que se destinaron en este estudio (técnicas coproparasitológicas). Los datos se tabularon y analizaron en el programa estadístico SPSS v18 (IBM Corporation, Route 100), permitiendo realizar una diferenciación de grupos de animales y de las técnicas consideradas mediante estadística descriptiva.

RESULTADOS

Se observó la presencia de huevos o estados infectantes de parásitos gastrointestinales en los diferentes grupos de muestras de estudio por medio de las diferentes técnicas coproparasitológicas empleadas (tabla 1).

Al observar los porcentajes en las figuras 1 y 2, es posible comparar las diferentes técnicas diagnósticas coproparasitológicas cualitativas y cuantitativas.

Es posible destacar que, principalmente en los métodos de flotación, en este caso utilizando una solución con sulfato de zinc y de magnesio, fue posible identificar un 50% de estados infectantes parasitarios. Es preciso clarificar que, de las 30 muestras, 20 fueron sometidas a la técnica con sulfato de zinc y 10 con sulfato de magnesio (figura 1).

Al continuar con los análisis de las técnicas coproparasitológicas cualitativas, la segunda técnica que evidenció porcentajes cercanos al 50% en la identificación de estados infectantes de agentes parasitarios fue la técnica de Ritchie modificada o de formol-éter (FE), con 45% (figura 1). En relación con las técnicas que presentaron un menor porcentaje de identificación de estados infectantes parasitarios, fue posible observarlas en las técnicas de examen directo de heces frescas con suero fisiológico templado (38-40°C) y con adición de lugol, las cuales no sobrepasaron más de un 20% (figura 1).

Con respecto a la identificación de estados infectantes parasitarios por medio de las técnicas coproparasitológicas de tipo cuantitativo, se pudo observar una distribución homogénea entre las técnicas

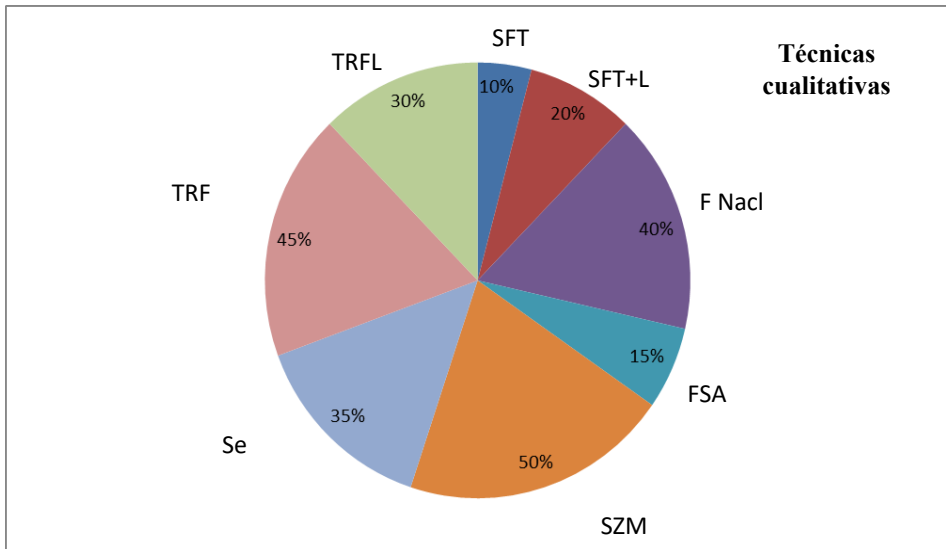


FIGURA 1. Porcentaje en la detección de parásitos entre las técnicas cualitativas.

FST = Fisiológico templado (38-40°C), SFT+L = Fisiológico templado (38-40°C) + Lugol, F NaCl = Flotación de solución saturada de NaCl, FSA = Flotación de solución saturada de azúcar, SZM = sulfato de zinc y magnesio, Se = Sedimentación, TRF = Técnica de Ritchie modificada o de formol-éter, TRFL = Técnica de Ritchie modificada o de formol-éter con Lugol.

Fuente: elaboración propia.

TABLA 1. Resultados de las distintas técnicas empleadas para la detección de nematodos gastrointestinales en ganado bovino de carne

Técnica coparasitológica	Grupo de muestras	Cantidad de animales (<i>pool</i> de heces)	Porcentaje de detección de la técnica
Métodos cualitativos			
Examen directo de heces frescas			
Fisiológico templado (38-40°C)	A	20	10%
Fisiológico templado (38-40°C) + Lugol	B	20	20%
Método de flotación			
Flotación de solución saturada de NaCl	C	20	40%
Flotación de solución saturada de azúcar	D	20	15%
Sulfato de zinc y magnesio	E	30	50%
Método de sedimentación			
Sedimentación	I	20	35%
Técnica de Ritchie modificada o de formol-éter (FE)	J	20	45%
Técnica de Ritchie modificada o de formol-éter (FE) con Lugol	K	20	30%
Métodos cuantitativos			
Coprocultivo	M	20	40%
Técnica de McMaster	N	20	40%
Técnica de sedimentación-flotación	L	20	40%
Técnica de Baermann	O	20	35%

Fuente: elaboración propia.

de coprocultivo, McMaster y flotación-sedimentación, todas ellas demostraron un porcentaje de identificación de 40% en las muestras analizadas (figura 2).

Sin embargo, la técnica de Baermann no evidenció de manera similar

la presencia de elementos parasitarios pues, a diferencia de las otras técnicas, el porcentaje de identificación fue de un 35%. Es preciso clarificar que esta técnica permite la detección de larvas (las cuales pueden ser infectantes).

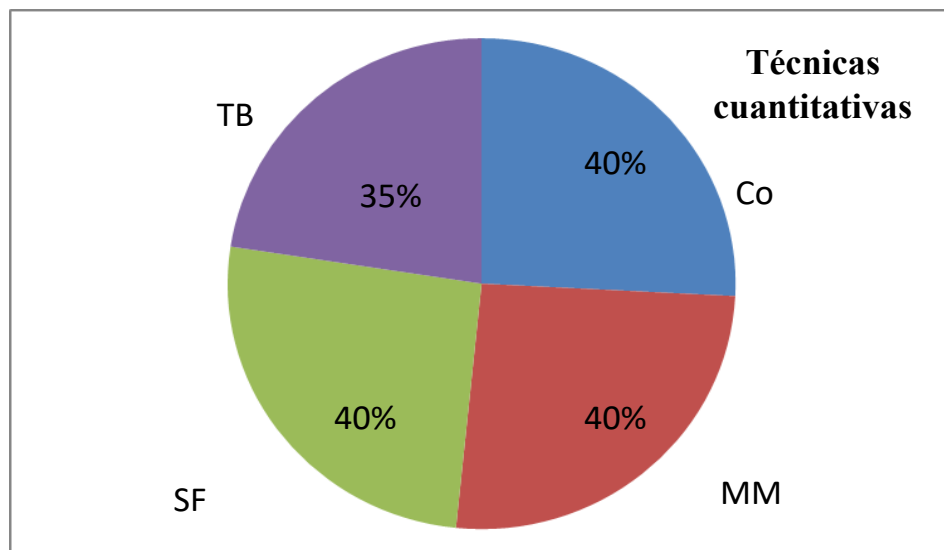


FIGURA 2. Porcentaje en la detección de parásitos entre las técnicas cuantitativas.

Co = Coprocultivo, MM = Técnica de McMaster, SF = Técnica de sedimentación–flotación, TB = Técnica de Baermann.

Fuente: elaboración propia.

DISCUSIÓN

A partir de los diversos resultados del presente estudio, es posible establecer variados porcentajes en la identificación de estados infectantes de parásitos gastrointestinales por medio de la utilización de diferentes métodos diagnóstico–coproparasitológicos.

La utilización de técnicas con una alta calidad con respecto al diagnóstico de enfermedades infecciosas y parasitarias requiere de la combinación de varias técnicas que se caractericen por una alta sensibilidad, especificidad, precisión, reproducibilidad y la capacidad de detectar y controlar efectivamente las infecciones que representan problemas para la salud pública y animal (Serrano 2010).

En relación con las técnicas cualitativas, las técnicas de examen directo de heces frescas presentaron un rango entre 10% y

20% de éxito al momento de analizar las muestras, las cuales difieren de los resultados indicados en estudios realizados por Aquino *et al.* (2012), quienes demostraron que se logró un porcentaje de identificación de agentes parasitarios del 47%.

Con respecto a las técnicas de sedimentación, esta fue de entre 30% y 45% en el presente estudio, lo cual nuevamente difiere de lo presentado en estudios realizados por Aquino *et al.* (2012), lo cual demostró un porcentaje de identificación de un 70%.

En relación con los resultados de los métodos cuantitativos, todas las técnicas presentaron un porcentaje de identificación cercano a un 40%, con la excepción de la técnica de Baermann, la cual fue de 35%, resultado que difiere a lo indicado por Lau *et al.* (2005), quienes indican

que el porcentaje de la técnica se acerca a un 59,52%.

Estudios realizados por Espitia (2010) en técnicas cualitativas señalan que la cantidad de huevos y/u oquistes que hay en 1 gramo de heces puede diferir en su lectura según la cantidad de estados infectantes de estos elementos excretados, dependiendo exclusivamente de la carga parasitaria, el ritmo de ovoposición, el número de hembras y las características de las heces.

Si se realiza una comparación sobre técnicas de mayor complejidad y elaboración en tiempo, como es el caso del coprocultivo, los resultados obtenidos fueron de un 40%, lo cual difiere de estudios realizados por Sandoval *et al.* (2012), quienes indican una efectividad en sus estudios cercana al 100%. No se deja de lado considerar que los resultados aquí presentados pueden ser distintos debido a los caracteres propios de las muestras seleccionadas.

A continuación se señala lo indicado por estudios realizados por Fiel *et al.* (2011) sobre coprocultivo, donde se señala que esta técnica permite identificar la morfología y diferencias características de los estados infectantes de parásitos. Esta técnica cuantitativa por elección es útil para contabilizar y demostrar huevos de helmintos en muestras fecales frescas (Cardona, 2005).

Por otra parte, según Lopez *et al.* (2005), la técnica de sedimentación posee una especificidad del 100%, pero una sensibilidad de 70% en un examen, si bien esta se incrementa al hacer exámenes seriados a un mismo animal. Los resultados del presente estudio fueron de un 40% de eficacia en la detección de estados infectantes de parasitosis gastrointestinales sin la consideración de un muestreo seriado. Se debe considerar que no es posible

realizar comparación entre sensibilidad y eficiencia entre las técnicas aplicadas en este estudio y las indicadas por la literatura, ya que solo se orientó a identificar el porcentaje de eficacia de cada una de las técnicas coproparasitológicas en diversos *pool* de muestras fecales de bovinos de raza carnífera, estratificados en diferentes grupos designados por una letra.

Es pertinente dar continuidad a este estudio mediante una reproductividad de todas las técnicas coproparasitológicas aplicadas en un *pool* de muestras fecales donde se incluya el rebaño por completo, y no por medio de una categorización por grupos.

CONCLUSIONES

Los resultados entregados por este estudio indicaron que el mayor porcentaje en la identificación de estados infectantes parasitarios se dio por medio de las técnicas coproparasitológicas de tipo cualitativo, con principal énfasis en las técnicas de flotación de sulfato de zinc y magnesio, con un 50%.

Con respecto a las técnicas coproparasitológicas de tipo de cuantitativo, tres de estas técnicas demostraron una eficacia en la identificación de estados infectantes parasitarios cercanos a un 40%.

La importancia de la realización de este trabajo radicó en identificar las distintas técnicas de identificación de agentes parasitarios utilizadas en medicina veterinaria para dilucidar cuál de los principales métodos coproparasitológicos descritos en la literatura presentan una mejor eficacia en la detección de estos agentes.

Es importante dar continuidad a este tipo de estudios para identificar mayor cantidad de variables y generar comparaciones en aspectos de eficiencia y sensibilidad.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

FUENTES DE FINANCIACIÓN

Este trabajo de investigación fue financiado con recursos del área de recursos naturales de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Santo Tomás, además del apoyo del productor del centro de engorda de bovinos de carne del sector Polincay, comuna de Puerto Montt.

Este trabajo de investigación no implica ningún tipo de gasto económico por parte de los autores en su elaboración, ya que forma parte de las actividades de investigación de la facultad.

REFERENCIAS

Alarcon J. (2016). Manual de prácticas de parasitología veterinaria. Disponible en: <https://docer.com.ar/doc/n81s0c1>

Aquino J, Vargas G, López B, Neri E, Bernal R. 2012. Comparación de dos nuevas técnicas de sedimentación y métodos convencionales para la recuperación de parásitos intestinales. Revista Latinoamericana Patología Clínica. 59:233-242. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=36833>

Cardona E. 2005. Parasitología práctica veterinaria. Universidad de Antioquia. Facultad de ciencias agrarias.

Colina J, Mendoza G, Jara C. 2013. Prevalencia e intensidad del parasitismo gastrointestinal por nematodos en bovinos, *Bos taurus*, del Distrito Pacanga (La Libertad, Perú). Rebiol. 33(2):76-83.

Salvatella R, Eirale C. 1996. Examen coproparasitario. Metodología y empleo. Revisión técnica metodológica. Revista Médica Uruguay. 112(3):215-223. Disponible en: <http://www.rmu.org.uy/revista/1996v3/art6.pdf>.

Espitia I. (2010). Evaluación de dos técnicas coproparasitológicas para el diagnóstico de larvas de nematodos intestinales y determinación de *Strongyloides stercoralis* en población rural del

municipio de Tierra Alta Córdoba. Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias de la Salud.

Fiel C, Estefan P, Ferreyra D. 2011. Diagnóstico de las parasitosis más frecuentes de los rumiantes, técnicas de laboratorio e interpretación de resultados. Primera edición. Tandil: Abad Benjamin.

Grisi L, Leite RC, Martins JR, Barros ATM, De Andreotti R, Cancado PH, Pérez de León AA, Barros Pereira J, Villela HS. 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. Brazil J Vet Parasitol. 23:150-156.

Lau Chong C, Samalvides F, Terashima A. 2005. Evaluación de técnicas parasitológicas en el diagnóstico de estrongiloidiasis por *Strongyloides stercoralis*. Revista médica hered. 16(1):11-16.

López M. 2003. Diagnóstico parasitológico en rumiantes: técnicas tradicionales y avances en biología molecular. Disponible en: https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicas/parasitarias/parasitarias_bovinos/45-diagnostico_parasitologico.pdf

Morales G, Ibarra N, Barrios M, Borges J. 2012. Comparación entre dos modelos diferentes de cámaras de McMaster empleadas para el conteo coproscópico en el diagnóstico de infecciones por nematodos gastroentéricos en rumiantes. Zootecnia Tropical. 29(4):495-501.

Regassa F, Sori T, Dhuguma R, Kiros Y. 2006. Epidemiology of gastrointestinal parasites of ruminants in Western Oromia, Ethiopia. Intern J Appl Res Vet Med. 4:51-57.

Sanz J. 1994. Gastroenteritis bacterianas, víricas, parasitarias y toxi-infecciones alimentarias. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.

López M, Sanz J, Usera RJ, Cardenoso L, Vasallo F. 2005. Gastroenteritis bacterianas, víricas, parasitarias y toxi-infecciones alimentarias, Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.

Senasa. 2017. Manual de prevención y control de enfermedades parasitarias. Programa de incentivos a la mejora de la gestión municipal. Disponible en: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargas/archivos/2017/03/Manual-para-Funcionarios-Municipales-Actividad-1-META-37.pdf>

Serrano FJ. 2010. Manual práctico de parasitología veterinaria. Universidad de Extremadura, Servicio de Publicaciones. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/317088167/Manual-Practico-de-Parasitologia-Veterinaria&sa=D&source=docs&ust=1660879131056630&uscg=AOvVaw12-LNM3JBswVF2NdBQKIGD>

Uribe J, Flórez N. 2019. Fasciola hepática y otras parasitosis gastrointestinales en bovinos de doble propósito del municipio Sabana de Torres, Santander, Colombia. Rev. investig. vet. Perú. 30 (3):1240-1248. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i3.16607>

Forma de citación del artículo:

Saldivia Paredes MA, Espinoza Cornuy EJ, Figueroa Alfaro NF, Delgado Gutiérrez M, Droppelmann Delgado A. 2022. Diagnóstico de parasitosis gastrointestinal en ganado vacuno de razas carniceras con diferentes técnicas coproparasitológicas. Rev Med Vet Zoot. 69(3):259-267. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n3.103806>

Lack of evidence for *Mycoplasma* spp. in bulk tank milk of herds located in mid-western Colombia

J. Velasco-Bolaños¹, A. S. Jaramillo-Jaramillo¹, N. A. Villa-Arcila¹,
S. Piepers², S. Dufour^{3,4}, A. Ceballos-Márquez¹

Recibido: 09/09/2021. Aprobado: 22/12/2021

ABSTRACT

Mycoplasma spp. is reported as a highly contagious mastitis-causing bacteria in dairy cattle, without successful or low response to most common antibiotic treatments due to the lack of cell wall. In Colombia it has been reported in the Central Andean region during 2014. The aim was to estimate the prevalence of *Mycoplasma* spp. in bulk tank milk using microbiological and molecular diagnosis. A random longitudinal study enrolling 220 commercial dairy farms located in four provinces of the mid-western region of Colombia from four pasteurizer companies was performed. Bulk tank milk samples were collected once monthly for three months period for determining somatic cell count (SCC) and microbiological and molecular diagnosis of *Mycoplasma* spp. cultures were done without pre-enrichment procedures directly in mycoplasma agar with cefoperazone to inhibit growth of opportunistic microorganisms, plates were incubated under 37° C and atmosphere of 10% CO₂ and inspected during a 10d period. Molecular analysis was done by a multiplex PCR using specific primers targeting the 16S-23S rARN gene of *Mycoplasma* spp. and from non-pathogenic bacteria occasionally found in milk. LnSCC average of included dairy farms was 6.19 x10³ cells/mL, *Mycoplasma* spp. was not isolated during microbiological cultures, and no DNA belonging to the species was detected by PCR in the 220 bulk tanks milk, with an estimated prevalence lower than 2.3%. This finding shows that there is not microbiological or molecular evidence that demonstrates the presence of the pathogen in the milk from the mid-western region of Colombia at herd level.

Keywords: bovine, culture, dairy cow, mastitis, molecular, prevalence.

¹ Grupo de Investigación en Calidad de Leche y Epidemiología Veterinaria (CLEV), Departamento de Producción Agropecuaria, Universidad de Caldas, Calle 65 N.° 26-10, Manizales, Colombia.

² M-team and Mastitis and Milk Quality Research Unit, Department of Reproduction, Obstetrics, and Herd Health, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, 9820 Merelbeke, Belgium.

³ Department of Pathology and Microbiology, University of Montreal, St-Hyacinthe, Quebec, Canada. J2S 2M2.

⁴ 4 Mastitis Network, St-Hyacinthe, Quebec, Canada. J2S 2M2

* Corresponding author: juan.velasco@ucaldas.edu.co

Falta de evidencia para *Mycoplasma* spp. en leche de tanques de enfriamiento de hatos del centro-occidente colombiano

RESUMEN

Mycoplasma spp. está descrito como una bacteria causante de mastitis altamente contagiosa en ganado lechero, sin o con baja respuesta a tratamientos antibióticos convencionales debido a que carece de pared celular. En Colombia ha sido reportado en la región Andina Central durante 2014. El objetivo fue estimar la prevalencia de *Mycoplasma* spp. en leche de tanques de enfriamiento empleando diagnósticos microbiológicos y moleculares. Se realizó un estudio aleatorio longitudinal que incluyó 220 lecherías comerciales en cuatro departamentos del centro-occidente colombiano acopiadas por cuatro compañías pasteurizadoras. Se recolectaron muestras de leche del tanque de enfriamiento mensualmente durante tres meses para determinar el recuento de células somáticas (SCC) y el diagnóstico microbiológico y molecular de *Mycoplasma* spp. Los cultivos se realizaron sin procedimientos de preenriquecimiento directamente en agar micoplasma con cefoperazona para inhibir crecimiento de microorganismos oportunistas, los agares se incubaron a 37° C con una atmosfera del 10% CO₂ e inspeccionados durante 10d. Los análisis moleculares se realizaron por PCR multiplex usando cebadores específicos para los genes 16S-23S rRNA del *Mycoplasma* spp. y de algunas bacterias oportunistas ocasionales en la leche. El promedio del LnSCC fue de 6.19 x10³ células/mL, *Mycoplasma* spp. no fue aislado de los cultivos microbiológicos y no se encontró ADN de esta especie mediante PCR en los 220 tanques de leche. Lo anterior indica una prevalencia estimada menor a 2,3%. Se concluye que no existe evidencia microbiológica ni molecular para demostrar la presencia del patógeno en la leche de la región centro-occidente colombiana a nivel de hato.

Palabras clave: bovino, cultivo, mastitis, molecular, prevalencia, vacas lecheras.

INTRODUCTION

Mycoplasma spp. are a group of simple pleomorphic bacteria (around 1000 kbp), of the *mollicute* class, characterized by the lack of a cell wall (Tenk 2005). *Mycoplasma* spp. can be located in several body sites in cattle, and, according to the site, it can produce different diseases like arthritis, otitis, keratoconjunctivitis, pneumonia, reproductive disorders and mastitis (González and Wilson 2003).

As a mastitis causing pathogen, *Mycoplasma* spp. are classified as highly contagious pathogens that can cause a severe inflammatory reaction in the udder, with a subsequent increase in somatic cell count

(SCC) and/or severe clinical mastitis (Lysnyansky *et al.* 2016; Nicholas *et al.* 2016). Commonly, it responds poorly to antimicrobial treatments and it is usually unsuccessful as a result of the high antibiotic resistance of the mycoplasmas (Barberio *et al.* 2016). There is no effective therapy reported for mastitis, and the antibiotic treatment is, therefore, not considered in the treatment of the disease. The protocol described to control mastitis due to mycoplasma is to identify and segregate infected cows (Bushnell 1984; González and Wilson 2003; Aebi *et al.* 2015).

It is described that the transmission of mycoplasma mastitis has different

epidemiology and a different set of risk factors than other contagious mastitis pathogens, e.g. herd size (Fox *et al.* 2003). The frequency of isolation of *Mycoplasma* spp. is low compared to other pathogens in milk samples. However, this pathogen is reported almost everywhere, except for a few places around the globe (Arcangioli *et al.* 2011), with a prevalence close to 5% in the bulk tank milk in North American and European Union countries (Fox 2012; Nicholas *et al.* 2016). *Mycoplasma* mastitis appeared also to be present in Latin American countries such as Mexico, Brazil, Chile, Argentina, and Colombia (Boyacá), mostly with a low prevalence or as a mastitis outbreak in single dairy farms (Infante–Martínez *et al.* 1999; Ulloa 2013; Andrade–Becerra *et al.* 2014; Tamiozzo *et al.* 2014).

Bacteriological culture for *Mycoplasma* spp. requires special methods, such as adapted growing culture media, incubation temperature, CO₂ concentration during incubation, and a prolonged time of incubation (3 to 10d), which can explain why this pathogen is probably under-reported (Fox 2012). In this regard, molecular diagnosis via highly specific and sensitive PCR methods is employed since year 2000, and allows for species identification and differentiation between mycoplasma and non-pathogenic bacteria occasionally found in milk, like *Acholeplasma* spp. (Pinnow *et al.* 2001; Boonyayatra *et al.* 2012a; Boonyayatra *et al.* 2012b).

Due to the presence of the pathogen in Colombia and the special requirements for the microbiological diagnosis, the objective of the current study was to estimate the prevalence of *Mycoplasma* spp. in bulk tank milk in Colombian dairy herds located in the mid-western region using microbiological and molecular diagnosis.

MATERIALS AND METHODS

Study design and sample size calculation

A longitudinal study with commercial dairy herds located in the mid-western region of Colombia located at variable altitudes ranging between 860 and 3700 m.a.s.l. was performed. Herds were affiliated to one of the four main dairy companies of the region. The planned sample size was 160 farms (Dohoo *et al.* 2009). It was estimated using a significance level of 95% ($\alpha = 0.05$), an estimated error of 1.8% and an *a priori* estimated herd level prevalence of 1.4%. The latter was based on the prevalence reports of *Mycoplasma* spp. in bulk tank milk from São Paulo, Brazil (Manzi *et al.* 2018). Finally, a sampling frame of 303 herds was created from the four dairy companies; a total of 220 dairy farms were randomly selected and included in the study. Of these 220 farms, 160 were randomly selected to determine the prevalence of *Mycoplasma* spp. based on microbiological and molecular analysis of bulk milk samples. On the remaining 60 herds, bulk milk was tested for the presence of *Mycoplasma* spp. via PCR only. Finally, 83 farms were not included in the study, but their SCC data was used to explore selection bias.

Farms selection and sampling

Levels of the stratified random sampling used to select 160 farms out of the 220 farms included in the study for microbiological and molecular analyses were determined by dairy company and geographical location, provinces included were: Caldas (n = 56), Quindío (n = 49), Risaralda (n = 31), and finally Valle del Cauca (Northern region) (n = 24) (table 1). The remaining 60 farms included for molecular analysis only were

located as shown in table 1. The research area corresponds to 38 municipalities from the provinces mentioned before (figure 1).

Inclusion criteria for the farms were: to have a bulk tank and to deliver the milk up to 2d after milking to one of the four

TABLE 1. Distribution of herds classified by geographical location and dairy company for milk delivery

Company	Caldas	Quindío	Risaralda	Valle del Cauca	Total
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Molecular and microbiological analyses					
A	2 (1.3)	11 (6.9)	15 (9.4)	7 (4.4)	35 (21.9)
B	39 (24.4)	3 (1.9)	4 (2.5)	1 (0.6)	47 (29.4)
C	7 (4.4)	35 (21.9)	12 (7.5)	16 (10.0)	70 (43.7)
D	8 (5.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	8 (5.0)
Total	56 (35.0)	49 (30.6)	31 (19.4)	24 (15.0)	160 (100)
Molecular analysis					
	8 (13.3)	32 (53.3)	7 (11.7)	13 (21.7)	60 (100)
Overall	64 (29.1)	81 (36.8)	38 (17.3)	37 (16.8)	220 (100)

Source: self-made.

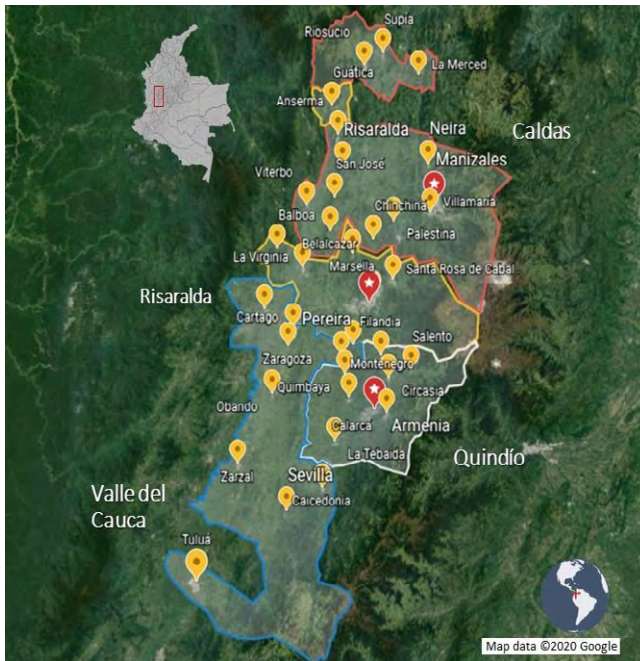


FIGURE 1. Geographical distribution of the provinces and municipalities included in the study area.

Source: self-made.

dairy companies selected for the study. However, bulk tanks which included milk from more than one producer or farms with so-called “communitarian bulk tanks” and bulk tanks without refrigeration temperature were excluded from the study.

A sterile sample of bulk tank milk was monthly collected for up to three samplings per farm between April and July of 2018. Before the sample was collected, the milk was agitated for 5-10 min and then, using a clean sanitized dipper, a total volume of 100 mL of milk was divided into two aliquots; the first one was combined with an 8mg bronopol tablet (Broad Spectrum Microtabs II™, Advanced Instruments) and was used for determination of the bulk milk SCC by flux cytometry (CombiFoss™, Foss), and the second one did not contain bronopol and was used for the detection of *Mycoplasma* spp. Samples were transported to the laboratory (Universidad de Caldas, Manizales, Colombia, for molecular and microbiological analyses and Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, for determination of SCC) under refrigeration temperature (4° C). During the first sampling, all the farms fulfilling the inclusion criteria in the region were sampled in order to allow for comparison between the farms included in the study and those which were eventually excluded from the study.

Microbiological analyses

Samples for microbiological analyses were processed within the first 24h after sampling, due to the detrimental effects of long periods of storage or freezing in the bacteria (Punyapornwithaya *et al.* 2009). For the microbiological analyses of bulk tank milk, 100 µL of milk was inoculated onto 65x15 mm petri dishes with *Mycoplasma* agar medium (*Mycoplasma* agar base

CM401 and *Mycoplasma* supplement-G SR0059; Oxoid) supplemented with 67µg/mL of cefoperazone (Cefoperazone sodium salt C4292, Sigma-Aldrich) (Arcangioli *et al.*, 2011), no pre-enrichment steps were done.

Plates were incubated at 37° C with a humidity of 10% of CO₂ during 10d, searching for suspicious bacterial fried egg colonies at days 3, 5, 7 and 10 with a stereoscopic microscope magnification of 40x (Hogan *et al.* 1999). Suspicious colonies were processed with the aim of obtaining pure colonies.

The purification of the colonies was made by two methods as follows: the suspicious colony was inoculated into 4 mL of mycoplasma broth (*Mycoplasma* Broth base CM402, and *Mycoplasma* supplement-G SR0059; Oxoid), in case that the colony was attached to agar medium, the last was cut using a sterile loop. Then, the piece of agar was introduced into the mycoplasma broth. Afterwards, the sample was homogenized with a vortex at low speed, and finally 10 µL of the broth was cultured in an agar. Both the agar and broth were incubated during 48h-72h until growing of bacteria was observed. The pure colonies were collected from the agar plate with a loop and resuspended into 1 ml of ultrapure water for genomic DNA extraction and 1-3 colonies were placed in 10 µL of ultrapure water with a straight loop for microwave-based method DNA extraction. The broth was cryopreserved at -84° C for further use, adding 30% (v/v) of glycerol (Boonyayatra *et al.* 2012b).

Genomic DNA extraction for PCR

Genomic DNA was extracted from bacterial cultures and directly from the milk. Genomic DNA extraction began with 1 mL of ultrapure water with suspended

bacteria, those were centrifuged at 10,000g for 2 min, the supernatant was discarded, and the centrifugation step was repeated. Then, a commercial spin column-based method (Bacteria DNA Preparation Kit, Jena Bioscience) was used following the manufacturer's recommendations.

Microwave based method genomic DNA extraction was employed placing the tube with 1-3 colonies in a microwave oven during 2 minutes, then it was used as DNA template in the PCR without any additional extraction methods (Cobo-Ángel *et al.* 2017).

Genomic DNA extraction from the milk was done using an aliquot of 1 mL of milk, centrifuged at 10,000 g for 10 minutes, the fatty layer was removed using a sterile cotton swab, followed by a 2 min centrifugation at the same speed. After this, the supernatant was discarded, the pellet was resuspended in 500 μ L of sterile saline solution followed by a 2 min centrifugation at 10.000 g, finally the supernatant was discarded, and the DNA extraction process began with the same commercial kit mentioned before (Cremonesi *et al.* 2006; McDonald *et al.* 2009; Volk *et al.* 2014).

Quality and quantity of DNA were assessed using a fluorospectrometer (Nanodrop™ 1000, Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, MA, USA). Samples with

> 10 ng/ μ L were used for molecular analysis, and those over 50 ng/ μ L were diluted with ultrapure water to 30 ng/ μ L.

Molecular identification

The PCR reaction followed the methodology suggested by (Boonyayatra *et al.* 2012b), with a final volume reaction of 50 μ L, using 25 μ L of a commercial master mix (MangoMix, Bioline), 5 μ L of DNA template (10 ng/ μ L), 1 μ L of the primers shown in table 2, and 17 μ L of ultrapure water. The PCR program was done as follows: initial denaturation at 94° C for 30 s, followed by 35 cycles of denaturation at 94 °C for 30 s, primer annealing at 55 °C for 2 min, and extension at 72 °C for 2 min. A final extension performed at 72 °C for 5 min. The final PCR products were electrophoresed on a 2% agarose gel stained with RedGel™ (Biotium), with 100 volts for 45 min, and DNA bands were visualized with a transilluminator (GelDoc, Biorad). A single band of PCR product indicate the presence of a *Mycoplasma* spp., and the presence of two bands indicate *Acholeplasma* spp. (table 2).

The quality control of the PCR was achieved with genomic DNA extracted from *Mycoplasma bovis* (ATCC 25025) by the tree methods mentioned before, DNA from *Streptococcus agalactiae* (ATCC 27956) or a free DNA template were used

TABLE 2. Primers used for the PCR targeting the 16S-23S rARN intergenic spacer regions (IGSR) of *Mycoplasma* spp. and *Acholeplasma* spp.

Primer	Oligonucleotide sequence	Size (pb)	Target
F2	5'-GTG(C/G)GG(A/C)TGGATCACCTCCT-3'	236 to 365	16S-23S rARN IGSR <i>Mycoplasma</i> spp.
R2	5'-GCATCCACCA(A/T)A(A/T)AC(C/T)CTT-3'		
R34	5'-CCACTGTGTGCCCTTTGTTCCCT-3'	219 & 426	16S-23S rARN IGSR <i>Acholeplasma</i> spp.

Source: adapted from Boonyayatra *et al.* (2012b).

as negative controls in the reaction. The preparation of the DNA extraction and the PCR protocols were performed in two separate rooms of the laboratory to avoid cross-contamination.

Statistical analysis

The bulk tank milk SCC (BTSCC) was transformed in the natural logarithmic scale (LnBTSCC) in order to achieve a normal distribution. The LnBTSCC of dairy farms included in the study for microbiological and molecular analyses (n = 160) and molecular analyses only (n = 60) were compared by a one-way ANOVA with the LnBTSCC values of those farms that were not included (n = 83). The later was done in order to avoid selection bias of the farms in terms of milk quality and subclinical mastitis. Also, a one-way ANOVA was used to determine if there were differences between the farms’ LnBTSCC stratified by the region (province) in which they were located or the dairy company they were affiliated to. A P-value of < 0.05 was considered as a statistically significant difference.

Likewise, 95% confidence intervals (95% CI) around the proportion (prevalence) and mean values were calculated (Brown *et al.* 2001; Corbeil *et al.* 2019). The statistical analyses were performed in Stata 14 (College Station, Texas USA).

RESULTS

No differences were observed between the LnBTSCC according to the origin of the sample, province, or dairy company. The overall mean LnBTSCC was 6.17x10³ cells/mL (95% CI = 6.10–6.25 x10³ cells/mL) for the farms included (microbiology/molecular analyses and only molecular analyses) in the study and 6.38x10³ cells/mL (95% CI = 6.26–6.51 x10³ cells/mL) for excluded farms. The LnBTSCC did not significantly differ among the regions (P > 0.05) (table 3).

During the study none of the 160 farms tested positive to *Mycoplasma* spp. using microbiological analyses. The presence of suspicious colonies was noted in 3.19% (n = 15) of the samples obtained from 13 farms, but none of them was further

TABLE 3. Mean value of the natural logarithmic bulk tank somatic cell count (LnBTSCC x103 cells/mL) of included and excluded farms stratified by the region they were located

Province	Microbiology/ molecular analyses		Molecular analyses		Excluded		P-value
	n	Mean (95% CI)	n	Mean (95% CI)	n	Mean (95% CI)	
Caldas	56	6.32 (6.18 – 6.48) a	8	6.08 (5.76 – 6.41) a	49	6.47 (6.30 – 6.65) a	0.13
Quindío	49	6.04 (5.89 – 6.21) a	32	6.16 (5.97 – 6.36) a	12	6.28 (6.01 – 6.56) a	0.33
Risaralda	31	6.14 (5.88 – 6.40) a	7	6.35 (5.93 – 6.76) a	16	6.25 (6.04 – 6.46) a	0.65
Valle del Cauca	24	6.20 (5.99 – 6.26) a	13	5.95 (5.69 – 6.22) a	6	6.23 (5.51 – 6.96) a	0.32
Overall	160	6.18 (6.10 – 6.28) ab	60	6.13 (6.00 – 6.26) a	83	6.38 (6.26 – 6.51) b	0.01

CI, Confidence interval

a-b different superscript letters differ at P < 0.05 between columns in one-way ANOVA and Tukey’s post hoc test. Source: self-made.

identified as *Mycoplasma* spp. by PCR analysis. The molecular analysis with the genomic DNA extracted directly from the milk shows the same pattern as the obtained via microbiology, where no positive samples were observed. Additional to the latter, the 60 samples of the farms that were included for only PCR, also tested negative to the presence of mycoplasmal DNA in the bulk tank milk. Given all that, and according to the sample size, it is anticipated that the 95% CI for the *Mycoplasma* spp. prevalence is between 0 and 2.3%, which also indicates with 95% confidence that the prevalence of this pathogen at herd level is < 2.3%.

Fungal or bacteria (mainly gram-negative bacteria) contamination was observed on the 10th day examination in 55.4% (n = 260/459 cultures) of the mycoplasma agar plates. Also, 29.4% (n = 47/160 farms) of the farms showed some contamination on all the cultures of the three samplings at the 10th day of inspection.

DISCUSSION

This was the first study in Colombia that aimed at establishing the prevalence of *Mycoplasma* spp. at the herd-level based on bulk tank milk samples specifically collected in the provinces of Caldas, Quindío, Risaralda, and Valle del Cauca. The later was done according to the Olde Riekerink *et al.* (2010) recommendations, who concluded that a herd-level prevalence for *Mycoplasma* spp. should be carried out regionally due to the freshness requirement of bulk tank milk samples and the weak viability of the pathogen for microbiological analysis.

The absence of this pathogen in prevalence studies is not occurring for the first time. Previously, in New Zealand and southeast France there were scientific reports

indicating a prevalence for mycoplasma < 1% (McDonald *et al.* 2009; Arcangioli *et al.* 2011). However, in New Zealand an outbreak of mycoplasma forced in 2018 the culling of more than 100.000 cows to eradicate the pathogen. In that country, in 2019 (April) the authorities had implemented a mycoplasma eradication program consisting in the analysis of one milk sample once a month during an indefinite period of time (Dairy NZ 2019).

Moreover, in Israel a 0-3 cases of *Mycoplasma bovis* mastitis were confirmed per year-herd until 2008. Still, from 2008 on, an increase in the herd level prevalence was observed. Since then 7-9 new cases of *Mycoplasma bovis* per year-herd were reported, although the cause of this outbreak remains unclear, it could be related to the introduction of a new strain into endemic areas via artificial insemination (Yair *et al.* 2020). The findings of the latter study reinforce the statement that mycoplasma-associated mastitis is an emerging global problem in the last decade (Fox, 2012).

Despite the results obtained for the mid-western region evaluated, there is enough evidence suggesting that *Mycoplasma* spp. in absent or low prevalence regions is increasing, and periodical surveillance programs should be established.

Three consecutive samples were analyzed to avoid misdiagnosis and improve the sensitivity of the microbiological analysis for isolating *Mycoplasma* spp., which is reported for single bulk milk samples between 33 to 59% (Biddle *et al.* 2003; Olde Riekerink *et al.* 2006), with a detection limit of of $\geq 1 \times 10^1 - 1 \times 10^3$ CFU/mL (McDonald *et al.* 2009).

False negative results in the culture may occur due to the lack of viability of the microorganism, the viability of *Mycoplasma* spp. can be affected by deficient conditions

in the manipulation and storage of the samples. In this regard, long time storages, temperature of storage (freezing or/and refrigeration), whether or not additives to cryopreserve samples are used and their concentration (glycerol), inappropriate milk sample handling, and thawing method and temperature, amongst many others (Biddle *et al.* 2004; Boonyayatra *et al.* 2010). Due to the above, samples collected in the present research were cultured fresh or within less than 24h after collection and were kept always at a maximum of 4 °C in the meantime. Only samples for molecular analysis were frozen with 30% concentration of cryopreservative added to them.

Additionally, no pre-enrichment of the milk samples was done. Pre-enrichment could have increased the sensitivity of both the microbiological and molecular analyses. Still, this step was not considered because pre-enrichment could also favor the growth of contaminants such as other penicillin-resistant bacterial species (i.e. *Acholeplasma landalwii*) or fungus present in the sample. This is especially a risk in case of bulk tank milk samples (González and Wilson 2003). However, growth of contaminants is not described as a problem for *Mycoplasma* spp. growth, recovery and subsequent diagnosis (McDonald *et al.* 2009). It is also described that pre-enrichment could increase the probability of isolating *Mycoplasma bovis* by 6%, however, it might increase the cost and time for diagnosis (González and Wilson 2003).

Another factor that could affect the sensitivity of the microbiological analysis is the intermittent shedding pattern of *Mycoplasma* spp. at individual cow level, that can continue until 13 months after the initial infection (Jasper *et al.* 1966). For instance, a single cow can shed regularly $1 \times 10^3 - 1 \times 10^6$ CFU/mL of *Mycoplasma bovis*. Still, those concentrations can also

drop below 100 CFU/mL, which is the detection limit described for microbiological identification of *Mycoplasma* spp. (Biddle *et al.* 2003; Barkema *et al.* 2009). Consequently, in case that only one infected cow sheds between 1×10^3 to 1×10^6 CFU/mL, a final concentration of *Mycoplasma* spp. in the bulk milk could be expected between 40 and 4×10^4 CFU/mL, assuming that the cows average milk yield is 26 L/day and for herds between 25 and 30 milking cows (Pfützner and Sachse 1996; Arcangioli *et al.* 2011). In Colombia, the average daily milk yield was 6.3 L/day/cow nationwide (Díaz *et al.* 2020) and 14 L/day/cow in the studied regions (Cobo-Ángel *et al.* 2018), implying that infected cows should shed the *Mycoplasma* spp. at a much higher concentration in order to be able to detect the pathogen in the bulk milk using microbiological analysis.

Molecular methods were also used for the diagnosis of *Mycoplasma* spp., because PCR tests are reported to have a high sensitivity and specificity, and can be useful to detect *Mycoplasma* spp. in milk that was kept frozen up to two years after the sample was collected, thus, a fast and practical alternative to culture (Pinnow *et al.* 2001; Francoz *et al.* 2012). According to Arcangioli *et al.* (2011), PCR could detect *Mycoplasma* spp. in milk when there is only one cow shedding the pathogen in a herd of 300 milking cows. With a reported detection limit ≤ 5 CFU/mL (Pinnow *et al.* 2001). In the present study, none of the 210 farms tested positive to the pathogen, even using molecular analysis. This finding supports the results obtained via microbiological analysis of the bulk milk samples.

In the studied regions, there are several studies that revealed a high average of SCC, above 400×10^3 cells/mL (Cobo *et al.* 2015; Cobo-Ángel *et al.* 2018), which is not

different from the values reported in our study. However, those reports also indicate a high prevalence of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, and *Streptococcus uberis* as cause for the high BTSCC values. The high BTSCC values obtained in our study can still be attributed to the presence of the abovementioned mastitis causing pathogens on the studied farms.

Assuming that all the due precautions and cares were taken during the study, the lack of *Mycoplasma* spp. evidence could be explained by several factors related to the production system employed in the country, specifically in the sampled regions. One of them could be the herd size, which can affect the prevalence of mycoplasma caused-mastitis, that rises with increasing the herd size (Fox, 2012). In the sampled regions the herd size average was below 50 lactating cows per herd (Ramírez *et al.* 2014; Cobo-Ángel *et al.* 2018), and 85% of the herds had less than 50 cows (ICA, 2019), which can limit the probability of being positive to *Mycoplasma* spp. Interestingly, in another study conducted in Colombia in a region with a similar average herd size, *Mycoplasma* spp. were isolated (high-altitude plateau of Boyacá). Still, the *Mycoplasma* spp. in that study were isolated from quarter milk samples of cows experiencing chronic mastitis that did not respond to antimicrobial treatments and thus not of bulk milk samples (Andrade-Becerra *et al.* 2014). Furthermore, all evaluated farms in the current study were applying grazing systems, while the main housing types in other studies conducted in the United States, Canada, Chile, and Mexico were free-stall or tie-stall barns (Lemus-Ramírez *et al.* 2008; Pinedo *et al.* 2009; Francoz *et al.* 2012; Saini *et al.* 2013).

Finally, there are some potential protective factors for contagious mastitis including *Mycoplasma* mastitis in Colombian herds

compared to the herds of other countries. One of the most important factors is that the majority of the herds in the region are closed, according to a survey conducted in 2015 (Cobo-Ángel *et al.* 2018). Not purchasing animals is one of the most effective measures in order to control contagious mastitis pathogens (Keefe 2012). On the other hand, in Colombia most of the farms do not cull cows due to mastitis, which could result in an increased risk and prevalence of contagious mastitis pathogens. However, as it was mentioned before, contagious mastitis pathogens such as *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* are well-known in the region, while mycoplasma seems to be absent nowadays. Besides, periodic screening programs should be considered at herd level across the national territory to keep *Mycoplasma* spp. under surveillance, especially in regions where it was previously isolated and from where it can be transferred to other regions through sale or movement of cattle.

CONCLUSION

There was a lack of microbiological and molecular evidence of *Mycoplasma* spp. in the Colombian dairy herds located in Caldas, Quindío, Risaralda, and Northern Valle del Cauca (mid-western region). The herd-prevalence of this pathogen was estimated to be less than 2.3%.

CONFLICT OF INTEREST

Authors declare no conflict of interest.

FUNDING

This project was supported by Grants: Colciencias Convocatoria 727 of 2015 de Doctorados Nacionales and Vicerrectoría

de Investigaciones y Posgrados, Universidad de Caldas (N.º 0177117).

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the dairy companies who helped in the study and the personnel of Laboratorio de Calidad de Leche y Epidemiología Veterinaria of Universidad de Caldas.

AVAILABILITY OF DATA AND MATERIALS

All data supporting these findings are included in the manuscript. However, the datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on request.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

A. Ceballos–Márquez and N. A. Villa–Arcila had full access to all the data in the study and take responsibility for the decision to submit this work for publication. A. Ceballos–Márquez, S. Piepers, S. Dufour, and N. A. Villa–Arcila, J. Velasco–Bolaños designed the study and participated in data analysis and interpretation, manuscript drafting and critical revision. J. Velasco–Bolaños and A. S. Jaramillo–Jaramillo performed field and laboratory work and contributed to data collection, data analysis, and interpretation and critical revision of the manuscript. All the authors read and approved the final version of the manuscript to be published.

REFERENCES

- Aebi M, van den Borne BHP, Raemy A, Steiner A, Pilo P, Bodmer M. 2015. *Mycoplasma bovis* infections in Swiss dairy cattle: a clinical investigation.. Acta Vet. Scand. 57:10. <https://doi.org/10.1186/s13028-015-0099-x>.
- Andrade–Becerra RJ, Caro–Carvajal Z, Pulido–Medellín M, López–Cepeda M. 2014. Prevalencia de *Mycoplasma* spp., en fincas lecheras del Altiplano Boyacense (Colombia). Rev. U.D.C.A Actual. Divulg. Científica. 17:461–466.
- Arcangioli MA., Chazel M, Sellal E, Botrel MA, Bézille P, Poumarat F, Calavas D, Le Grand D. 2011. Prevalence of *Mycoplasma bovis* udder infection in dairy cattle: Preliminary field investigation in Southeast France. N. Z. Vet. J. 59:75–78. <https://doi.org/10.1080/00480169.2011.552856>.
- Barberio A, Flaminio B, De Vlieghe S, Supré K, Kromker V, Garbarino C, Arrigoni N, Zanardi G, Bertocchi L, Gobbo F, Catania S, Moroni P. 2016. Short communication: In vitro antimicrobial susceptibility of *Mycoplasma bovis* isolates identified in milk from dairy cattle in Belgium, Germany, and Italy. J. Dairy Sci. 99:6578–6584. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10572>.
- Barkema HW, Green MJ, Bradley AJ, Zadoks RN. 2009. The role of contagious disease in udder health. J. Dairy Sci. 92:4717–4729. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2347>.
- Biddle MK, Fox LK, Hancock DD. 2003. Patterns of mycoplasma shedding in the milk of dairy cows with intramammary *Mycoplasma* infection.. J. Am. Vet. Med. Assoc. 223:1163-6. <https://doi.org/10.2460/javma.2003.223.1163>.
- Biddle MK, Fox LK, Hancock DD, Gaskins CT, Evans MA. 2004. Effects of storage time and thawing methods on the recovery of *Mycoplasma* species in milk samples from cows with intramammary infections.. J. Dairy Sci. 87:933-936. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73237-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73237-3).
- Boonyayatra S, Fox LK, Besser TE, Sawant A, Gay JM. 2010. Effects of storage methods on the recovery of *Mycoplasma* species from milk samples. Vet. Microbiol. 144:210-213. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.12.014>.
- Boonyayatra S, Fox LK, Besser TE, Sawant A, Gay JM, Raviv Z. 2012a. A PCR assay and PCR-restriction fragment length polymorphism combination identifying the 3 primary *Mycoplasma* species causing mastitis.. J. Dairy Sci. 95:196-205. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4531>.
- Boonyayatra S, Fox LK, Gay JM, Sawant A, Besser TE. 2012b. Discrimination between *Mycoplasma*

- and *Acholeplasma* species of bovine origin using digitonin disc diffusion assay, nisin disc diffusion assay, and conventional polymerase chain reaction.. J. Vet. Diagn. Invest. 24:7-13. <https://doi.org/10.1177/1040638711425936>.
- Brown LD, Cai TT, DasGupta A. 2001. Interval estimation for a binomial proportion. Stat. Sci. 16:101-133. <https://doi.org/10.1214/ss/1009213286>.
- Bushnell RB 1984. *Mycoplasma* mastitis. Vet. Clin. North Am.-Large Anim. Pract. 6:301-312.
- Cobo-Ángel C, Jaramillo-Jaramillo AS, Lasso-Rojas LM, Aguilar-Marín SB, Sánchez J, Rodríguez-Leconte JC, Ceballos-Márquez A, Zadoks RN. 2018. *Streptococcus agalactiae* is not always an obligate intramammary pathogen: Molecular epidemiology of GBS from milk, feces and environment in Colombian dairy herds. PLoS One 13:1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208990>.
- Cobo-Ángel C, Velasco-Bolaños J, Jaramillo-Jaramillo AS, Lasso-Rojas LM, Moreno-Tolosa Y, Ceballos-Márquez A. 2017. A colony-PCR method for bovine and human *Streptococcus agalactiae* diagnostic. Natl. Mastit. Counc. 56th Annu. Meet. 3-5.
- Cobo C, Valencia A, Velasco-Bolaños J, Duque P, Lasso L, Ceballos-Márquez C. 2015. Prevalencia y frecuencia de aislamiento de *Streptococcus agalactiae* en tanques de enfriamiento en lecherías del Triángulo del Café. Rev. Colomb. Ciencias Pecu. 28:100. <https://doi.org/10.17533>.
- Corbeil A, Labrie J, Goetz C, Dufour S, Doghri I, Rivière L, Jacques M. 2019. Short communication: Search for superantigen genes in coagulase-negative staphylococci isolated from bovine milk in Canada. J. Dairy Sci. 102:2008-2010. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15648>.
- Cremonesi P, Castiglioni B, Malferrari G, Biunno I, Vimercati C, Moroni P, Morandi S, Luzzana M. 2006. Technical note: Improved method for rapid DNA extraction of mastitis pathogens directly from milk. J. Dairy Sci. 89:163-169. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72080-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72080-X).
- Dairy NZ. 2019. *Mycoplasma bovis*. 2020. Available in: <https://www.dairynz.co.nz/animal/cow-health/mycoplasma-bovis/>
- Díaz A, Forero O, Ortiz P, Pulido AA, Ramos HG, Velásquez M. 2020. Línea Base Cadena Productiva Láctea. UPRA, Bogotá.
- Dohoo IR, Martin W, Stryhn H. 2009. Veterinary Epidemiologic Research. 2nd ed. VER inc., Charlottetown, Canada.
- Fox LK. 2012. *Mycoplasma* Mastitis. Causes, Transmission, and Control.. Vet. Clin. North Am.-Food Anim. Pract. 28:225-237. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.007>
- Fox LK, Hancock DD, Mickelson A, Britten A. 2003. Bulk tank milk analysis: Factors associated with appearance of *Mycoplasma* sp. in milk. J. Vet. Med. Ser. B 50:235-240. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2003.00668.x>
- Francoz D, Bergeron L, Nadeau M, Beauchamp G. 2012. Prevalence of contagious mastitis pathogens in bulk tank milk in Quebec. Can. Vet. J. 53:1071-1078. <https://doi.org/2006-015>
- González RN, Wilson DJ. 2003. Mycoplasmal mastitis in dairy herds. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 19:199-221. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(02\)00076-2](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(02)00076-2)
- Hogan J, González R, Harmon R, Nickerson S, Oliver S, Pankey J, Smith K. 1999. Laboratory handbook on bovine mastitis. 2nd ed. National Mastitis Council, Verona, Wisconsin.
- Infante-Martínez F, Aguado J, Jasper DE. 1999. Mastitis outbreak due to *Mycoplasma californicum* and *Mycoplasma canadense* in a commercial dairy herd in the state of Jalisco, México. Rev. Latinoam. Microbiol. 40:117-120.
- Jasper D, Jain N, Brazil L. 1966. Clinical and laboratory observations on bovine mastitis due to *Mycoplasma*. J. Am. Vet. Med. Assoc. 148:1017-1029.
- Keeffe GP. 2012. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. Vet. Clin. North Am.-Food Anim. Pract. 28:203-216. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.010>.
- Lemus-Ramírez V, Guevara-Escobar A, GarcíaMuñiz J. 2008. Lactation curve and weight change of grazing Holstein-Friesian cows. Agrobiencia 42:753-765.
- Lysnyansky I, Freed M, Rosales RS, Mikula I, Khateb N, Gerchman I, van Straten M, Levisohn S. 2016. An overview of *Mycoplasma bovis* mastitis in Israel (2004-2014). Vet. J. 207:180-183. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.10.057>
- Manzi MP, Joaquim SF, Guimaraes FF, Bruder-Nascimento ACMO, Pantoja JCF, Langoni H.

2018. Prevalence of *Mycoplasma bovis* in dairy herds. Pesqui. Vet. Bras. 38:665-669. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5192>
- McDonald WL, Rawdon TG, Fitzmaurice J, Bolotovski I, Voges H, Humphrey S, Fernando K, Canagasebey Y, Thornton RN, McIntyre L. 2009. Survey of bulk tank milk in New Zealand for *Mycoplasma bovis*, using species-specific nested PCR and culture. N. Z. Vet. J. 57:44-49. <https://doi.org/10.1080/00480169.2009.36867>
- Nicholas RAJ, Fox LK, Lysnyansky I. 2016. Mycoplasma mastitis in cattle: To cull or not to cull. Vet. J. 216:142-147. <https://doi.org/10.1016/j.rvjl.2016.08.001>
- Olde Riekerink RGM, Barkema HW, Scholl DT, Poole DE, Kelton DF. 2010. Management practices associated with the bulk-milk prevalence of *Staphylococcus aureus* in Canadian dairy farms. Prev. Vet. Med. 97:20-28. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.07.002>
- Olde Riekerink RGM, Barkema HW, Veenstra S, Poole DE, Dingwell RT, Keefe GP. 2006. Prevalence of contagious mastitis pathogens in bulk tank milk in Prince Edward Island. Can. Vet. J. 47:567-572. <https://doi.org/2006-015>
- Pfützner H, Sachse K. 1996. *Mycoplasma bovis* as an agent of mastitis, pneumonia, arthritis and genital disorders in cattle. Rev. Sci. Tech. 15:1477-1494.
- Pinedo PJ, Meléndez P, Villagomez-Cortés JA, Risco CA. 2009. Effect of high somatic cell counts on reproductive performance of Chilean dairy cattle. J. Dairy Sci. 92:1575-1580. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1783>
- Pinnow CC, Butler JA, Sachse K, Hotzel H, Timms LL, Rosenbusch RF. 2001. Detection of *Mycoplasma bovis* in Preservative-Treated Field Milk Samples. J. Dairy Sci. 84:1640-1645. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74599-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74599-7)
- Punyapornwithaya V, Fox LK, Gay JM, Hancock DD, Alldredge JR. 2009. Short communication: The effect of centrifugation and resuspension on the recovery of *Mycoplasma* species from milk. J. Dairy Sci. 92:4444-7. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2182>
- Ramírez N, Keefe GP, Dohoo IR, Sánchez J, Arroyave O, Cerón J, Jaramillo M, Palacio LG. 2014. Herd and cow-level risk factors associated with subclinical mastitis in dairy farms from the High Plains of the northern Antioquia, Colombia. J. Dairy Sci. 1-10. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6815>
- Saini V, McClure JT, Scholl DT, DeVries TJ, Barkema HW. 2013. Herd-level relationship between antimicrobial use and presence or absence of antimicrobial resistance in gram-negative bovine mastitis pathogens on Canadian dairy farms. J. Dairy Sci. 96:4965-76. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5713>
- Tamiozzo PJ, Estanguet AA, Maito J, Tirante L, Pol M, Giraudo JA. 2014. Detection of *Mycoplasma canadense* and *Mycoplasma californicum* in dairy cattle from Argentina. Rev. Argent. Microbiol. 46:119-21. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70059-8](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70059-8)
- Tenk M. 2005. Examination of *Mycoplasma bovis* infection in cattle. Szent István University.
- Ulloa F. 2013. Aislamiento de *Mycoplasma bovis* en muestras de leche de estanco en rebaños lecheros del sur de Chile. Universidad Austral de Chile.
- Volk H, Piskernik S, Kurincic M, Kalancnik A, Toplak N, Jersek B. 2014. Evaluation of different methods for DNA extraction from milk. J. Food Nutr. Res. 53:97-104.
- Yair Y, Borovok I, Mikula I, Falk R, Fox LK, Gophna U, Lysnyansky I. 2020. Genomics-based epidemiology of bovine *Mycoplasma bovis* strains in Israel. BMC Genomics 21:1-11. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6460-0>

Forma de citación del artículo:

Velasco-Bolaños J, Jaramillo-Jaramillo AS, Villa-Arcila NA, Piepers S; Dufour S; Ceballos-Márquez A. 2022. Lack of evidence for *Mycoplasma* spp. in bulk tank milk of herds located in mid-western Colombia. Rev Med Vet Zoot. 69(3):268-280. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n3.103807>

Establecimiento de biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno, tendiente a la producción de zooplancton

L. F. Collazos–Lasso¹, M. Ueno–Fukura², Y. Jiménez–Moreno (Q.E.P.D.)³,
L. Suárez–Contento⁴, E. Aya–Baquero⁵

Recibido: 06/12/2021. Aprobado: 07/05/2022

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue establecer el biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno (C/N): 10/1, 15/1 y 20/1, determinando la secuencia de remoción de N, el perfil de sólidos y la caracterización del zooplancton, para tal fin se dispuso de tres tanques con volumen de 7000 L, incorporando oxígeno al agua a través de un aireador tipo soplador. Se utilizó como fuente de N balanceado, fuente de carbono melaza y bicarbonato de sodio como fuente alcalinizante. Al inicio se incrementó el nitrógeno amoniacal total NAT a 2 mg/L, la alcalinidad total (AT) a 120 mg/L y se adicionó como inóculo 10 litros/tanque de agua proveniente de un estanque de cultivo, al sexto y décimo días se adicionó balanceado incrementando teóricamente el NAT en 4 mg/L y a partir del día 12 en 1 mg/L. En las tres relaciones C/N se evidenciaron procesos de nitrificación durante la estabilización del biofloc, hasta llegar en el tiempo a concentraciones no letales de amonio y nitrito para peces, menores a 1 mg/L. En cuanto a los sólidos volátiles, se encontró una mayor concentración en la relación 20/1, lo cual puede atribuirse a la mayor adición de melaza, con la consecuente producción de SSV a partir de la dominancia de comunidades heterotróficas, en los tres macrocosmos se presentaron comunidades del zooplancton, no obstante, el T2 presentaron la mayor abundancia y riqueza de organismos. Las tres relaciones C/N en biofloc establecieron condiciones de calidad de agua y alimento vivo.

Palabras clave: biofloc, sólidos, establecimiento, zooplancton, amonio.

¹ Grupo de investigación IALL, Instituto de acuicultura de los Llanos, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales FCARN, Universidad de los Llanos, Km 12 vía Puerto López, sede Barcelona, Villavicencio, Meta, Colombia.

Correo electrónico: lcollazos@unillanos.edu.co.

² Grupo de investigación IALL, Instituto de acuicultura de los Llanos, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales FCARN, Universidad de los Llanos, Km 12 vía Puerto López, sede Barcelona, Villavicencio, Meta, Colombia.

Correo electrónico: ufukura@unillanos.edu.co.

³ Grupo de investigación Biorinoquía, programa de Biología, Facultad de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad de los Llanos, Km 12 vía Puerto López, vereda Barcelona, Villavicencio, Meta, Colombia.

⁴ Grupo de investigación IALL, Instituto de acuicultura de los Llanos, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales FCARN, Universidad de los Llanos, Km 12 vía Puerto López, sede Barcelona, Villavicencio, Meta, Colombia.

Correo electrónico: laura.suarez@unillanos.edu.co.

⁵ Grupo de investigación Biorinoquía, programa de Biología, Facultad de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad de los Llanos, Km 12 vía Puerto López, vereda Barcelona, Villavicencio, Meta, Colombia.

Correo electrónico: elizabeth.aya@unillanos.edu.co.

Establishment of biofloc at three carbon/nitrogen ratios, tending to the production of zooplankton

ABSTRACT

The objective of this research was to establish the biofloc at three carbon/nitrogen (C/N) relationships: 10/1, 15/1 and 20/1, determining the N removal sequence, the solids profile and the characterization of the zooplankton, for this purpose three tanks with a volume of 7000 L were available, incorporating oxygen into the water through a blower-type aerator. It was used as a source of balanced N, a source of carbon molasses and sodium bicarbonate as an alkalizing source. At the beginning, the total ammoniacal nitrogen NAT was increased to 2 mg/L, the total alkalinity (AT) to 120 mg/L and 10 liters / tank of water from a culture pond was added as inoculum, on the sixth and tenth days it was he added balanced, theoretically increasing the NAT by 4 mg/L and from day 12 by 1 mg/L. In the three C / N relationships, nitrification processes were evidenced during the stabilization of the biofloc, until reaching non-lethal concentrations of ammonium and nitrite for fish, less than 1 mg/L in time. Regarding volatile solids, a higher concentration was found in the 20/1 ratio, which can be attributed to the greater addition of molasses, with the consequent production of SSV from the dominance of heterotrophic communities, in the three macrocosms there were Zooplankton communities, however, T2 presented the highest abundance and richness of organisms. The three C / N relationships in biofloc established conditions of water quality and live food.

Keywords: biofloc, solids, establishment, zooplankton, ammonium.

INTRODUCCIÓN

La aplicación de la tecnología biofloc en piscicultura se establece como un sistema intensivo de cultivo con menores impactos, con lo cual se logra mantener los parámetros de calidad de agua dentro de rangos adecuados para el cultivo a partir del reciclaje de nutrientes, en especial los compuestos nitrogenados (en especial del NH_3 y NO_2^-) a través de la asimilación y oxidación del N por microorganismos aerobios con actividades autotróficas y heterotróficas (Ebeling *et al.* 2006), a una alta relación C/N y oxigenación en saturación, lo que resuelve los problemas de exceso de nutrientes en la producción (Collazos–Lasso y Arias–Castellanos 2015; Avnimelech 2015), siendo un sistema que incorpora conocimientos disimiles, multidisciplinarios y constituye una forma

diferente de la producción en confinamiento de especies acuícolas.

El inicio y estabilización del sistema es esencial, pues de esto depende el éxito del cultivo, los conceptos de diferentes autores de manera general son similares (Crab *et al.* 2010; Ekasari *et al.* 2015; Fauji *et al.* 2018; García–Ríos *et al.* 2019; Li *et al.* 2018), aportes de N al agua (De Schryver *et al.* 2008), de C (Avnimelech 2009), condiciones de calidad de agua (Emerenciano *et al.* 2017) en medio aerobio y adición de inóculo (Martins *et al.* 2020; Crab *et al.* 2010).

No obstante, surgen singularidades en cada proceso, por ejemplo, Crab *et al.* (2010) reportan una concentración de 25 mg/L de NAT para dar inicio al sistema a una relación C/N de 10; otros estudios presentan NH_4Cl como aporte de N para

el inicio biofloc a una concentración de 2 mg/L, usando como fuente de carbono harina de tapioca a una relación C/N de 10 (Gomes Vilani *et al.* 2016; Fauji *et al.* 2018).

Otro factor es el inóculo con el que dan inicio al sistema, esta condición básicamente puede referirse al uso de microorganismos comerciales, o a potencializar los microorganismos presentes en el agua proveniente de otro sistema de cultivo (sistemas de recirculación en acuicultura –RAS–, estanques en tierra, filtros, biofloc, entre otros). En este sentido, Crab *et al.* (2010) reportaron el lodo de un filtro de tambor como inóculo para el inicio de un cultivo en biofloc.

Fauji *et al.* (2018) adicionan probióticos comerciales que contienen *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*; otros autores reportan inóculo con agua de cultivo de diatomeas *Chaetoceros muelleri* (Gomes Vilani *et al.* 2016); Martins *et al.* (2020) evalúan el uso como inóculo de agua proveniente de sistemas biofloc maduros con procesos de nitrificación establecidos. En esta dirección, Miranda–Baeza *et al.* (2019) sugieren que los conglomerados provenientes de biofloc contienen comunidades bacterianas bien establecidas, lo cual hace difícil que sean modificadas por la adición de probióticos.

La dominancia de microorganismos en el biofloc es asociada a las relaciones C/N, lo cual sugiere que una alta proporción da condiciones de mayor biodisponibilidad de carbono orgánico, promoviendo la remoción de N por microorganismos y vías heterótrofas (Avnimelech 2009). Dado que los procesos de oxidación del N pueden estar asociados a menores relaciones C/N con la participación de microorganismos autótrofos (Ebeling *et al.* 2006), estudios realizados por Bakar *et al.* (2015) establecen la reducción del N a diferentes relaciones

C/N de 10, 15, 20, 25 y 30/1, siendo que, a mayor C/N, menores fueron los procesos de nitrificación.

Por otra parte, las relaciones C/N presentan diferencias en la conformación orgánica del biofloc, estando relacionadas proporcionalmente con un mayor aporte de carbono orgánico al sistema (Martins *et al.* 2020). De esta manera, las vías heterótrofas tienen como producto una mayor producción de sólidos en suspensión volátiles (SSV) (Ebeling *et al.* 2006; Xu *et al.* 2016), generando condiciones particulares en la conformación de los eslabones superiores (organismos del zooplancton) de la red trófica (Hernández *et al.* 2017; Ray *et al.* 2010), donde se reportan organismos como: microalgas, protistas (ciliados), rotíferos, cladóceros y copépodos (Ayazo–Genes *et al.* 2019; Betancur Gonzales *et al.* 2016; Castro–Mejía *et al.* 2017; Monroy–Dosta *et al.* 2013; Lima 2017).

Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo de esta investigación fue establecer la secuencia de remoción de N, el perfil de sólidos y la caracterización del zooplancton durante el establecimiento del biofloc a tres relaciones C/N.

METODOLOGÍA

Los experimentos de estabilización de biofloc a tres relaciones C/N se realizaron en la unidad de experimentación con BFT del Instituto de Acuicultura y Pesca de los Llanos, adscrito a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad de los Llanos, Colombia (4°04'30"N 73°35'07"O).

Comité de ética

La investigación contó con el concepto técnico favorable del comité de bioética (acta 07 de 2019) de la Dirección General

de Investigaciones de la Universidad de los Llanos. Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con la “Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio” del Consejo Nacional de Investigación de Estados Unidos y la “Política sobre el cuidado y uso humanitarios de animales de laboratorio” del Servicio de Salud Pública de Estados Unidos.

Establecimiento del biofloc

Se utilizaron tres tanques circulares de 3 m de diámetro con un volumen útil de 7.000 L, recubiertos con una bolsa de geomembrana HDPE, protegidos por un domo o cúpula en polietileno de baja densidad con transparencia del 90% para regular temperatura, entrada de luz y agua lluvia, la incorporación de oxígeno al agua se hizo a través de un aireador tipo soplador (1 HP), usando como difusor manguera microperforada.

Cada tanque se llenó con 7.000 L de agua dulce, regulando los parámetros de calidad de agua bajo las siguientes restricciones experimentales: temperatura $T = 26 - 28^\circ \text{C}$; oxígeno disuelto (OD) $> 5 \text{ mg/L}$, saturación de oxígeno (SO) $> 60\%$, pH = 7,5 – 8,5 y alcalinidad total (AT) = 80 – 130 mg CaCO_3/L ; posteriormente se procedió al establecimiento y estabilización del biofloc, teniendo en cuenta los planteamientos descritos por De Schryver *et al.* (2008) y Avnimelech (2009), manejando tres relaciones C/N, así: tanque 1 a una relación C/N=10/1; tanque 2 de 15/1 y tanque 3 de 20/1, como fuente de N se utilizó alimento balanceado con un nivel de proteína del 32% (humedad del 13 %), como fuente de carbono melaza (33,65% de carbono orgánico total), como fuente alcalinizante: bicarbonato de sodio (NaHCO_3), del cual el 98,59% del tamaño de partícula es menor a 0,355 mm.

La cantidad de alimento que se adicionó en los tres tratamientos para incrementar teóricamente la concentración del nitrógeno amoniacal total (NAT) se determinó a partir de la siguiente ecuación:

$$A (g) = \frac{(NAT/1000) \times Vol}{\% PB \times 0,155 \times 0,87}$$

Donde, A: cantidad de alimento (g); NAT: nitrógeno amoniacal total (deseado); Vol= volumen de agua (L); % PB: % de proteína bruta del alimento; 0,155: % de nitrógeno presente en la PB (Avnimelech 2015); 0,87: % de materia seca del alimento; * no se tuvo en cuenta el 0,75 planteado en De Schryver *et al.* (2008) correspondiente al porcentaje de excreción de amonio (NH_3) porque no hay peces.

Para calcular la cantidad de carbono orgánico (melaza), se tuvo en cuenta la relación C/N propia del alimento, la relación C/N correspondiente a cada tratamiento y el % de carbono orgánico total de la fuente, como se describe a continuación:

$$C / NAT \leftrightarrow (A \times 0,5 \times 0,87) / (A \times PB \times 0,155 \times 0,87); \text{ donde:}$$

C: cantidad de carbono en el alimento y 0,5: el % de carbono en el alimento (Avnimelech 2009)

Teniendo en cuenta lo anterior, para el primer día se incrementó teóricamente el NAT a 2 mg/L según lo reportado por Fauji *et al.* (2018) y Gomes Vilani *et al.* (2016), para lo cual se adicionó 324 g de alimento con el 32% PB a cada tanque (7.000 L), y para regular la relación C/N de los tres tratamientos, se adicionó melaza en las siguientes cantidades; T1 (10/1) = 0 g, T2 (15/1) = 205 g y T3 (20/1) = 413 g a cada tanque (7.000 L).

Al segundo día, como inóculo, se adicionó a cada tanque 10 litros de agua proveniente de un estanque de cultivo de cachama blanca en tierra; al sexto y décimo

día se adicionó, nuevamente, alimento y melaza en las cantidades necesarias para subir teóricamente el NAT a 4 mg/L, conservando las relaciones C/N de cada tratamiento y manteniendo la alcalinidad en los rangos establecidos; y desde el día doce hasta el día sesenta (fin de experimento) se adicionó alimento calculado para incrementar de manera teórica 1 mg/L de NAT, conservando las relaciones C/N de los tratamientos; el tiempo de evaluación se determinó cuando los compuestos nitrogenados $\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$, NO_2^- y NO_3^- presentes en el agua estuvieron dentro de rangos no tóxicos para especies ícticas de agua dulce (Jiménez-Ojeda *et al.* 2018) y se observaron comunidades asociadas al plancton.

Seguimiento de los parámetros de calidad de agua

Durante el establecimiento y la estabilización del biofloc, se registraron mediciones y registros de la calidad del agua en los tres tanques de biofloc bajo las siguientes consideraciones: una vez al día se determinaron las concentraciones de nitrógeno amoniacal total NAT = ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$ mg/L), nitrito (NO_2^- mg/L), nitrato (NO_3^- mg/L) y alcalinidad total (AT mg CaCO_3 /L) con fotómetro YSI Yellow Spring Instrument™ Ref 9500 Exactitud $\pm 0,5\%$ a 4% transmitancia; $\pm 0,005$ a 0,3 AU Resolución 0,001 AU, y sólidos sedimentables (SS ml/L) con conos Imhoff conforme a la metodología da APHA (1998), adaptada por Avnimelech (2007). Dos veces al día, pH, temperatura (T °C) y oxígeno (O_2 mg/L y %) fueron determinados con sonda multiparamétrica HANNA HI98196.

Al final del establecimiento, se tomaron muestras del agua del biofloc en los tres tanques y, por triplicado, los sólidos totales (ST), volátiles (SV) y fijos (SF) para cada

tratamiento; los ST, SF y SV se midieron por el método gravimétrico siguiendo la metodología da APHA (2017) (2540B y 2005–2540E, respectivamente).

Toma de muestras y caracterización del zooplancton

Los muestreos se realizaron cada dos días durante los últimos 14 días de experimentación. La recolección de las muestras de zooplancton se efectuó en los tres tratamientos, se tomaron cinco réplicas en diferentes puntos dentro de cada uno de los tanques sobre la parte superficial del cuerpo de agua. Dichas muestras se recogieron en frascos plásticos con un volumen de 50 ml, se fijaron con solución de Transeau (agua destilada, alcohol al 70% y Formol al 40% mezclados en proporción 6:3:1) (Arcos-Pulido y Gómez Prieto 2006), protegidos de la luz.

Para la observación e identificación del zooplancton, se tomaron las muestras de cada tratamiento y luego se observaron en la cámara de conteo Sedgwick-Rafter con marco de acrílico rectangular con una capacidad volumétrica de 1 ml.

Asimismo, se tomó 1 ml de cada una de las cinco muestras por relación C:N, estas se dejaron reposar por cinco minutos para que el zooplancton se deposite en el fondo de la cámara y examinar a una magnificación inicial de 10X y luego 20X con un microscopio óptico modelo NiKon-ECLIPSE Ti. Antes de iniciar el recuento de los 30 puntos al azar dentro de la cámara, se observó detenidamente toda la extensión de la cámara para identificar las principales especies presentes en la muestra y se tomaron fotografías, de tal modo que estudios han demostrado que en un recuento de 30 puntos se puede determinar entre el 90% o el 95% de las especies presentes en las muestras (Moreno *et al.* 2012).

Por otra parte, la identificación del zooplankton se realizó con ayuda de claves taxonómicas, entre ellas la de Rieradevall (1987); Korovchinsky (1992); Elmoor-Loureiro (1997); Glime (2017); Fontaneto y De Smet (2014); Aboal *et al.* (2012); Rogers y Thorp (2019).

La abundancia de microorganismos por grupo identificado se determinó por la fórmula: $Abundancia = ((Vcf)/(Ni))/(Vti)*Vc$; donde Vcf: volumen de la concentración; Ni: número de individuos contados; Vti: volumen total inicial; Vc: volumen de la muestra contado. La abundancia fue expresada en número de individuos/mL. La relación entre el número de especies y su abundancia relativa en tiempo y espacio se interpretó a través de los conteos de los 14 días de muestreo realizados por cada tratamiento planteada por Ayazo-Genes *et al.* (2019).

Análisis estadístico

Se empleó un diseño completamente aleatorizado efecto fijo balanceado de tipo longitudinal con interacción en el tiempo, incorporando la técnica MANOVA, para determinar la dimensionalidad por medio de la función de máxima verosimilitud, mediante la transformación de datos por medio de la técnica BOX-COX. Las comparaciones unidimensionales se realizaron por medio de la prueba de Tukey, teniendo en cuenta un nivel de significancia del 5%. Se utilizó el paquete estadístico SAS University.

RESULTADOS

Parámetros físicos y químicos del agua

Se encontraron diferencias estadísticas entre T1 respecto a T3 para los parámetros potencial de óxido reducción (ORP,

mV) y SO; para el OD la diferencia se presentó entre el tratamiento 1 respecto a los demás. En cuanto a la temperatura, existe diferencia estadística entre todos los tratamientos; el análisis multivariado de la varianza permitió analizar de manera simultánea las variables: PH, ORP (mV), SO, OD, temperatura, detectando diferencia estadística entre los tratamientos. La prueba canónica permitió evidenciar la diferencia entre los tratamientos T1, T2 respecto a T3, como se observa en la tabla 1.

Para la variable NO_2^- la diferencia se dio entre el tratamiento T2 respecto a T3; al evaluar el NO_3^- la divergencia se dio entre T1, T2 respecto a T3; para las variables NAT y AT no se detectó diferencia estadística ($p > 0,05$). El análisis multivariado de la varianza, al evaluar de manera simultánea el NO_2^- , NO_3^- , NAT y AT, detectó diferencia entre tratamientos, la prueba canónica permitió evidenciar la diferencia entre los tratamientos T1, T2 respecto a T3 (tabla 2).

Teniendo en cuenta que durante la estabilización del biofloc se presentan y registran en el tiempo las concentraciones de los compuestos nitrogenados ($NH_4^+ + NH_3$, NO_2^- y NO_3^-), en la figura 1 se presentan los comportamientos en los procesos de nitrificación para los tres tratamientos.

Perfil de sólidos

En cuanto a los sólidos sedimentables (SS), no presentaron diferencia estadística entre tratamientos, para los totales (ST) la diferencia estuvo entre T2, T3 respecto a T1. Para los volátiles y fijos (SV, SF), existen diferencias significativas entre todos los tratamientos ($p < 0,05$). El análisis canónico indica que, al evaluar de manera conjunta el perfil de sólidos, existen diferencias entre los tratamientos T2, T3 respecto a T1 (tabla 3).

TABLA 1. Análisis comparativo de los parámetros pH, potencial de oxidorreducción (ORP, mV), saturación de oxígeno (SO), oxígeno disuelto (OD) y temperatura (T°C) del agua durante el establecimiento del biofloc a tres relaciones carbono / nitrógeno

	T1 (10/1)	T2 (15/1)	T3 (20/1)
T (°C)	26,7±0,5 ^c	27,2±0,5 ^b	27,4±0,5 ^a
OD (mg/L)	7,1±0,3 ^a	6,9±0,3 ^b	6,8±0,4 ^b
SO (%)	92,9±3,3 ^a	91,5±4,1 ^{ab}	90,9±5,6 ^b
pH	7,3 - 8,5	7,4 - 8,6	7,2 - 8,6
ORP (mV)	271±30,3 ^a	260,9±27,3 ^{ab}	250,2±24,5 ^b
Determinación de la dimensionalidad			
Dimensionalidad	Proporción	F	Pr>F
Valor propio			
1	0,4194	6,61	<0,0001
2	0,0049	0,21	0,9327
Análisis multivariado de la varianza			
MANOVA	Valor	F	Pr>F
Prueba			
Wilks' Lambda	0,70109019	6,61	<0,0001
Pillai's Trace	0,30035364	6,04	<0,0001
Hotelling-Lawley T	0,42429061	7,19	<0,0001
Roy's Greatest	0,41938003	14,34	<0,0001
Análisis canónico			
Comparación	T1 (10/1) ^a	T2 (15/1) ^a	T3 (20/1) ^b

Datos presentados como media ± desviación estándar.
 Letras distintas indican diferencia significativa (p < 0,05).
 Fuente: elaboración propia.

TABLA 2. Análisis comparativo de los parámetros: Nitrógeno Amoniacal Total (NAT= NH₄⁺ + NH₃); nitrito (NO₂⁻), nitrato (NO₃⁻) y alcalinidad total (AT) del agua durante el establecimiento del biofloc a tres relaciones C/N

	T1 (10/1)	T2 (15/1)	T3 (20/1)
NAT (mg/L)	2,0±1,7	2,5±1,3	2,1±1,7
NO ₂ ⁻ (mg/L)	0,8±0,7 ^{ab}	1,2±1,0 ^a	0,5±0,5 ^b
NO ₃ ⁻ (mg/L)	38,9±34,2 ^a	43,1±38,2 ^a	21,9±22,4 ^b
AT (mg CaCO ₃ /L)	114,1±18,4	114,0±16,2	106,2±18,9
Determinación de la dimensionalidad			
Dimensionalidad	Proporción	F	Pr>F
Valor propio			
1	0,4845	3,88	0,0004
2	0,0395	0,86	0,4682
Análisis multivariado de la varianza			
MANOVA	Valor	F	Pr>F
Prueba			
Wilks' Lambda	0,64802920	3,88	0,0004
Pillai's Trace	0,36438160	3,62	0,0008
Hotelling-Lawley T	0,52398874	4,15	0,0003
Roy's Greatest	0,48445660	7,87	<0,0001
Análisis canónico			
Comparación	T1 (10/1) ^a	T2 (15/1) ^a	T3 (20/1) ^b

Datos presentados como media ± desviación estándar.
 Letras distintas indican diferencia significativa (p < 0,05).
 Fuente: elaboración propia.

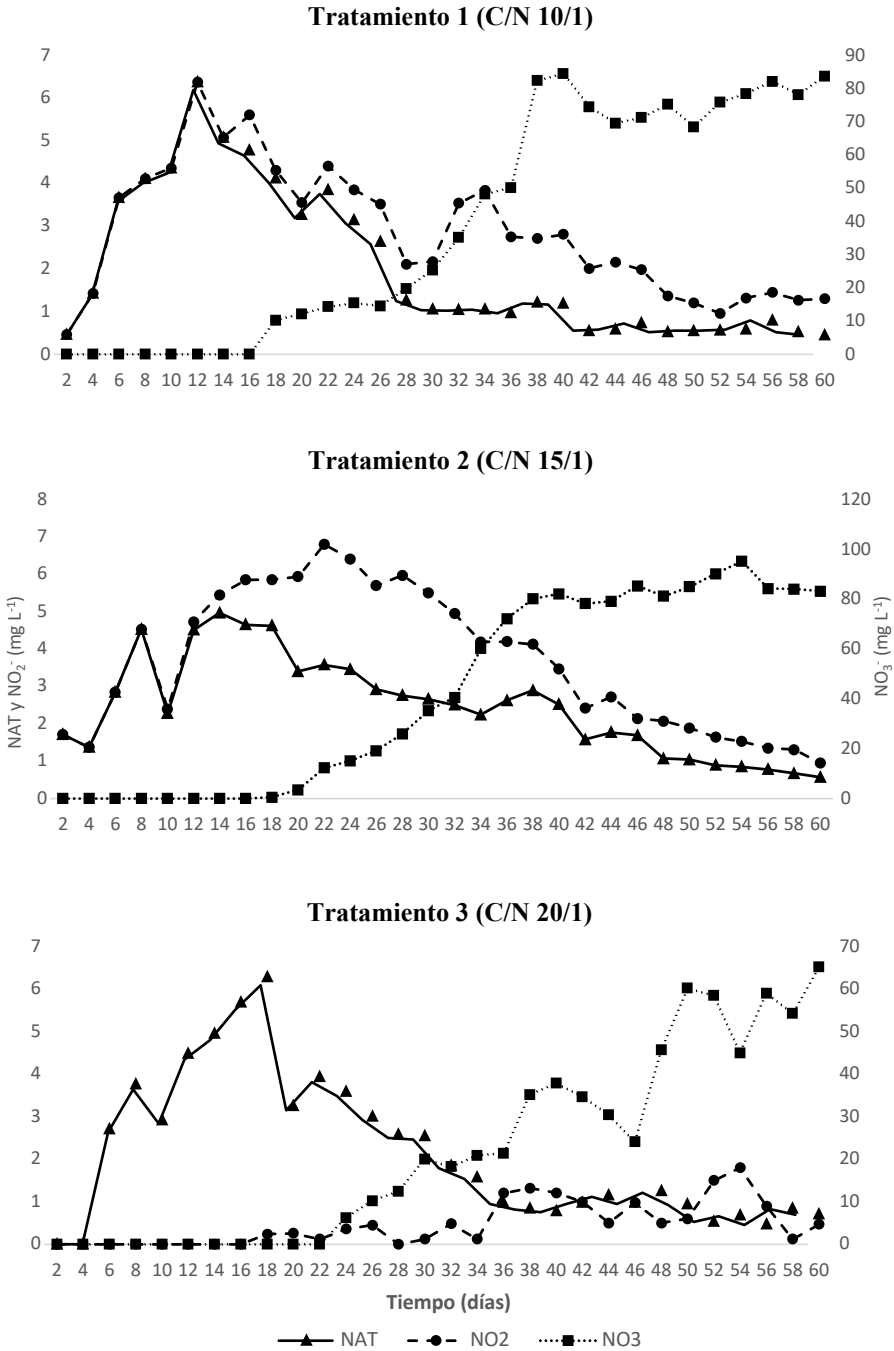


FIGURA 1. Secuencia de procesos de nitrificación en la estabilización del biofloc a tres relaciones C/N. Fuente: elaboración propia.

TABLA 3. Análisis comparativo de sólidos sedimentables (SS), sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV) y sólidos fijos (SF) del agua durante el establecimiento del biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno

	T1 (10:1)	T2 (15:1)	T3 (20:1)
SS (ml/L)	14±8,6	13,0±11,4	15,0±14,0
ST (mg/L)	1876,8±15,9 ^b	2119,2±24,0 ^a	2148,4±44,7 ^a
SV (mg/L)	141,1±5,8 ^c	218,0±14,2 ^b	290,2±43,2 ^a
SF (mg/L)	1735,7±19,6 ^c	1901,1±19,4 ^a	1858,2±4,6 ^b
Dimensionalidad	Determinación de la dimensionalidad		
Valor propio	Proporción	F	Pr>F
1	298,633	23,42	<0,0001
2	29,482	11,79	0,0041
MANOVA	Análisis multivariado de la varianza		
Prueba	Valor	F	Pr>F
Wilks' Lambda	0,00820657	23,42	<0,0001
Pillai's Trace	1,71431750	16,00	<0,0001
Hotelling-Lawley T	32,81143222	36,79	<0,0001
Roy's Greatest	29,86325623	79,64	<0,0001
	Análisis canónico		
Comparación	T1 (10:1) ^b	T2 (15:1) ^a	T3 (20:1) ^a

Datos presentados como media ± desviación estándar. Letras distintas indican diferencia significativa (p<0.05). Fuente: elaboración propia.

Abundancia y riqueza del zooplancton

Durante los últimos 14 días de la estabilización del sistema biofloc a tres diferentes relaciones carbono/nitrógeno, se identificaron 9 grupos de zooplancton, distribuidos en 17 familias, 17 géneros, 22 especies y 2 morfo especies (tabla 4). La mayor riqueza se observó en la relación 15/1 (T1).

En la figura 2, se presenta la abundancia de los organismos del zooplancton en los tres tratamientos registrada durante los últimos 14 días de la estabilización del biofloc, y en la figura 3 y 4 se presenta la abundancia por organismos del zooplancton por especie durante el periodo evaluado (14 días).

DISCUSIÓN

Los reportes de investigaciones en biofloc presentan en su mayoría las restricciones de los experimentos como: relaciones C/N, niveles de proteína del alimento, fuentes de carbono orgánico e inorgánico, rangos de parámetros de calidad de agua etc., (Bakhshi *et al.* 2018; Brú-Cordero *et al.* 2017; Crab *et al.* 2010; Ekasari *et al.* 2014; Ekasari *et al.* 2015; Fauji *et al.* 2018; García-Ríos *et al.* 2019; Poli *et al.* 2015; Li *et al.* 2018), al igual que las fórmulas / ecuaciones donde describen de manera teórica los cálculos para las adiciones, regulaciones o correcciones del sistema (Ekasari *et al.* 2015; Ekasari *et al.* 2016; Hernández *et al.* 2017; Zapata *et al.* 2017), siendo los planteamientos

TABLA 4. Registro taxonómico del zooplancton (grupos, familias, géneros y especies) registrado en la estabilización de biofloc a tres relaciones C/N

Grupos	Familias	Géneros	Especie	T1	T2	T3
Cladóceros	Macrothricidae	<i>Macrothrix</i>	<i>Macrothrix aff. triserialis.</i>	X	X	X
	Daphniidae	<i>Daphnia</i>	<i>Daphnia sp.</i>	X	X	X
	Adinectidae	<i>Adinecta</i>	<i>Adinecta morfo 1.</i>	X	X	X
<i>Adinecta morfo 2.</i>			X	X	X	
Rotífera	Lecanidae	<i>Lecane</i>	<i>Lecane aff. bulla.</i>	X	X	X
			<i>Lecane aff. lunaris.</i>	X	X	X
			<i>Lecane aff. mira.</i>	X	X	X
			<i>Lecane aff. obtusa.</i>	X	X	--
			<i>Lecane aff. pyriformis</i>	X	--	X
	Colurellidae	<i>Lepadella</i>	<i>Lepadella sp.</i>	X	X	X
			<i>Squatinella</i>	<i>Squatinella sp.</i>	X	X
	Epiphanidae	<i>Epiphanes</i>	<i>Epiphanes sp.</i>	X	X	X
	Proalidae	<i>Proales</i>	<i>Proales sp.</i>	X	X	--
	Habrotrochidae	<i>Habrotrocha</i>	<i>Habrotrocha sp.</i>	--	X	X
	Ostrácodo	Lynceidae		<i>Lynceidae.</i>	X	X
Rizópodos (Tecamebas)	Arcellidae	<i>Arcella</i>	<i>Arcella sp.</i>	X	X	X
Rizópodos (Amebas)	Centropyxidae	<i>Centropyxis</i>	<i>Centropyxis sp.</i>	X	X	X
	Euglyphidae	<i>Euglypha</i>	<i>Euglypha</i> .	X	X	X
Ciliados	Amoebidae	<i>Amoeba</i>	<i>Amoeba sp.</i>	X	X	X
Anélidos	Euplotidae	<i>Euplotes</i>	<i>Euplotes sp.</i>	X	X	X
Nematodo	Aeolosomatidae	<i>Aeolosoma</i>	<i>Aeolosoma sp.</i>	X	X	X
Ácaros	Euglyphidae	<i>Monhystera</i>	<i>Monhystera.</i>	X	X	X
	Argulidae	<i>Argulus</i>	<i>Argulus sp.</i>	--	X	X

Fuente: elaboración propia.

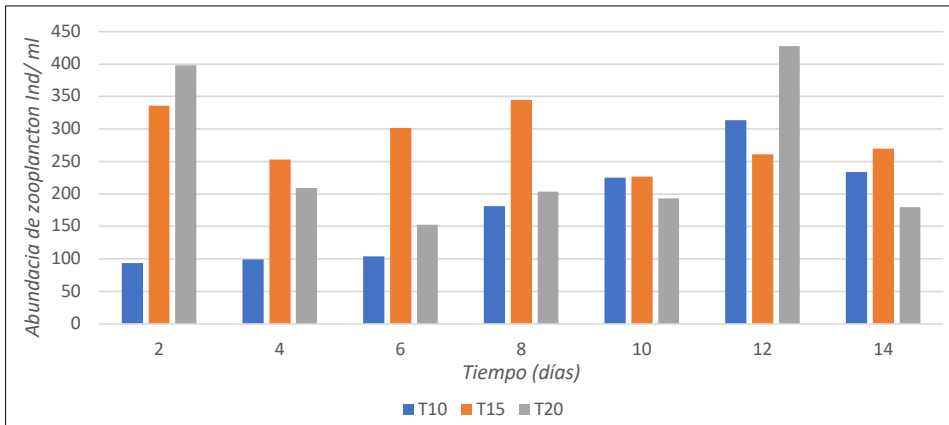


FIGURA 2. Abundancia de microorganismos del zooplancton (individuos/ml) en biofloc a tres diferentes relaciones C/N durante los últimos 14 días de estabilización.

Fuente: elaboración propia.

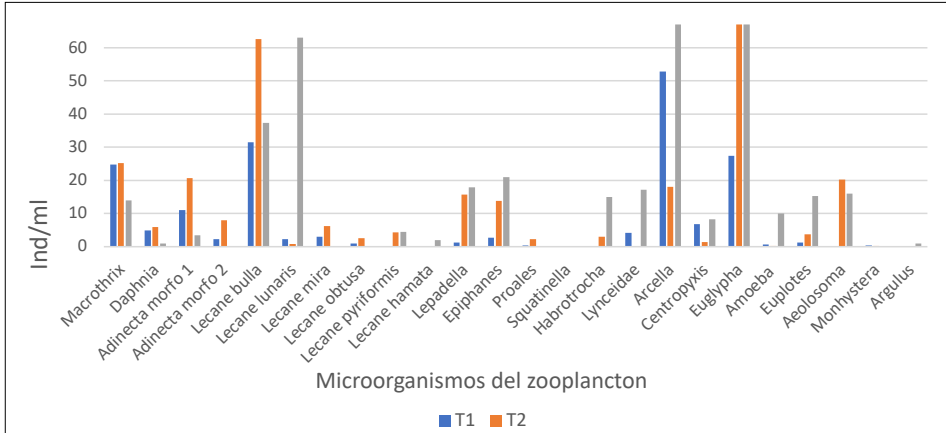


FIGURA 3. Abundancia de microorganismos del zooplancton por especie (ind/ml) en biofloc a tres diferentes relaciones C/N durante los últimos 14 días de estabilización.

Fuente: elaboración propia.

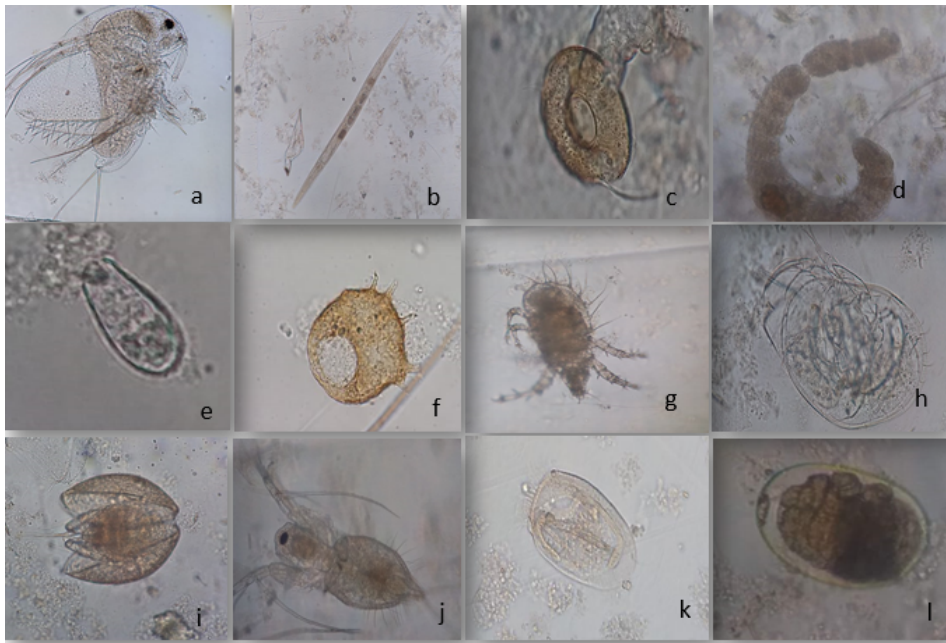


FIGURA 4. Cladóceros, nematodos, anélidos, ciliados, rizópodos (amebas), ácaros observados en el cultivo de biofloc a tres relaciones C/N, a. *Macrothrix*, b. *Monhystera*, c. *Arcella*, d. *Aeolosoma*, e. *Euglypha*, f. *Centropyxis*, g. *Argulus*, h. *Lynceidae morfo 1i*, *Lynceidae* j. *Daphnia*, k. *Euplotes*, l. *Amoeba*.

Fuente: elaboración propia.

de mayor relevancia y citación los reportados por De Schryver *et al.* (2008), Avnimelech (2009) y Timmons *et al.* (2002).

No obstante lo anterior, son pocas las publicaciones que describen con detalle las actividades, procedimientos y consideraciones para el establecimiento del biofloc en general y para larvicultura en particular (Gomes Vilani *et al.* 2016; Hargreaves 2013). A continuación se presenta la discusión de los resultados obtenidos en los experimentos de estabilización del biofloc sustentados en la calidad del agua y la producción de alimento vivo (zooplankton).

De la calidad del agua

Las mediciones y los resultados de la calidad del agua durante los experimentos evidencian el efecto *buffer* en la estabilidad del pH del agua para los tres tratamientos (sin diferencia significativa), manteniéndose en valores medios cercanos a 8, atribuibles a la adición de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) con el que se reguló la AT, estos aportes de sales de materiales básicos como el Na^+ en conjunto con aniones como el HCO_3^- generan ese efecto en la neutralización de ácidos (H^+) y/o bases (OH^-) (Manrique y Peláez 2013; Kubitzka 2017). De esta manera, los valores de la AT estuvieron entre 87,3 – 132,5 mg CaCO_3/L , sin diferencia entre tratamientos; estos valores de pH y AT están dentro de los rangos reportados para el cultivo de larvas y alevinos de peces en biofloc (Ekasari *et al.* 2015; Ekasari *et al.* 2016; Emerenciano *et al.* 2017; García-Ríos *et al.* 2019; Poli *et al.* 2015; Li *et al.* 2018; Zapata *et al.* 2017).

La saturación de oxígeno fue diferente entre los tratamientos 1 y 2, en tanto que el oxígeno disuelto presentó diferencia entre los tres tratamientos, la cual fue a

la vez inversa a la relación C/N, cuanto menor la relación, mayor fue el oxígeno disuelto (mg/L). Este comportamiento puede ser explicado por la mayor cantidad de melaza que se adicionó a los tratamientos (macrocosmos) con mayores relaciones C/N ($T2 = 15/1$ y $T3 = 20/1$), contrario al $T1$, al cual no se adicionó melaza (alimento con 32% de PB \approx C/N $\rightarrow 10/1$), por consiguiente es posible generar dominancia en los procesos de inmovilización de nitrógeno y nitrificación al variar el nivel de adición de carbohidratos, pudiéndose controlar la relación entre estas dos variables (Avnimelech 2015), así también la mayor adición de melaza en el $T2$ y $T3$ generó procesos heterótrofos con mayor consumo de oxígeno y mayor generación de sólidos, teniendo en cuenta el balance estequiométrico presentado por Ebeling *et al.* (2006), con todo, el oxígeno se mantuvo en rangos confortables para el establecimiento del biofloc, teniendo en cuenta lo definido por Avnimelech (2009).

La disponibilidad de C (orgánico e inorgánico), bajo condiciones de saturación de oxígeno, alcalinidades mayores a 87,3 mg $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, temperaturas mayores a 26.02 °C registradas para los tres tratamientos, sumada a la continua adición de alimento con 32% de PB, dio condiciones para el establecimiento relativamente rápido de microorganismos quimioautótrofos, los cuales obtienen su energía a partir de la oxidación de compuestos inorgánicos como el amonio, el cual sufre la oxidación biológica a NO_2^- y posteriormente a NO_3^- mediante el proceso de nitrificación (Jiménez-Ojeda *et al.* 2018).

Para todos los casos, el incremento del NAT se presentó a partir del segundo día, esto puede ser atribuido a las condiciones propias del inóculo empleado para el arranque de los tanques, los valores máximos de

TAN para el T1 y T2 en el día 14 (5,1 y 4,97 mg/L, respectivamente) y para el T3 de 6,28 mg/L a los 18 días, coincidiendo con lo expuesto por Ray y Lotz (2014), los máximos niveles en un sistema heterotrófico se presentaron a los 28 días con un nivel de proteína del 35%, para relaciones 10 y 15/1 las máximas concentraciones de NAT se dan en menores tiempo que en procesos heterótrofos, acorde con lo reportado por Zapata *et al.* (2017) y Martins *et al.* (2017), presentando curvas descendentes hasta llegar a rangos no letales del amonio no ionizado (NH_3) siendo este dependiente del pH y la temperatura (Emerson *et al.* 1975); estos comportamientos del NAT durante el establecimiento del biofloc están reportados por Avnimelech (2015), por lo cual se requiere de 30 a 40 días para llegar a niveles no tóxicos para especies de peces (Jiménez-Ojeda *et al.* 2018), datos similares a los encontrados en el presente experimento y en rangos no letales para especies del género *Piaractus* (Barbieri y Vigliar Bondioli 2015).

Consecuentemente con las condiciones de calidad de agua y la disponibilidad de carbono (orgánico e inorgánico), se evidencian los procesos de nitrificación cuando aparecen y aumentan las concentraciones de NO_2^- con picos para el T1 desde el día 12 y para T2 desde el día 22, los que fueron más rápidos a los establecidos por Zapata *et al.* (2017) en relaciones C/N similares que fueron entre 28 y 32 días para relaciones similares; el T3 nunca presentó concentraciones por encima de 1,8 mg/L durante los 60 días en los que se vigiló el inicio del biofloc, siendo que Azim *et al.* (2008) reportan un incremento de NO_2^- con valores cercanos a 1,5 mg/L para el día 21, similar a los datos reportados para el presente estudio. Las menores concentraciones de NO_2^- en

T3, como se ha dicho, pudieron deberse a la mayor adición de carbono orgánico que se realizó en este tratamiento, las cuales dieron origen a condiciones heterotróficas más pronunciadas, lo que se hace evidente cuando en T3 las concentraciones de NAT se sitúan por debajo de 1 mg/L a partir del día 36.

La concentración de NO_3^- para los 3 macrocosmos durante los 60 días iniciales de establecimiento de los bioflocs presentaron diferencias significativas entre el T3 y T1 y T2, siendo inversa a la relación C/N, lo cual puede ser atribuido al mayor aporte de carbono orgánico que requieren las mayores relaciones y su dependencia con el nivel de proteína del alimento suministrado, como lo plantean Azim *et al.* (2008) al encontrar diferencias en la concentración de nitratos cuando varía el nivel de proteína.

Por otra parte, autores como De Schryver *et al.* (2008), Hargreaves (2013), Ray y Lotz (2014) y Avnimelech (2015) plantean el favorecimiento a microorganismos heterótrofos en el biofloc mediante relaciones C/N 20:1, pues logran remover el NAT con la adición de carbohidratos, siendo esta una ruta rápida, tratando de restringir en alguna medida la formación y acumulación de NO_2^- y NO_3^- (Avnimelech 2015); no obstante, para las tres relaciones C:N se presentaron procesos de nitrificación como una de las principales vías del ciclo del nitrógeno (Stein y Klotz 2016) en los sistemas de cultivo con biofloc (Avnimelech 2015) y concentraciones de NAT y NO_2^- inferiores a 1 mg/L y NO_3^- superiores a 60 mg/L al día 60, dando condiciones de establecimiento a comunidades bacterianas asociadas con la remoción de los compuestos nitrogenados generados continuamente por la adición de alimento diario.

Del perfil de sólidos y conformación del zooplancton

No se encontró diferencia en los SS entre tratamientos, estando al final del experimento en valores medios cercanos a los 14 mg/L, estando en el rango de concentraciones recomendado para alevinaje de tilapia (5 – 20 mg/L) medidos en conos imhoff, sugiriendo que mayores concentraciones pueden consumir más oxígeno por las comunidades heterotróficas y oclusión en las branquias de los peces (Emerenciano *et al.* 2017).

Para los sólidos volátiles, entendidos como la carga orgánica de los sólidos totales (Boyd 2015), se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, siendo la mayor concentración para T3 ($290,2 \pm 43,2$ mg/L) > que T2 ($218,0 \pm 14,2$ mg/L) y > que T1 ($141,1 \pm 5,8$ mg/L), el mayor valor de T3 ocurrió similar a lo reportado por Azim *et al.* (2008), quienes obtuvieron valores cercanos a los 300 mg/L de SSV, que, como se ha propuesto, puede atribuirse a la mayor adición de melaza de tal tratamiento utilizada para mantener la relación teórica de C/N en 20/1, lo que removió el N a partir de favorecer una dominancia de comunidades heterotróficas con la consecuente producción de SSV, como lo plantean Ebeling *et al.* (2006). Todo lo anterior, la fuente de carbono y cantidad adicionada, se puede considerar que afectó la composición orgánica del biofloc reflejada en los sólidos volátiles registrados, lo cual cambia la biodisponibilidad de nutrientes y sus relaciones, que a su vez afecta la conformación de la microfauna, como lo plantean Crab *et al.* (2012).

Hernández *et al.* (2017) consideran fundamental la transferencia de materia y energía desde la red trófica a niveles superiores, en este sentido, bajo las condiciones de inicio y establecimiento, regulación y

mantenimiento de la calidad del agua y perfiles de sólidos del biofloc reportados para este trabajo, los tres tratamientos (macrocosmos) a diferentes relaciones C/N presentaron organismos del zooplancton, como lo reportan diferentes autores (Ray *et al.* 2010; Monroy–Dosta *et al.* 2013; Hernández *et al.* 2017; Ayazo–Genes *et al.* 2019).

Se resalta que la conformación del zooplancton es fundamental para el cultivo de larvas de peces nativos al inicio de la alimentación exógena (Atencio 2001; David–Ruales *et al.* 2018) como la cachama blanca por su tendencia alimenticia de zooplancton durante etapas tempranas (Machado–Allison 1992).

El tratamiento que presentó mayor abundancia del zooplancton fue el T2. No obstante, los rotíferos fueron los grupos de mayor abundancia en todos los tratamientos, con los géneros *Lecane*, similar a lo reportado en la caracterización del plancton en biofloc por Ayazo–Genes *et al.* (2019), Betancur González *et al.* (2016) y Castro–Mejía *et al.* (2017).

Se destaca la presencia de otros organismos como las *Macrothrix* y *Daphnia* para los tratamientos T1 y T2, de importancia en la larvicultura de peces, en concordancia con organismos como Cladóceros y Copépodos reportados por Ayazo–Genes *et al.* (2019).

CONCLUSIÓN

Bajo las condiciones expuestas, la estabilización del biofloc en las tres relaciones de C/N evaluadas se mostraron adecuadas en términos de la calidad de agua y producción de alimento vivo, siendo que la relación C/N = 15/1 presentó las mayores riqueza y abundancia de microorganismos del zooplancton.

CONFLICTO DE INTERESES

El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

FUENTES DE FINANCIACIÓN

Este trabajo fue financiado con recursos de la Universidad de los Llanos en el marco del proyecto de investigación “Experimentos de piscicultura de tres especies de peces ornamentales en sistema intensivo con tecnología biofloc, a partir de larvas” (código del proyecto C09-F01-009-2019).

AGRADECIMIENTOS

Una eterna gratitud a nuestra amiga y compañera Yaqueline Jiménez Moreno (Q.E.P.D.) por todo lo que nos ha enseñado. Gracias a su dedicación durante largas horas en el microscopio se obtuvieron los resultados, razón por la cual le dedicamos este trabajo.

Los autores expresan su agradecimiento a la dirección general de investigaciones (DGI) de la Universidad de los Llanos por la financiación del proyecto.

REFERENCIAS

Aboal M, Alvares-Troncoso R, Corrochano-Cordón A. 2012. ID-impuesto. Catálogo y claves de identificación de organismos fitoplanctónicos como elementos de calidad en las redes de control del estado ecológico. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente: Madrid, España.

Arcos-Pulido MDP, Gómez Prieto AC. 2006. Microalgas perifíticas como indicadoras del estado de las aguas de un humedal urbano: Jaboque, Bogotá DC, Colombia. *Nova*. 5(6):60-79.

APHA. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20th edition. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environmental Federation, Washington DC.

APHA. 2017. Standard methods for the examination of water and wastewater. 23rd Edition, American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Denver.

Atencio GV. 2001. Producción de alevinos de especies nativas. *Revista MVZ Córdoba*. 6(1): 9-14. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1060>

Avnimelech Y. 2007. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds. *Aquaculture*. 264(1-4): 140-147. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.11.025>

Avnimelech Y. 2009. Biofloc Technology – A practical guide book. Baton Rouge, Louisiana, USA: World Aquaculture Society.

Avnimelech Y. 2015. Biofloc technology: a practical guide book. 3rd edition. Baton Rouge, Louisiana, USA: World Aquaculture Society.

Ayazo-Genes J, Pertuz-Buelvas V, Jiménez-Velásquez C, Espinosa-Araujo J, Atencio-García V, Prieto-Guevara M. 2019. Comunidades planctónicas y bacterianas asociadas al cultivo de bocachico *Prochilodus magdalenae* con tecnología biofloc. *Rev MVZ Córdoba*. 24(2): 7209-7217. <https://doi: 10.21897/rmvz.1648>

Azim ME, Little DC, Bron JE. 2008. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C:N ratio in feed and the implications for fish culture. *Bioresour Technol*. 99(9):3590-3599. <https://doi: 10.1016/j.biortech.2007.07.063>

Bakar NSA, Nasir NM, Lananan F, Hamid SHA, Lam SS, Jusoh A. 2015. Optimization of C/N ratios for nutrient removal in aquaculture system culturing African catfish, (*Clarias gariepinus*) utilizing Bioflocs Technology. *Int Biodeterior Biodegradation*. 102:100-106. <https://doi: 10.1016/j.ibiod.2015.04.001>

Bakhshi F, Najdegerami EH, Manaffar R, Tukmechi A, Farah KR. 2018. Use of different carbon sources for the biofloc system during the grow-out culture of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. *Aquaculture*. 484:259-267. <https://doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.11.036>

- Barbieri E, Vigliar Bondioli AC. 2015. Acute toxicity of ammonia in Pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) at different temperatures levels. *Aquac Res.* 46(3):565-571. <https://doi.org/10.1111/are.12203>
- Betancur González EM, David Ruales CA, Gutiérrez LA. 2016. Diversidad del perifiton presente en un sistema de producción de tilapia en biofloc. *Rev Lasallista Investig.* 13(2): 163-177. <https://doi: 10.22507/rli.v13n2a15>
- Boyd CE. 2015. Water quality: an introduction. Springer Publisher. 330 p. <https://doi: 10.1007/978-3-319-17446-4>
- Brú-Cordero SB, Pertuz-Buelvas V, Ayazo-Genes J, Atencio-García VJ, Pardo-Carrasco S. 2017. Bicultivo de cachama blanca *Piaractus brachyomus* y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* en biofloc alimentadas con dietas de origen vegetal. *Rev Med Vet Zoot.* 64(1):44-60. <https://doi: 10.15446/rfmvz.v64n1.65824>
- Castro-Mejía G, De Lara AR, Monroy-Dosta MC, Maya-Gutiérrez S, Castro-Mejía J, Jiménez-Pacheco F. 2017. Presencia y abundancia de fitoplancton y zooplancton en un sistema de producción de Biofloc utilizando dos aportes de carbono: 1) Melaza y 2) Melaza + pulido de arroz cultivando al pez *Oreochromis niloticus*. *Revista Digital del Departamento El Hombre y su Ambiente.* 1(13):33-42.
- Collazos-Lasso LF, Arias-Castellanos JA. 2015. Fundamentos de la tecnología biofloc (BFT). Una alternativa para la piscicultura en Colombia. Una revisión. *Orinoquia.* 19(1):77-86. <https://doi: 10.22579/20112629.341>
- Crab R, Chielens B, Wille M, Bossier P, Verstraete W. 2010. The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for *Macrobrachium rosenbergii* post-larvae. *Aquac Res.* 41:559-567. <https://doi: 10.1111/j.1365-2109.2009.02353.x>
- Crab R, Defoirdt T, Bossier P, Verstraete W. 2012. Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture.* 356-357:351-356. <https://doi: 10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>
- David-Ruales C, Machado-Fracalossi D, Vásquez-Torres W. 2018. Desarrollo temprano en larvas de peces. clave para el inicio de la alimentación exógena. *Rev Lasallista Investig.* 15(1):180-194. <https://doi: 10.22507/rli.v15n1a10>
- De Schryver P, Crab R, Defoirdt T, Boon N, Verstraete W. 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *Aquaculture.* 277(3-4):125-137. <https://doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.02.019>
- Ebeling JM, Timmons MB, Bisogni JJ. 2006. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture.* 257(1-4):346-358. <https://doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.03.019>
- Ekasari J, Hanif Azhar M, Surawidjaja EH, Nuryati S, De Schryver P, Bossier P. 2014. Immune response and disease resistance of shrimp fed biofloc grown on different carbon sources. *Fish Shellfish Immunol.* 41(2):332-339. <https://doi: 10.1016/j.fsi.2014.09.004>
- Ekasari J, Rivandi DR, Firdausi AP, Surawidjaja EH, Zairin M, Bossier P, De Schryver P. 2015. Biofloc technology positively affects Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae performance. *Aquaculture.* 441:72-77. <https://doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.02.019>
- Ekasari J, Suprayudi MA, Wiyoto W, Hazanah RF, Lenggara GS, Sulistiani R, Zairin M. 2016. Biofloc technology application in African catfish fingerling production: The effects on the reproductive performance of broodstock and the quality of eggs and larvae. *Aquaculture.* 464:349-356. <https://doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.07.013>
- Elmoor-Loureiro LMA. 1997. Manual de identificação de cladóceros límnicos do Brasil. Proyecto: Biodiversidade de Cladóceros no Brasil. Editorial: Editora Universa – UCB. 156 p.
- Emerenciano MGC, Martínez-Córdova LR, Martínez-Porchas M, Miranda-Baeza A. 2017. Biofloc technology (BFT): A tool for water Quality management in aquaculture. In: Tutu H. (Ed.), *Water Quality*. InTechOpen, London, UK, pp. 91-109. <https://doi: 10.5772/66416>
- Emerson K, Russo RC, Lund RE, Thurston RV. 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations: effect of pH and temperature. *J Fish Res Board Can.* 32:2379-2383. <https://doi: 10.1139/f75-274>

- Fauji H, Budiardi T, Ekasari J. 2018. Growth performance and robustness of African Catfish *Clarias gariepinus* (Burchell) in biofloc-based nursery production with different stocking densities. *Aquac Res.* 49(3):1339-1346. <https://doi.org/10.1111/are.13595>
- Fontaneto D, De Smet WH. 2014. Manual de Zoología, Gastrotricha, Cícloneuralia y Gnathífera. Vol 3, Gastrotricha y Gnathífera Cap: Rotífera, pp. 217-300.
- García-Ríos L, Miranda-Baeza A, Coelho-Emerenciano MG, Huerta-Rábago JA, Osuna-Amarillas P. 2019. Biofloc technology (BFT) applied to tilapia fingerlings production using different carbon sources: Emphasis on commercial applications. *Aquaculture.* 502:26-31. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.05>
- Glime JM. 2017. Invertebrates: Rotifer Taxa – Monogononta. Chap. 4-7a. In: Glime JM (Ed.), *Bryophyte Ecology*. Vol 2: 4-7a-1 Bryological Interaction. Ebook sponsored by Michigan Technological University and the International Association of Bryologists. Disponible en: <http://digitalcommons.mtu.edu/bryophyte-ecology2/>
- Gomes Vilani F, Schweitzer R, da Fonseca Arantes R, do Nascimento Vieira F, Manoel do Espírito Santo C, Quadros Seiffert W. 2016. Strategies for water preparation in a biofloc system: Effects of carbon source and fertilization dose on water quality and shrimp performance. *Aquac Eng.* 74:70-75. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2016.06.002>
- Hargreaves JA. 2013. Biofloc production systems for aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC). Publication No. 4503. 12 p.
- Hernández ER, Rodríguez MA, Ruíz MO, Monroy DMC. 2017. Ecological succession of plankton in a biofloc system with molasses as carbon source. *Sci J Biol Sci.* 6(7):222-228. <https://doi.org/10.14196/sjbs.v6i7.2456>
- Jiménez-Ojeda YK, Collazos-Lasso LF, Arias-Castellanos JA. 2018. Dynamics and use of nitrogen in Biofloc Technology – BFT. *AACL Bioflux.* 11(4):1107-1129.
- Korovchinsky NM. 1992. Sididae and holopeidiidae: (Crustacea: Daphniiformes). In: Bayly IAE. (Ed.), *Guides to the identification of the macroinvertebrates of the continental waters of the world*. SPB Academic Pub., Hague, Netherlands. 82 p.
- Kubitza F. 2017. A relação entre pH, gás carbônico, alcalinidade e dureza sua influência no desempenho e saúde dos peixes e camarões. *Rev Panorama de AQUICULTURA*. Disponible en: <https://panoramadaaquicultura.com.br/a-agua-na-aquicultura-parte-2/>
- Li J, Liu G, Li C, Deng Y, Tadda MA, Lan L, Liu D. 2018. Effects of different solid carbon sources on water quality, biofloc quality and gut microbiota of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) larvae. *Aquaculture.* 495:919-931. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.078>
- Lima PCM. 2017. Efeito da adição de *Chlorella Vulgaris* e melão na qualidade da água e crescimento de alevinos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistemas de bioflocs com baixa salinidade. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 62 p.
- Machado-Allison A. 1992. Larval Ecology of Fish of the Orinoco Basin. W. C. Hamlett (ed.). *Reproductive Biology of South American Vertebrates*. Springer-Verlag New York. Inc. pp. 45-48.
- Manrique L, Peláez M. 2013. Manual de análisis de calidad de aguas en ecosistemas acuáticos andino-amazónicos: análisis físicos y químicos. Vicerrectoría de investigaciones, Universidad de la Amazonia, Florencia, Colombia. 179 p.
- Martins GB, Tarouco F, Rosa CE, Robaldo RB. 2017. The utilization of sodium bicarbonate, calcium carbonate or hydroxide in biofloc system: water quality, growth performance and oxidative stress of Nile tilapia (*O. niloticus*). *Aquaculture.* 468:10-17. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.046>
- Martins MA, Poli MA, Legarda EC, Pinheiro IC, Carneiro RFS, Pereira SA, do Nascimento Vieira F. 2020. Heterotrophic and mature biofloc systems in the integrated culture of Pacific white shrimp and Nile tilapia. *Aquaculture.* pp. 734517. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734517>

- Miranda-Baeza A, Nolasco-López M, Rivas-Vega ME, Huerta-Rábago KJA, Martínez-Córdova LR, Martínez-Porchas M. 2019. Short-term effect of the inoculation of probiotics in mature bioflocs: Water quality parameters and abundance of heterotrophic and ammonia-oxidizing bacteria. *Aquac Res.* 51(2):255-264. [https://doi: 10.1111/are.14371](https://doi.org/10.1111/are.14371)
- Monroy-Dosta MC, De Lara-Andrade R, Castro-Mejía J, Castro-Mejía G, Coelho-Emerenciano MG. 2013. Composición y abundancia de comunidades microbianas asociadas al biofloc en un cultivo de tilapia. *Rev Biol Mar Oceanogr.* 48(3):511-520. [https://doi: 10.4067/S0718-19572013000300009](https://doi.org/10.4067/S0718-19572013000300009)
- Moreno JR, Medina CD, Albarracín VH. 2012. Aspectos ecológicos y metodológicos del muestreo, identificación y cuantificación de cianobacterias y microalgas eucariotas. *Reduca (Biología).* 5(5):110-125.
- Poli MA, Schweitzer R, De Oliveira Nuñez AP. 2015. The use of biofloc technology in a South American catfish (*Rhamdia quelen*) hatchery: Effect of suspended solids in the performance of larvae. *Aquac Eng.* 66:17-21. [https://doi: 10.1016/j.aquaeng.2015.01.004](https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2015.01.004)
- Ray AJ, Seaborn G, Leffler JW, Wilde SB, Lawson A, Browdy CL. 2010. Characterization of microbial communities in minimal-exchange, intensive aquaculture systems and the effects of suspended solids management. *Aquaculture.* 310(1-2):130-138. [https://doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.10.019](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.10.019)
- Ray AJ, Lotz JM. 2014. Comparing a chemoautotrophic-based biofloc system and three heterotrophic-based systems receiving different carbohydrate sources. *Aquac Eng.* 63:54-61. [https://doi: 10.1016/j.aquaeng.2014.10.001](https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2014.10.001)
- Rieradevall SM. 1987. Atlas de los Microorganismos de Agua dulce. La vida es una gota de agua dulce. Barcelona: Ediciones Omega, S.A. pp. 275-291.
- Rogers DC, Thorp JH (Eds.). 2019. Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates. Vol 3: Keys to Palaearctic Fauna. Amsterdam, USA. Elsevier.
- Stein LY, Klotz MG. 2016. The nitrogen cycle. *Curr Biol.* 26(3):R94-R98. [https://doi: 10.1016/j.cub.2015.12.021](https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.12.021)
- Timmons MB, Ebeling JM, Wheaton FW, Summerfelt ST, Vinci BJ. 2002. Recirculating aquaculture systems. 2nd ed. New York: Cayuga Aqua Venture. 769 p.
- Xu WJ, Morris TC, Samocha TM. 2016. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system. *Aquaculture.* 453:169-175. [https://doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.11.021](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.021)
- Zapata LK, Brito LO, Maciel De Lima PC, Vina-tea ALA, Galvez AO, Cárdenas VJM. 2017. Cultivo de alevines de tilapia en sistema biofloc bajo diferentes relaciones carbono/nitrógeno. *Bol Inst Pesca.* 43(3):399-407. [https://doi: 10.20950/1678-2305.2017v43n3p399](https://doi.org/10.20950/1678-2305.2017v43n3p399)

Forma de citación del artículo:

Collazos-Lasso LF, Ueno-Fukura M, Jiménez-Moreno Y (Q.E.P.D.), Suárez-Contento L, Aya-Baquero E. 2022. Establecimiento de biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno, tendiente a la producción de zooplancton. *Rev Med Vet Zoot.* 69(3):281-298. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n3.99968>

Apropiación de los elementos de innovación social en organizaciones comunitarias agropecuarias del departamento de Boyacá, Colombia

C. A. Vega-Pérez ¹ , L. S. Camargo-Castillo ² 

Recibido: 25/10/2021. Aprobado: 18/04/2022

RESUMEN

Con el objetivo de establecer criterios mínimos relativos a la innovación social en organizaciones comunitarias agropecuarias, se hizo uso de herramientas propias de la investigación cualitativa que incluyeron búsquedas especializadas y uso de programas para análisis de datos bibliográficos (por ejemplo VOSviewer™) para determinar los elementos relativos a la gestión, gobernanza, capacidades, modelo de negocio sostenibilidad para ocho (8) organizaciones comunitarias de productores agropecuarios de la provincia del Sugamuxi, en el departamento de Boyacá, Colombia.

Se pudo establecer que algunas organizaciones de productores agropecuarios que ejercen actividades en el departamento de Boyacá no están apropiando de forma integral los elementos de innovación social (en niveles operativos y gerenciales) y, consecuentemente, existe toda una ruta de mejoramiento por desarrollar con estas para optimizar los índices de eficiencia organizacional; además, se evidencia la complejidad de la temática, dado que la sostenibilidad de las innovaciones sociales dependerá en gran medida de la gestión de las organizaciones, donde se establezcan agendas institucionales compartidas contextualizadas y ajustadas a los territorios. Es necesario optimizar los canales de participación de manera mancomunada entre el Estado, las organizaciones y los mismos productores para poder dinamizar procesos, metas y alcances reales de la innovación social a la luz de los acelerados cambios a los que se enfrenta el productor agropecuario agremiado en Colombia, relativos estos a la dinámica del mercado, el acceso a recursos y otros.

Palabras clave: sostenibilidad empresarial, análisis cualitativo, territorio, redes, producción.

Appropriation of the elements of social innovation in community agricultural organizations of the department of Boyaca, Colombia

ABSTRACT

In order to establish minimum criteria related to social innovation in agricultural community organizations, qualitative research tools were used, including specialized searches and the use of programs for the analysis of bibliographic data (for example VOSviewer™),

¹ Grupo de investigación GIGASS, Escuela de Administración de Empresas Agropecuarias, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Carrera 22 Calle 20 Duitama, Boyacá, Colombia. Correo electrónico: carlos.vega@uptc.edu.co

² Grupo de investigación GIGASS, Escuela de Posgrados, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Calle 4 A Sur N.º 15-134, Sogamoso, Colombia. Correo electrónico: leonardo.camargo01@uptc.edu.co

with the purpose of defining the elements related to management, governance, capacities, business model and sustainability for eight (8) community organizations of agricultural producers in the province of Sugamuxi, in the department of Boyacá, Colombia. It was possible to establish that some organizations of agricultural producers that carry out activities in the department of Boyacá are not integrally appropriating the elements of social innovation (at operational and managerial levels) and, consequently, there is a whole route of improvement to be developed with them to optimize the organizational efficiency indexes; in addition, the complexity of the subject is evident, given that the sustainability of social innovations will depend largely on the management of the organizations, where shared institutional agendas contextualized and adjusted to the territories are established. It is necessary to optimize the channels of participation in a joint manner between the State, the organizations, and the producers themselves to be able to dynamize processes, goals and the real scope of social innovation in light of the accelerated changes faced by the agribusiness producer in Colombia, related to market dynamics, access to resources and others.

Keywords: corporate sustainability, qualitative analysis, territory, networks, production.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de los territorios está directamente relacionado con el trabajo colaborativo entre sus actores, por lo que el éxito o fracaso de estos procesos de gestión conjunta enfrenta diferentes problemáticas sociales (González 2009). La gestión de las organizaciones sociales implica realizar acciones interdisciplinarias que aporten a la mitigación de dichas problemáticas, que en su mayoría responden a percepciones y aspiraciones particulares y no al trabajo asociado y/o comunitario (Cajaiba-Santana 2014). La innovación social es hoy un tema relevante para el mundo y está presente en los planes de los gobiernos y las empresas, ambos sectores buscan soluciones novedosas gestionadas desde la base como garantía de sostenibilidad (Duque *et al.* 2016). El objetivo general de esta investigación fue establecer los elementos mínimos relativos a la apropiación de los elementos de innovación social en organizaciones comunitarias agropecuarias del departamento de Boyacá, provincia del Sugamuxi.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño metodológico

Con el propósito de identificar desde los conceptos los elementos de innovación social presentes en organizaciones comunitarias, se realizó revisión sistemática de literatura con base en la metodología propuesta por Tranfield *et al.*, esto como herramienta científica para la selección, el ordenamiento y análisis crítico de los documentos en tres fases: planeación, desarrollo y análisis de resultados (Tranfield *et al.* 2003b). Los resultados de la revisión permitieron establecer la fundamentación teórica y profundizar en la innovación social desde una visión organizacional, centrada en analizar cómo las organizaciones comunitarias de productores agropecuarios apropian elementos de innovación social.

Como parte del análisis de resultados, se realizó la selección de ocho organizaciones de productores agropecuarios objeto de estudio, donde se evidenció la apropiación

de elementos de innovación social identificados en la revisión de literatura.

Primera fase: planificación

En esta fase, se definió el propósito de la revisión y se identificaron las fuentes de información. Es importante contar con referentes de inclusión y exclusión de los estudios para definir, aclarar y analizar la evolución de los conceptos de innovación social y su relación con las organizaciones comunitarias objeto del estudio. La búsqueda se realizó en la base de datos de Web of Science™ teniendo en cuenta la rigurosidad científica en diferentes áreas de conocimiento y estableciendo criterios de filtrado mediante ecuación de búsqueda al relacionar las palabras clave innovación social, gestión, organizaciones comunitarias e índices de innovación social, conforme lo propone la metodología propuesta por Tranfield *et al.* (2003a).

Segunda fase: desarrollo

Se efectuó en cinco pasos. El primero fue construir la ecuación de búsqueda y aplicarla

a la base de datos de Web of Science™ con palabras clave como “innovación social” en el campo “Título” AND “gestión” en el campo “Tema” OR “organizaciones comunitarias” en el campo “Título” AND “Índice de innovación social” en el campo “Tema”; se incluyeron todos los años disponibles (2003-2020 / septiembre) en todos los idiomas y como producto de esta ecuación de búsqueda se obtuvo un total de 119 documentos. El segundo paso consistió en analizar los 119 documentos a través del *software* de minería de datos VOSviewer™. En el tercer paso, se revisó la correlación entre los campos de estudio, la relevancia de las publicaciones entre países y la dinámica de publicaciones en el tiempo. En el cuarto paso, se realizó la lectura de los títulos y resúmenes de los 57 documentos priorizados en la búsqueda para cumplir el análisis de pertinencia a la investigación. Y para el quinto paso, se realizó lectura y codificación de 70 documentos que incluían 13 obtenidos por el método de bola de nieve usando el *software* de análisis cualitativo ATLAS.ti™ (figura 1).

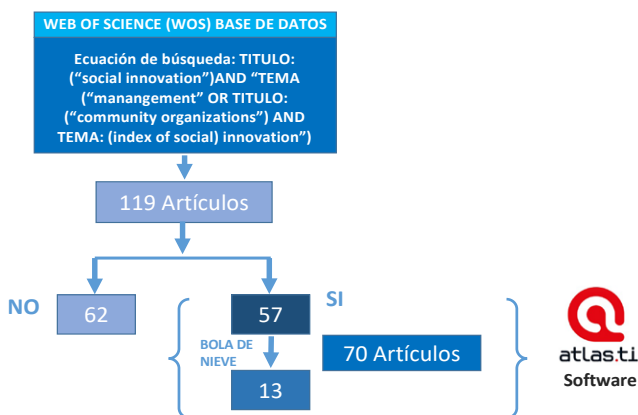


FIGURA 1. Proceso revisión de literatura.
Fuente: elaboración propia.

Tercera fase: análisis de resultados

Para el proceso de lectura de los 70 documentos resultado de las etapas anteriores, se construyó la unidad hermenéutica en ATLAS.ti™ con tres códigos de análisis de información determinados por la pertinencia de la investigación: 1. metodologías, 2. conceptualización, 3. experiencias y resultados. De este modo, se identificaron los elementos de la innovación social desde las investigaciones y su relación con organizaciones comunitarias objeto de estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis campo de estudio de la innovación social

Como se observa en la figura 2, el número de publicaciones sobre innovación social presenta una tendencia creciente en los últimos cinco años, lo cual evidencia el interés actual de la comunidad científica en este campo de estudio.

Los artículos más citados centran su análisis en las relaciones conceptuales de innovación social frente a problemáticas sociales complejas (Moore and Westley 2011), donde las metodologías de estudios de caso demuestran la gestión de los ecosistemas y su relación con la innovación social como mecanismo de participación de los actores involucrados (Biggs *et al.* 2010). Se presenta un marco conceptual para conducir la innovación social de la teoría a la práctica desde varios enfoques (Cajaiba–Santana 2014). Finalmente, se destacan los análisis bibliométricos sobre estudios de innovación social en diferentes disciplinas (Van der Have y Rubalcaba 2016).

En cuanto a la dinámica de publicaciones por país, como se observa en la figura 3, España e Inglaterra ocupan los primeros lugares con 24 y 18 publicaciones, respectivamente. Los estudios se centran en la conceptualización de la innovación social, el análisis de experiencias para futuras líneas de investigación y el papel de diferentes actores en la gestión de innovación social

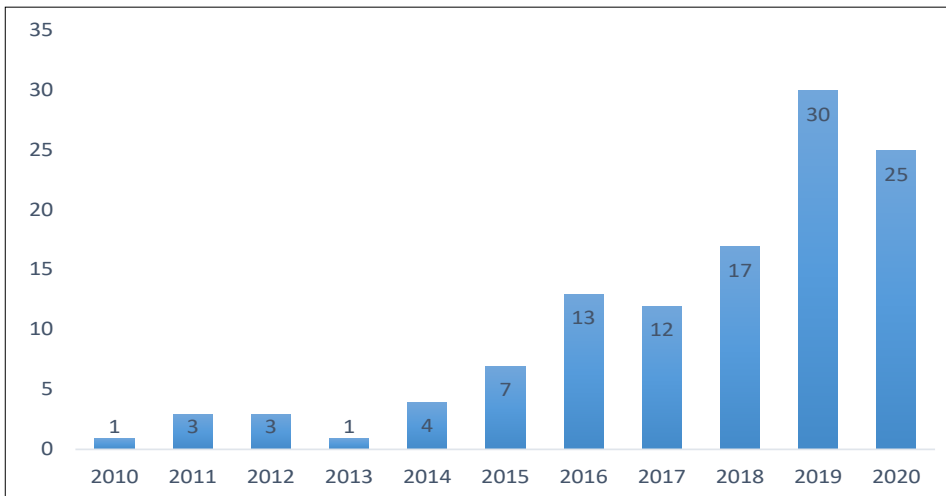


FIGURA 2. Dinámica de publicaciones sobre innovación social en Web of Science a septiembre de 2020.

Fuente: adaptado de los resultados emitidos por la base de datos Web of Science™ (2020).

(Batle *et al.* 2018; Edwards–Schachter y Wallace 2017).

En tercer y cuarto lugar se encuentran Estados Unidos e Italia con 15 y 13 publicaciones, respectivamente, donde se destacan investigaciones centradas en estudios de caso y se realizan aportes a la conceptualización de la innovación social desde contextos específicos como la sostenibilidad, la educación, el emprendimiento social y la comunicación (Córdoba– Pachón *et al.* 2020; Govigli *et al.* 2020; Piccarozzi 2017; Prandini 2018). La República Popular China, Australia, Bélgica, Alemania y los Países Bajos presentan investigaciones centradas en su gran mayoría en estudios de caso para analizar factores que determinan la participación y la construcción de redes para la innovación social donde se incluya

tecnología y prácticas ambientales, sociales y sostenibles (Castro– Arce *et al.* 2019; De Wit *et al.* 2019; Kar *et al.* 2019). Por último, se destaca la posición de Colombia y Brasil con 6 y 5 publicaciones, respectivamente, donde las investigaciones centran su interés una vez más en estudios de caso que van desde análisis de contenidos web relacionados con el emprendimiento social, la autogestión y la innovación social hasta análisis de factores que determinan la participación de la comunidad en el desarrollo rural a través de la producción agrícola sostenible y los aportes del sector empresarial y académico en la construcción de escenarios para mejorar la gestión de las organizaciones hacia el desarrollo social, económico y ambiental (Jiménez– Ibanez *et al.* 2019; Machado Valadão Júnior 2013; Ochoa Rodríguez

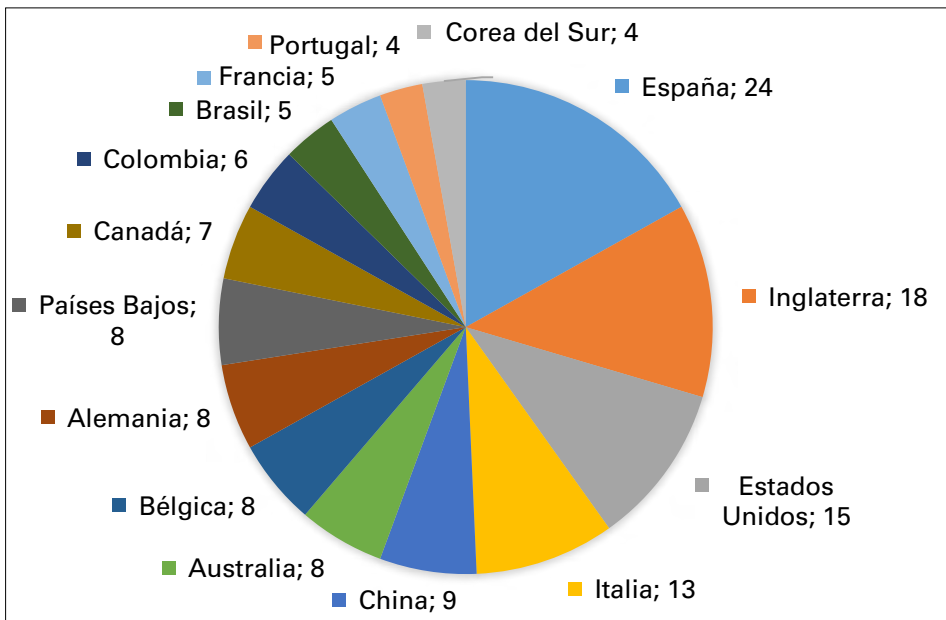


FIGURA 3. Publicación de artículos por país sobre innovación social y la gestión en organizaciones comunitarias.

Fuente: adaptado de base de datos de Web of Science™ (2020).

TABLA 1: Descripción de los elementos de Innovación Social (IS)

ELEMENTO DE IS	USO GENERAL	USO EN ORGANIZACIONES COMUNITARIAS	AUTORES RELACIONADOS
Gestión	<p>Determina la participación activa de los involucrados en la implementación de innovaciones sociales como mecanismos para lograr confianza y cooperación, más allá de coordinar ejercicios de producción, logrando acciones de voluntariado en pro de satisfacer las expectativas individuales y grupales</p>	<p>Promueve la motivación de sus integrantes explorando formas de trabajo intra, inter y extra grupales para identificar oportunidades y generar ideas de transformación de prácticas con soluciones creativas. Dinamiza la interacción, combinando procesos y resultados para obtener cambios organizacionales incrementales</p>	<p>(Tang y Shao, 2019) (de Wit <i>et al.</i>, 2019) (Svensson & Hambrick, 2019) (Terstriep, Rehfeld, y Kleverbeck, 2020)</p>
Gobernanza	<p>Desarrollo integral de las sociedades y promoción de la articulación con diferentes actores, principalmente el estado, la sociedad civil, las agencias públicas y el sector privado. Responden a contextos específicos, identifican oportunidades y promueven acciones de empoderamiento para arreglos sociopolíticos con agendas y misiones compartidas.</p>	<p>Fundamentan la aplicación de modelos para iniciar, concretar y complementar cambios de prácticas de gobierno, prácticas ambientales y prácticas económicas. La gobernanza impulsa a la innovación social, como herramienta de gestión para el liderazgo, la gestión de recursos humanos, la planificación regional, la información y el conocimiento</p>	<p>(Serrano, 2011) (Castro-Arce <i>et al.</i>, 2019) (Sauer y Hiete, 2020) (Natera Peral, 2005)</p>
Capacidades	<p>Responder, adaptar y sostenerse en un mundo competitivo. Dinamizan y permiten detectar, capturar y reconfigurar conocimientos individuales y colectivos para la transformación social. El aprendizaje organizacional desarrolla competencias colectivas a partir de metodologías dialógicas que permiten evaluar y combinar conocimientos externos e internos para la aceptación, transferencia, adaptación y generación de conocimiento.</p>	<p>Permiten la interacción de las partes interesadas externas e internas que influyen en el proceso de innovaciones permitiendo acceder a expertos, construir evidencias colectivas, escalamiento de las innovaciones sociales, financiación, creación conjunta de valor y desarrollo de nuevas capacidades. Diseñar planes de formación combinando conocimientos de expertos y conocimientos empíricos de las comunidades promoviendo la innovación social incremental.</p>	<p>(Hernández, Marulanda, y López, 2014) (Vezina, Ben Selma, y Malo, 2019) (Garzón Castrillón y Fisher, 2008). (Ko, Liu, Wan Yusoff, y Che Mat, 2019) (Altuna, Contri, Dell'Era, Frattini, y Maccarrone, 2015) (Castro, 2011)</p>

ELEMENTO DE IS	USO GENERAL	USO EN ORGANIZACIONES COMUNITARIAS	AUTORES RELACIONADOS
Modelo de negocio y/o emprendimiento	<p>La efectividad de los modelos de negocio, principalmente en las organizaciones sociales dependen en gran parte del diseño y la interacción con otros actores, con los que, el modelo deberá interactuar y/o co-crear valor. Parten de la transformación de productos y servicios que reduzcan la presión ecológica del planeta, que cumplan con indicadores de comercio justo y que respondan a las expectativas de los interesados. Determinan la generación de opciones significativas para la resolución de problemas con usuarios finales, es decir, un modelo de "diseño participativo"</p>	<p>El intra-emprendimiento es el método que permite generar ideas para la innovación, diseñar y luego implementar. Genera condiciones institucionales que involucren el proceso de creación para eliminar las barreras institucionales normativas, políticas y de intereses particulares, y al mismo tiempo, se generen oportunidades para las alianzas con instituciones formales de innovación social de carácter municipal, regional, nacional e internacional. Integrar procesos de co-creación con la oferta y con la demanda, donde se desarrollen productos y servicios para el cliente interno o socio, y en un proceso paralelo el desarrollo de productos y servicios que atiendan las necesidades de la demanda sin evadir el compromiso social de la innovación y de las organizaciones que las implementan.</p>	<p>(Preciado y Oliva, 2011) (Boons y Lüdeke-Freund, 2013) (Cairns, 2017) (Berzin, Pitt-Catsouphes, y Gaitan-Rossi, 2015) (Popov, Veretennikova, y Omonov, 2016) (De Silva, Khan, Yorley, y Zeng, 2020)</p>
Sostenibilidad	<p>Campo de interés investigativo para abordar múltiples crisis que enfrentan las sociedades. Así, el desarrollo sostenible corresponde a la combinación equilibrada del mejoramiento de la "micro calidad de vida" y el mantenimiento de la "macro calidad de vida".</p> <p>Integración para generar nuevas o mejoradas soluciones a problemáticas sociales que repercuten en la calidad de vida de las personas. El desarrollo sostenible como la innovación social contribuye a la transformación de prácticas que promueven cambios institucionales en contextos específicos.</p>	<p>La aplicación en las organizaciones comunitarias dependerá de los enfoques y propósitos organizacionales para promover prácticas sostenibles y la implementación de programas de gestión colaborativa de recursos naturales. La sostenibilidad económica juega un papel fundamental en las organizaciones comunitarias, las cuales en su mayoría son sin fines de lucro, pero necesitan soportar su financiación ya sea a través de financiación externa o a través de la generación de modelos de negocio que permitan la autofinanciación. La sostenibilidad de las innovaciones sociales dependerá en gran medida de la gestión de las organizaciones, donde se establezcan agendas institucionales compartidas contextualizadas y ajustadas a los territorios.</p>	<p>(Periac, David, & Roberson, 2018) (Castro-Spila, Torres, Lorenzo, y Santa, 2018) (Cordoba-Pachon et al., 2020)</p>

Fuente: Elaboración propia (2021)

el método de muestreo por conveniencia y teniendo en cuenta la apropiación de elementos de innovación social identificados en la revisión de literatura (gestión, gobernanza, capacidades, modelo de negocio sostenible). La técnica de muestreo no probabilístico “por conveniencia” permitió seleccionar aquellos casos accesibles que acepten ser incluidos y que además cumplan las condiciones planteadas en el estudio (Otzen y Manterola 2017).

A través de la base de datos publicada en la página del Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF) en la sección “Estrategia de compras locales”, se obtuvieron los datos generales de 24 asociaciones de productores agropecuarios ubicadas en la provincia del Sugamuxi (ICBF 2020); se escogió la anterior en atención a la definición de las necesidades de demanda tecnológica del departamento soportadas por el portal institucional Siembra, ya que esta base de datos es la más robusta

y actualizada. A continuación, se realizó filtrado para seleccionar las organizaciones por tipo de producto, teniendo en cuenta la priorización de los encadenamientos productivos del departamento de Boyacá y la plataforma tecnológica de ciencia, tecnología e innovación del sector agropecuario colombiano (Siembra.gov.co), donde se evidenciaron demandas tecnológicas por atender, lo que arrojó como resultado cuatro grupos. 1. productores de leche, 2. productores de ovinos, 3. productores de hortalizas y 4. productores de frutales.

Finalmente, se seleccionaron ocho organizaciones comunitarias de productores agropecuarios, dos por cada tipo de producto y que cumplieran con los criterios de estar legalmente constituidas, contar con una estructura de gobierno, haber participado en procesos de capacitación, haber ejecutado como mínimo un proyecto con ejercicios comerciales y contar con más de dos años de constitución (tabla 2).

TABLA 2: Organizaciones comunitarias de pequeños productores agropecuarios objeto de estudio

Grupo 1. Organizaciones dedicadas a la producción de leche		Grupo 2. Organizaciones dedicadas a la producción ovina	
1	Asociación de Productores de leche de Gámeza (Asogameza)	5	Asociación Campesina de pequeños Productores y Comercializadores el Redil del Pedregal (El Redil)
2	Asociación de Productores de leche del municipio de Mongua (Aprolemongua)	6	Asociación de Productores Ovinos de Tundama y Sugamuxi (Asoprovinos)
Grupo 3. Organizaciones dedicadas a la producción de hortalizas		Grupo 4. Organizaciones dedicadas a la producción de gulupa	
3	Asociación de Productores Agropecuarios de Firavitoba (Asofiravitoba)	7	Asociación de Productores Agropecuarios Puro Agro de Firavitoba (Puro Agro)
4	Asociación de Mercado Campesino de Tibasosa (Asomercampo)	8	Asociación Agroindustrial de Productores Orgánicos de Boyacá (Proorboy)

Fuente: elaboración propia (2021).

CONCLUSIONES

La innovación social es un campo de estudio en constante evolución en publicaciones científicas, donde los autores buscan una aproximación conceptual desde enfoques multidisciplinarios, y a partir de estudios de caso se pretende determinar factores o elementos para una gestión práctica de la innovación social en atención a problemáticas sociales en contextos específicos.

Las organizaciones de base comunitaria han sido las dinamizadoras de las innovaciones sociales. Sin embargo, carecen de herramientas para lograr cambios significativos en el propósito de mejorar la calidad de vida de sus comunidades.

Finalmente, los aportes desde la literatura, principalmente los realizados por estudios de caso, reflejan la complejidad de la temática, dado que la sostenibilidad de las innovaciones sociales dependerá en gran medida de la gestión de las organizaciones, donde se establezcan agendas institucionales compartidas, contextualizadas y ajustadas a los territorios. Adicionalmente, desarrollar talento humano requiere procesos de educación basados en aprendizaje colaborativo como ventaja competitiva.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

FUENTES DE FINANCIACIÓN

Proyecto de investigación SGI 2876, financiado por la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

REFERENCIAS




- Batle J, Orfila-Sintes F, Moon CJ. 2018. Environmental management best practices: Towards social innovation. *Int J Hosp Manag.* 69:14-20. <https://doi.org/10.1016/j.ijhm.2017.10.013>
- Biggs R, Westley FR, Carpenter SR. 2010. Navigating the back loop: Fostering social innovation and transformation in ecosystem management. *Ecol Soc.* 15(2):25. <http://www.ecologyandsociety.org/vol15/iss2/art9/>
- Cajaiba-Santana G. 2014. Social innovation: Moving the field forward. A conceptual framework. *Technological Forecasting and Social Change.* 82:42-51. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2013.05.008>
- Castro-Arce K, Parra C, Vanclay F. 2019. Social innovation, sustainability and the governance of protected areas: Revealing theory as it plays out in practice in costa rica. *Journal of Environmental Planning and Management.* 62(13):2255-2272. <https://doi.org/10.1080/09640568.2018.1537976>
- Cordoba-Pachon JR, Mapelli F, Al Taji FNA, Donovan DM. 2020. Systemic creativities in sustainability and social innovation education. *Syst Pract Action Res.* 17:251-267. <https://doi.org/10.1007/s11213-020-09530-z>
- De Wit A, Mensink W, Einarsson T, Bekkers R. 2019. Beyond service production: Volunteering for social innovation. *Nonprofit and Voluntary Sector Quarterly.* 48:52S-71S. <https://doi.org/10.1177/0899764017734651>
- Duque D, Quitaquez Villamarin G, Montenegro I, Rojas Villamil AM, Cárdenas Rey A. 2016. Bases conceptuales de una política de innovación social. <http://repositorio.colciencias.gov.co/handle/11146/285>
- Edwards-Schachter M, Wallace ML. 2017. 'Shaken, but not stirred': Sixty years of defining social innovation. *Technological Forecasting and Social Change.* 119:64-79. <https://doi.org/10.1016/j.techfore.2017.03.012>
- González KJ. 2009. Propuesta estratégica y metodológica para la gestión en el trabajo colaborativo. *Revista Educación.* 33(2):95-107. <https://www.redalyc.org/pdf/440/44012058007.pdf>

- Govigli VM, Alkhaled S, Arnesen T, Barlagne C, Bjerck M, Burlando C, Melnykovich M, Fernandez-Blanco CR, Sfeir P, Gorriz-Mifsud E. 2020. Testing a framework to co-construct social innovation actions: Insights from seven marginalized rural areas. *Sustainability*. 12(4):26. <https://doi.org/10.3390/su12041441>
- Icbf. 2020. [accessed]. <https://www.icbf.gov.co/programas-y-estrategias/estrategia-compras-locales/asociaciones-productoras-boyaca>.
- Jimenez-Ibanez E, Jorda-Albinana B, del Rio Cogorno JG, Magal-Royo T. 2019. Social innovation and empowerment in colombian companies through design management. *Dyna*. 94(5). <https://doi.org/10.6036/9321>
- Kar AK, Ilavarasan V, Gupta MP, Janssen M, Kothari R. 2019. Moving beyond smart cities: Digital nations for social innovation & sustainability. *Information Systems Frontiers*. 21(3):495-501. <https://doi.org/10.1007/s10796-019-09930-0>
- Machado Valadão Júnior V. 2013. Social enterprises in brazil: Socially produced knowledge versus social innovation. *Journal of technology management & innovation*. 8(suppl 1):15-15. <https://doi.org/10.4067/S0718-27242013000300015>
- Moore ML, Westley F. 2011. Surmountable chasms: Networks and social innovation for resilient systems. *Ecol Soc*. 16(1):13. <http://www.ecologyandsociety.org/vol16/iss1/art5/>
- Ochoa Rodriguez Y. 2015. Preliminary phase in the process of social innovation with agricultural and milk producers of viracacha - boyaca. *Inquietud Empresarial*. 15(1):53-74. https://www.academia.edu/27962688/Revista_Inquietud_Empresarial_XV_1_
- Otzen T, Manterola C. 2017. Técnicas de muestreo sobre una población a estudio. *International journal of morphology*. 35(1):227-232. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022017000100037>
- Piccarozzi M. 2017. Does social innovation contribute to sustainability? The case of italian innovative start-ups. *Sustainability*. 9(12):28. <https://doi.org/10.3390/su9122376>
- Prandini R. 2018. Themed section: The person-centred turn in welfare policies: Bad wine in new bottles or a true social innovation? Introduction. *Int Rev Sociol*. 28(1):1-19. <https://doi.org/10.1080/03906701.2017.1422888>
- Rojas De Francisco L, Macías Prada JF. 2019. Autogestión, emprendimiento social e innovación social: Un análisis de contenidos publicados en twitter. *Tec Empresarial*. 13(3):42-57. <http://dx.doi.org/10.18845/te.v13i3.4208>
- Rover OJ, de Gennaro BC, Roselli L. 2017. Social innovation and sustainable rural development: The case of a brazilian agroecology network. *Sustainability*. 9(1). <https://doi.org/10.3390/su9010003>
- Santamaria Ramos J, Madariaga Orozco CA. 2019. Determinantes de la innovación social en las fundaciones de cuarta generación de barranquilla, colombia. *Innovar*. 29(73):113-132. <https://doi.org/10.15446/innovar.v29n73.78026>
- Tranfield D, Denyer D, Smart P. 2003a. Towards a methodology for developing evidence-informed management knowledge by means of systematic review. *British Journal of Management*. 14(3):207-222. <https://doi.org/10.1111/1467-8551.00375>
- Tranfield D, Denyer D, Smart P. 2003b. Towards a methodology for developing evidence-informed management knowledge by means of systematic review. *British journal of management*. 14(3):207-222. <https://doi.org/10.1111/1467-8551.00375>
- Van der Have RP, Rubalcaba L. 2016. Social innovation research: An emerging area of innovation studies? *Research Policy*. 45(9):1923-1935. <http://dx.doi.org/10.1016/j.respol.2016.06.010>

Forma de citación del artículo:

Vega-Pérez CA, Camargo-Castillo S. 2022. Apropiación de los elementos de innovación social en organizaciones comunitarias agropecuarias del departamento de Boyacá, Colombia. *Rev Med Vet Zoot*. 69(3):299-309. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n3.99196>

Perspectivas de uso sostenible del grillo doméstico tropical (*Grylodes sigillatus*) para la alimentación humana en Colombia

H. Arévalo Arévalo¹ , D. Vernot^{*2} , K. Barragán-Fonseca³ 

Recibido: 06/10/2021. Aprobado: 09/05/2022

RESUMEN

Para el año 2050 se espera un aumento del 60% al 70% en el consumo de productos de origen animal. Este aumento en el consumo demandará enormes recursos, siendo las fuentes tradicionales de proteína las más costosas, sobreexplotadas y perjudiciales para el ambiente. Explorar nuevas fuentes de proteína animal se convierte en una necesidad para el sector agropecuario. Es por esta razón que la FAO (2009) incluyó el uso de insectos en la alimentación humana y animal como una fuente alternativa de nutrientes desde el 2003 debido a sus características nutricionales y a su bajo impacto ambiental. Una de las especies más promisorias es el grillo doméstico tropical (*Grylodes sigillatus*), cuyo potencial como sistema productivo sostenible ha sido demostrado en varios países asiáticos como europeos. El propósito de este artículo es presentar los aspectos asociados al aprovechamiento y producción de la especie *G. sigillatus* que pueden hacerla sostenible como alimento en Colombia, dando cuenta de las características generales y nutricionales de la especie y las ventajas socioeconómicas y ambientales de la cría de estos grillos y de los insectos en general. Se establece que, aunque existen emprendimientos en el país, es importante continuar con la investigación sobre esta especie en términos de producción a gran escala, así como en términos nutricionales para potenciar el sector económico y mejorar las condiciones materiales de agricultores en el país.

Palabras clave: grillos, *Grylodes sigillatus*, insectos comestibles, nutrientes, sostenibilidad.

¹ Centro de Investigación de Artrópodos Terrestres (CINAT), Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Carrera 45 #26-85, Bogotá D.C., Colombia. Correo electrónico: haarevalo@unal.edu.co

² Escuela Internacional de Ciencias Económicas y Administrativas, Grupo de investigación Alimentación, Gestión de Procesos y Servicio. Universidad de la Sabana. Km 7 Autopista Norte Bogotá, Chía, Cundinamarca, Colombia. Correo electrónico: dianavear@unisabana.edu.co

³ Centro de Investigación de Artrópodos Terrestres (CINAT), Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Carrera 45 #26-85, Bogotá D.C., Colombia. Correo electrónico: kbbarraganf@unal.edu.co

Prospects for the sustainable use of the tropical house cricket (*Gryllobates sigillatus*) for human consumption in Colombia

ABSTRACT

Global agriculture production must increase by about 60-70 percent from the current levels to meet the increased food demand in 2050, which will demand enormous resources, with traditional protein sources being the most expensive, overexploited, and environmentally damaging. New alternative protein sources are a necessity for the agricultural sector. Since 2003, FAO (2009) has included insects as feed and food as an alternative protein source because they are nutritious and environmentally sustainable. One of the most promising species is the tropical house cricket (*Gryllobates sigillatus*), whose potential as a sustainable production system has been demonstrated in several Asian and European countries. This article presents the aspects associated with using and producing the *G. sigillatus* that can make it sustainable as food in Colombia, accounting for the general and nutritional features of this species and the socioeconomic and environmental advantages of raising these crickets, and insects in general. It was established that, even though there are entrepreneurs in the country, research on this species needs to continue, both in terms of its large-scale production and of its nutritional qualities, to strengthen the economic sector and to improve the material conditions of farmers.

Keywords: crickets, edible insects, *Gryllobates sigillatus*, nutrients, sustainability.

INTRODUCCIÓN

En el 2009, cuando la población mundial era aproximadamente de 6.841 millones (Banco Mundial 2019), la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) emitió un informe estipulando los pasos necesarios para mantener la seguridad alimentaria de los más de 9.100 millones de habitantes que tendrá el planeta Tierra para el 2050 (FAO 2009). La preocupación más eminente es asegurar la producción de alimentos necesarios para mantener una población que, para ese entonces, se traducirá en una producción anual de carne que alcance 470 millones de toneladas (Tripathi *et al.* 2019).

La producción anual de carne a nivel mundial para el 2018 fue de aproximadamente 336,4 millones de toneladas (FAO 2019). Esta cantidad implica un costo

ambiental alto si se tiene en cuenta que para producir una tonelada de carne se requieren aproximadamente quince mil litros de agua (Bhaskar 2017), es decir, para la cantidad mencionada se requirió el uso de más de 5 billones de litros. Además, la ganadería produce casi un 30% de los gases de efecto invernadero a nivel mundial (Fundación Heinrich Böll 2014).

Por otro lado, en el caso colombiano, donde gran parte del desplazamiento forzado se ha dado por dos tipos de conflictos que confluyen: el agrario y el armado (Sarmiento 2018), la ganadería extensiva está ligada a la gran propiedad y ocupa más del 70% de las tierras con vocación agrícola (Suescún 2013) y, en términos jurídicos, en las sentencias de Justicia y Paz se encontraron menciones que indican la incidencia de este sector económico en dinámicas ya sea de despojo

y abandono de tierras o de financiamiento económico, sobre todo en relación con el grupo armado paramilitar (Michalowski *et al.* 2018).

El efecto de la ganadería también ha propuesto estrategias de producción cárnica como los sistemas silvopastoriles para reducir el impacto socioambiental (Restrepo *et al.* 2016). No obstante, los académicos también se han propuesto incrementar, visibilizar y fomentar el consumo de insectos para mitigar dichos efectos –prácticas ampliamente utilizadas por comunidades alrededor del mundo– (Meyer–Rochow y Jung 2020; Van Huis 2018). Además, el uso de insectos como fuente de proteína animal también disminuiría la producción de gases de efecto invernadero (Oonincx *et al.* 2010), el desperdicio de agua y la utilización de tierra arable (Cámara *et al.* 2018).

Adicionalmente, se ha establecido que la producción y el consumo de productos derivados de insectos puede mejorar el nivel nutricional de más de 805 millones de personas que viven con deficiencias nutricionales en el mundo (Barennes *et al.* 2015), de las cuales 191 millones de personas viven en América Latina y el Caribe (FAO *et al.* 2020). Aunque varía con la especie, la mayoría de los insectos ha demostrado tener un alto porcentaje de proteína, de ácidos grasos mono y poliinsaturados, de elementos traza como cobre, hierro, magnesio, manganeso, fósforo, selenio y zinc, así como algunas vitaminas importantes en la nutrición humana (Cámara *et al.* 2018). Por tanto, Govorushko (2019) apunta a que el consumo de insectos, aparte de ser una alternativa beneficiosa para la salud humana, también lo es para el medio ambiente, además de generar un efecto positivo a nivel socioeconómico.

Los órdenes de insectos más consumidos a nivel mundial son los lepidópteros y coleópteros, seguidos por los himenópteros (abejas, avispas y hormigas) y ortópteros (saltamontes, langostas y grillos) (Cámara *et al.* 2018). Entre los insectos con mayor potencial de ser consumidos en el mundo, se destacan las seis especies autorizadas actualmente por la Unión Europea para el consumo humano y animal: gusano de la harina (*Tenebrio molitor*), mosca negra soldado (*Hermetia illucens*), grillo doméstico (*Acheta domesticus*), grillo rayado (*Gryllobates sigillatus*), grillo de campo (*Gryllus assimilis*) y gusano de la harina menor (*Alphitobius diaperinus*) (IPIFF 2016). Dadas sus diferentes ventajas productivas, de manejo y nutricionales, en algunos países asiáticos y europeos existen sistemas de producción con diferentes grados de tecnificación para varias especies de grillos como *Acheta domesticus*, *Gryllobates sigillatus*, *Gryllus bimaculatus* y *Gryllus assimilis*, siendo el grillo doméstico tropical (*Gryllobates sigillatus*) una especie que se ha empezado a estudiar en Colombia para su cría (Cruz y Arévalo 2021). 1. Por su potencial productivo, dada su alta prolificidad y fácil manejo productivo (Orinda *et al.* 2021); 2. su alto valor nutricional (Dion–Poulin 2020; Zielińska *et al.* 2021 y 2015); 3. sus propiedades bioactivas, alergénicas, hipolipidémicas y antimicrobianas (Hall 2020; Malm y Liceaga 2021); y 4. su potencial de ampliar mercados a través de la creación de emprendimientos en el país (Díaz 2019).

En este sentido, la literatura recolectada a través de ScienceDirect, ResearchGate, Lens y Google académico se presenta con el objetivo de dar a conocer los aspectos asociados al aprovechamiento y producción de la especie *G. sigillatus* como posible alimento en Colombia. Por este motivo, se

presentarán las características de la especie y su forma de producción, el valor nutricional, los aspectos ambientales y socioeconómicos que podría traer a poblaciones vulnerables y las pautas internacionales y nacionales a nivel legislativo.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA ESPECIE *GRYLLODES SIGILLATUS*

El *Grylloides sigillatus* es conocido como grillo rayado, grillo bandeado o grillo doméstico tropical. Es de la clase insecta, orden Orthoptera, familia Gryllidae y género grylloides. Esta especie es considerada cosmopolita, dado que está distribuida en la mayor parte del mundo (Smith y Thomas 1988; Walker 1999). Al ser del orden Orthoptera puede habitar en diversos medios como cordilleras, sabanas, selvas tropicales, estepas, etc. (Comisión Nacional del Ministerio del Medio

Ambiente 2008). Al estar clasificados en el suborden Ensifera y la familia Gryllidae, se alimentan de tallos, follaje y raíces de plántulas, como las de los cultivos de maíz y arroz, entre otros (Zumbado y Azofeifa 2018), así como de otros insectos (Gillot 2005), por lo que son catalogados como omnívoros.

Esta especie cuenta con un tamaño de 18 a 22 mm y 230 mg en promedio en estado adulto (Ivy y Sakaluk 2005; Okada *et al.* 2011). Es de color claro, pardo dorado y con dos líneas transversales oscuras que cruzan su tórax y abdomen, el espacio entre las antenas es estrecho (aproximadamente el ancho del segmento basal de cualquiera de las antenas), y hay una sola banda transversal oscura entre los ojos. Asimismo, mientras que los machos tienen alas que solo cubren la mitad del abdomen, las hembras tienen alas reducidas (figura 1).



FIGURA 1. Hembra (izquierda) y macho (derecha) de *Grylloides sigillatus*.

Fuente: elaboración propia

En cuanto a sus aspectos reproductivos, esta especie presenta dimorfismo sexual, es decir, los machos se diferencian morfológicamente de las hembras. Las hembras son fonéticamente atraídas a los machos en la noche y montan a los machos, quienes transfieren un espermatozoo, que se adhiere a la genitalia de la hembra. La oviposición se genera al día siguiente de la cópula y los huevos emergen a los 13 días a una temperatura de 30 °C. Dependiendo de la temperatura, el desarrollo de huevo a adulto toma de 2 a 3 meses aproximadamente (Ivy y Sakaluk 2005).

En Colombia, está ampliamente distribuida desde los 0 a 1900 msnm, mostrando una preferencia por temperaturas templadas a cálidas (25 a 31 °C). Suele encontrarse en bosques, vegetación secundaria y áreas aledañas a casas de zonas rurales. Hasta el momento ha sido reportado en los departamentos del Huila (municipio de Yaguara), Cundinamarca (municipios de Arbeláez, La Mesa y Tocaima), Meta (municipios de Puerto Gaitán y Puerto López), Bolívar (Cartagena), Magdalena (municipio de Santa Ana), Caldas (municipio de La Dorada), Tolima (municipios de Chaparral, Albalema y Cambao) y Atlántico (Barranquilla) (Cadena–Castañeda 2011).

PRODUCCIÓN DE LA ESPECIE *GRYLLODES SIGILLATUS*

La cría de grillos para consumo humano se ha llevado a cabo tanto en países tropicales como subtropicales (Dossey *et al.* 2016) Asimismo, un gran número de especies de grillos son cultivados en países tropicales asiáticos como Tailandia, Laos, Myanmar y Taiwán, se cultiva el grillo de casa *Acheta testacea*, el grillo de campo *Gryllus bimaculatus*, el grillo gigante de Taiwán *Brachytrupes portentosus*

y en menor proporción los grillos *Gryllus assimilis* y *Grylloides sigillatus* (Govorushko 2019). En cambio, en países americanos la producción se centra principalmente en *Acheta domesticus*, *Grylloides sigillatus* y en los últimos años, *Gryllus assimilis*.

Las tecnologías de producción de grillos se describen en publicaciones como las de Cortes *et al.* (2016), Dossey *et al.* (2016), Hanboonsong y Durst (2020) y Orinda *et al.* (2021), donde explican los diferentes métodos de cultivo. Por ejemplo, la producción de *Acheta domesticus*, *Grylloides sigillatus*, *Gryllus bimaculatus* y *Gryllus assimilis* se realiza en corrales rectangulares, generalmente de 1,2 a 3,0 m de ancho, de 2,4 a 5,0 m de longitud y con paredes de 0,6 m de altura. Estos contenedores se rellenan con cartones de huevos o divisores de embalaje para aumentar el área de superficie y proporcionar refugio a los individuos. Los contenedores de cría pueden estar hechos de diferentes materiales como cemento, ladrillo, barro, madera, cartón, metal, polietileno de alta densidad o fibra de vidrio, con superficies preferiblemente lisas para evitar fugas. En un contenedor de 1,5 m x 1,5 m x 0,6 m de alto, se puede producir aproximadamente 10 kg de grillos en peso fresco. En un ambiente controlado con temperaturas entre 28° y 32 °C con una humedad relativa del 40% al 70%, siendo los rangos ideales para la producción y alimentando los grillos con residuos vegetales y concentrados de animales domésticos, entre estos, concentrados de pollo de levante de 22% de proteína. Asimismo, se debe suministrar agua con diferentes mecanismos como sistemas comerciales de riego de pollos, mangueras, tubos de pvc o botellas plásticas modificadas con esponjas para evitar ahogamientos limpiando los contenedores, utensilios, bebederos y

comederos constantemente para evitar la proliferación de hongos y bacterias, lo que garantiza la salud e inocuidad de los individuos (Cruz y Arévalo 2021).

CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES DE LA ESPECIE *GRYLLODES SIGILLATUS*

Para el éxito de esta industria alimentaria, es necesaria la investigación de las propiedades funcionales y nutricionales como ingrediente alimenticio, desde un punto de vista de la ciencia y tecnología de alimentos. Estudios como los de Zielínska *et al.* (2015; 2021), Dion-Poulin *et al.* (2020) y Ribeiro *et al.* (2019) describen la composición nutricional en seco del *Grylloides sigillatus* (tabla 1).

El nivel de proteína en seco varía entre 55% y 71%. Este nutriente se caracteriza por tener la mayoría de los aminoácidos esenciales, entre estos leucina, lisina, metionina, treonina y valina, con niveles iguales o superiores a los establecidos por la OMS/FAO y ONU (tabla 2). Se ha encontrado que los péptidos de *G. sigillatus* inhiben las actividades de la enzima

convertidora de angiotensina, dipeptidil peptidasa-4, α -amilasa y α -glucosidasa, con efecto antihipertensivo y antiglu-cémico. También se reduce eficazmente la producción de NF- κ B (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas), MCP-1 (Proteína quimioatrayente de monocitos 1) y IL-6 (glicoproteína Interleucina-6) en las células con un efecto antiinflamatorio (Hall 2020).

Los lípidos de los insectos pueden contribuir a la nutrición humana al suministrar energía y ácidos grasos esenciales (Wu *et al.* 2014). En este sentido, las grasas entre un 14% y 23% representan el segundo nutriente en la composición de la harina de grillo, siendo rica en ácidos grasos monoinsaturados, los cuales tienen beneficios en la prevención de enfermedades cardiovasculares (Ramos-Elorduy 2008) con un alto nivel de ácidos grasos poliinsaturados omega 3 y omega 6, los cuales ayudan en la reducción del colesterol total (Fontaneto *et al.* 2011). De igual manera el *Grylloides sigillatus* presenta varios micronutrientes como cobre, hierro,

TABLA 1. Composición nutricional de *Grylloides sigillatus* con base en materia seca

	Zielínska <i>et al.</i> 2021	Dion-Poulin <i>et al.</i> 2020	Ribeiro <i>et al.</i> 2019	Zielínska <i>et al.</i> 2015
Proteína (%)	71,15 ± 1,1	55,5 ± 0,3	65,3 ± 0,94	70,0 ± 1,7
Grasa (%)	14,92 ± 0,08	16,7 ± 0,1	23,5 ± 0,07	18,23 ± 0,7
Fibra (%)	-	-	7,1 ± 0,26	3,65 ± 0,5
Ceniza (%)	4,35 ± 0,08	4,8 ± 0,1	4,2 ± 0,02	4,74 ± 0,4
Carbohidratos (%)	4,83 ± 0,02	Np	Np	0,1 ± 0,0
Energía (kJ / 100g)	1.844 ± 10,3	Np	Np	1.896 ± 12,5
Energía (kcal/ 100g)	Np	Np	Np	452 ± 4,3

Np; No presenta

Fuente: elaboración propia.

magnesio, calcio, fósforo y zinc (Zielińska *et al.* 2015) en cantidades adecuadas para el consumo humano (tabla 3).

Adicionalmente, la especie no representa ningún peligro para el consumo, ya que no se encuentran bacterias tales como *Salmonella* sp, *Listeria monocytogenes*, estafilococos coagulasa positivos ni *Bacillus cereusse*, al ser los insectos procesados con tratamientos térmicos como la liofilización o el secado en horno, lo que garantiza la

inocuidad del producto y permite una vida útil hasta de 6 meses sin aditivos o conservantes (Vandeweyer *et al.* 2018).

ASPECTOS AMBIENTALES Y SOCIOECONÓMICOS

El aumento en la demanda de alimentos requiere nuevas alternativas para la producción de proteína de calidad para abastecer a la población mundial, con

TABLA 2. Composición de aminoácidos (mg/g de proteína) en *Grylloides sigillatus* en comparación a los requerimientos de aminoácidos establecidos por OMS, FAO y ONU

Composición de aminoácidos	Zielińska <i>et al.</i> 2015	OMS / FAO / UNU (mg/g de proteína)
Isoleucina	26,6 ± 0,5	30
Leucina	57,8 ± 1,1	59
Lisina	38,4 ± 0,9	45
Metionina	15,9 ± 0,8	16
Cisteína	11,1 ± 0,2	6,6
Fenilalanina	22,0 ± 0,24	30
Tirosina	31,8 ± 0,35	Np
Treonina	36,8 ± 0,48	23
Valina	47,0 ± 0,98	26
Histidina	17,2 ± 0,21	15

Np; No presenta

Fuente: elaboración propia.

TABLA 3. Composición mineral de *Grylloides sigillatus* (mg/100 g) con base en materia seca

	Fe	Cu	Zn	K	Mg
Zielińska <i>et al.</i> 2015	4,3 ± 0,1	4,79 ± 0,42	13,9 ± 0,63	1190 ± 10	101 ± 5,5
Ribeiro <i>et al.</i> 2019	4,7 ± 0,31	4,9 ± 0,45	16,8 ± 0,31	870,9 ± 18,55	42,7 ± 1,84
Ingestas diarias recomendadas (mg / día) *	7,5-58,8	0,9-1,3 **	3-14	4.700 **	220-260

* (Centro de micronutrientes del Instituto Linus Pauling <http://lpi.oregonstate.edu/infocenter>);

** (FAO, 2004)

Fuente: elaboración propia.

un bajo impacto ambiental, prácticas de producción sostenible, de fácil acceso y replicabilidad (FAO 2009). En términos ambientales, la cría de grillos de las especies anteriormente mencionadas en este texto ha sido estudiada y evaluada, demostrando un menor potencial de impacto sobre el calentamiento global como producto para la alimentación humana (Halloran *et al.* 2017; Halloran *et al.* 2018).

Entre las ventajas de la producción de grillos se encuentran: las bajas emisiones de gases de efecto invernadero (Dunkel y Payne 2016), bajo potencial de acidificación de los suelos, menor contaminación en los cuerpos de agua y eutrofización terrestre (Halloran *et al.* 2017), destacando por un menor uso de la tierra (Stehfest *et al.* 2009) y una conversión alimenticia más eficiente, la cual es explicada como la cantidad de alimento necesaria para producir 1 kg de proteína animal, como la proteína de la carne o la leche con una relación de 7:1, es decir, se requieren 7 kg de alimento para producir 1 kg de leche o de carne (Nadathur *et al.* 2017), seguido de la carne del cerdo con una relación 5;1 kg y el pollo con 2,7; 1 kg (Smil, 2002). Por el contrario, los grillos requieren 1,7 kg de alimento para producir 1 kg de peso corporal (Hanboonsong *et al.* 2013). Esto significa que los grillos son casi el doble de eficientes que los pollos para convertir el alimento en biomasa, al menos tres veces más eficientes que los cerdos y cuatro veces más eficientes que el ganado.

Teniendo en cuenta los impactos ambientales que se han medido de la cría de grillos y otros insectos hasta el momento (Halloran *et al.* 2018), llama la atención incorporar esta área de producción a las agendas sociales y ambientales de cada gobierno, dado el impacto positivo que este tipo de producciones puede traer a

las comunidades rurales de Colombia, como es el caso de Insectos por la Paz (Barragán–Fonseca *et al.* 2020) o empezar a promover su cría y uso de derivados como la harina de grillo *G. sigillatus* en las dietas (Vernot 2021).

De esta forma, pensar en emprendimientos que tengan como fin la cría de grillos en Colombia puede ser una alternativa de producción para el campo del país y que, al mismo tiempo, mejore la vida de agricultores y sus medios materiales, como lo han planteado Halloran *et al.* (2017 y 2016). Por ejemplo, ya se ha notado que, en las zonas rurales de los países en desarrollo, el consumo y el comercio de insectos comestibles, especialmente la venta ambulante, contribuye al empoderamiento socioeconómico, sobre todo de mujeres rurales (Roos y van Huis 2017), aspectos que también favorecen las metas establecidas en los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la ONU, entre estos: 1. Fin de la pobreza; 2. Hambre cero; 5. Igualdad de género; 8. Trabajo decente y crecimiento económico; 12. Producción y consumo responsable; y 13. Acción por el clima.

Por último, en términos de la ingesta de grillos en Colombia, no existe aún una cultura donde este sea valorado como alimento humano. Sin embargo, en el municipio de La Mesa, Cundinamarca, donde se presentó el grillo *G. sigillatus* como una alternativa de producción en el campo no solo para mitigar los efectos del cambio climático, sino también como una opción para mejorar la seguridad alimentaria y los ingresos de mujeres rurales en condición de vulnerabilidad, hubo un cambio en la percepción de esta especie a través de talleres de empoderamiento y emprendimiento y el diseño de platos en la cocina utilizando harina de grillo como parte de los ingredientes (Vernot 2021).

SITUACIÓN ACTUAL EN LA LEGISLACIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE INSECTOS

Los insectos son probablemente una de las alternativas de fuente de proteína más antiguas que existe en el mundo. La entomofagia es una práctica milenaria desde los tiempos de los primeros homínidos y actualmente se practica en países del Este, África y en algunos países de América Latina, con más de dos mil especies clasificadas como comestibles (Jongema 2017). La mayoría de las personas del Occidente aún no contempla los insectos en sus hábitos alimenticios, sino que los relacionan con un comportamiento primitivo y desagradable (Lensvelt y Steenbekkers 2014; Woolf *et al.* 2019). En la última década, se ha impulsado el consumo de insectos procesados como una alternativa para mejorar la aceptación de los consumidores (Hartmann y Siegrist 2016; Piha *et al.* 2018). Asimismo, esto ha impulsado significativamente la producción de insectos, en especial en Norte América, Europa y África, debido a sus ventajas como alimento humano y animal (Dicke 2017). Para 2019, el tamaño del mercado de insectos comestibles superó los 112 millones de dólares a nivel mundial y se estima que crecerá a más del 47% de CAGR (Compound Annual Growth Rate) entre 2019 y 2026, con un valor de proyección aproximado de 710 mil millones de dólares para 2026 (Ahuja y Mamtani 2020).

Para entender la situación legislativa, se presenta un análisis comparativo de las leyes existentes en diferentes países. Uno de los ejemplos más significativos ocurrió en 2018, cuando la Comisión Europea emitió el Reglamento n.º 2015/2283, donde se catalogaron los insectos como “nuevo alimento” y se estableció el procedimiento a seguir para su inclusión en la dieta humana. Este reglamento está soportado en informes como el de la EFSA

(European Food Safety Authority) y la IPIFF (International Platform of Insects for Food and Feed), en el que se valoran los riesgos asociados a la producción y el consumo de insectos en la alimentación humana y animal, como también brinda recomendaciones de buenas prácticas de higiene para los productores de insectos y, de esta forma, garantizar una fuente alimenticia segura.

En el caso de Estados Unidos, la Administración Federal de Alimentos y Medicamentos (FDA por sus siglas en inglés) protege y promueve la salud de humanos y animales en todos los Estados al supervisar la mayor parte del suministro de alimentos, hacer cumplir las regulaciones que le compete; inspeccionar las instalaciones de fabricación y procesamiento para verificar las buenas prácticas de manufactura, establecer lineamientos y trabajar de la mano con las agencias locales de Seguridad Alimentaria (Keenan *et al.* 2015). Sin embargo, las regulaciones de la FDA no han establecido pautas claras para la producción y el uso de insectos para la alimentación humana y animal, por lo que los negocios de producción y distribución de estos animales se han ralentizado (Lähteenmäki–Uutela *et al.* 2017).

Al ser considerados los insectos como “alimentos novedosos” (*novel foods*), la FDA ha determinado que las regulaciones establecidas para los alimentos convencionales deben extenderse a estos animales. No obstante, hay una contradicción con las regulaciones establecidas por la misma agencia, donde los insectos son considerados aditivos alimentarios que afectan las características de cualquier alimento y, por tanto, su comercialización debe ser revisada y aprobada primero, a menos que su uso esté catalogado como “generalmente considerado como seguro” (Generally

Regarded As Safe–GRAS). En cualquier caso, todos los productos de insectos deben estar etiquetados con su nombre científico y común. (Lähteenmäki–Uutela *et al.* 2017).

En Canadá, los insectos para consumo humano y animal también son considerados como alimentos novedosos y su producción y comercialización está administrada por el Ministerio de Sanidad de Canadá bajo la Ley de Alimentos y Medicamentos (Lähteenmäki–Uutela *et al.* 2017). Este tipo de alimentos, antes de ser comercializados, requiere una notificación de premercado, lo que quiere decir que deben pasar una evaluación de seguridad y adecuación nutricional antes de ser comercializados en el país a través de la Regulación 870 de Alimentos y Medicamentos. Igualmente, la Agencia Canadiense de Inspección de Alimentos (CFIA) permite cuatro fragmentos de insectos y 25 ácaros muertos por cada 225 gramos de productos de queso. Lo que ayuda a los actores de la industria a introducir insectos comestibles transformados y, de este modo, impulsar el crecimiento del mercado local y global (Ahuja y Mantami 2020).

Por otro lado, en México, donde existe una larga tradición de obtención, preservación y obtención de insectos, el cultivo de estos es ínfimo (Ramos–Elorduy y Viejo 2007). Hasta el momento, la empresa Aspire Food Group, en conjunto con la Universidad Tecnológica de los Valles Centrales de Oaxaca, ha capacitado a estudiantes en la recolección de chapulines (*Sphenarium purpurascens*) para desarrollar técnicas de cultivo a futuro (Kluk 2016). De este modo, todavía no existe una regulación para su producción y comercialización (Lähteenmäki–Uutela *et al.* 2017).

Actualmente, en Colombia tampoco existe una legislación clara que aborde la producción y comercialización de insectos

como alimento animal y/o humano. Sin embargo, mediante la expedición de licencias ambientales para la implementación de sistemas de zootecnia otorgadas por las Corporaciones Autónomas Regionales (CAR), se permite la producción de insectos en general, teniendo en cuenta el impacto ambiental que esta pueda representar. De esta manera, la ley 611 de 2000 regula el aprovechamiento de la fauna silvestre y acuática de forma sostenible y, por otro, la resolución 1317 de 2000 “establece los criterios para el otorgamiento de la licencia de fines de fomento y para el establecimiento de zootecniaderos”. No obstante, estas regulaciones no incluyen parámetros para el manejo ni cría de insectos.

En el territorio colombiano, el consumo de insectos en algunas regiones es tradicional y su obtención y formas de preparación o transformación no entran en estas regulaciones. Especialmente, esto ocurre en dos departamentos: Santander y Amazonas. En el primero, se consume y comercializa la especie conocida como hormiga culona (*Alta laevigata*), y en el último, el mojojjoy (larva del escarabajo *Rhynchophorus palmarum*) y la hormiga arriera (*Alta sp.*) (Cartay 2018; Ministerio de Cultura 2015).

Desde el punto de vista comercial, en el país han surgido emprendimientos que se enfocan en la producción de insectos para la alimentación animal como EntoPro (Ayala 2021) y, en el caso de la alimentación humana, ArthroFood. Este último emprendimiento se ha enfocado en estudiar la producción y su transformación del grillo doméstico tropical en harina, ya que este producto ha sido aceptado ante la sala especializada de alimentos y bebidas del Invima en el acta 13 de 2018 para la elaboración de postres, panadería y otras innovaciones gastronómicas.

El aumento en investigaciones en Colombia en torno al uso de insectos para la alimentación humana y animal, al igual que la apertura de empresas con este fin, propone reflexionar sobre legislaciones más acordes con el desarrollo productivo, comercial e investigativo de la especie insecta. De esta forma, se deben establecer procedimientos específicos que garanticen el desarrollo económico de los actores del sector (productores y transformadores), así como asegurar la inocuidad y calidad de estos productos para el consumidor a partir de las buenas prácticas de manufactura (BPM) y el análisis de puntos críticos de control (HACCP) en esta industria (IPIFF 2020). Es importante mencionar que estas legislaciones deben ir acompañadas de programas de comunicación que incentiven la ingesta de estos insectos, ya que, como apuntan Simon *et al.* (2006), el consumo de un alimento está asociado a la familiaridad y exposición a este, de tal manera que las campañas y el acercamiento al uso de insectos en las dietas humanas pueda aumentar su aceptabilidad.

CONCLUSIONES

La harina de la especie *G. Sigillatus* contiene un alto nivel de proteína (Dion–Poulin *et al.* 2020; Ribeiro *et al.* 2019; Zielińska *et al.* 2021 y 2015) y sus lípidos suministran energía y ácidos grasos esenciales, lo que contribuye a las metas propuestas en el ODS de cero hambre, aunque esto debe ir acompañado de programas de comunicación para que su aceptabilidad crezca en lugares donde todavía su consumo propone un reto, así como la innovación en el procesamiento e inclusión en alimentos.

Aunque en el país algunas empresas han avanzado en formalizar la producción, transformación y venta de *Gryllodes*

sigillatus, urge avanzar en este tipo de investigaciones para informar mejor su aprovechamiento in situ, producción en cautiverio y comercialización y, así, complementar la poca información existente relacionada con su inocuidad, producción a mayor escala, transformación y valor nutricional.

De esta forma, las investigaciones futuras deben enfocarse en el manejo sistemático del valor nutricional de esta especie y de otros insectos, sobre todo aquellos que tienen el potencial de convertirse en alimento humano y animal. Explorar estas oportunidades permitirá avanzar en metodologías claras de producción, procesamiento almacenamiento y transformación, por un lado, para seguir desarrollando la regulación de producción y comercialización de insectos en el país y, por otro, como ya se ha mencionado, para continuar favoreciendo aspectos ambientales y socioeconómicos. Seguir avanzando y desarrollando el aprovechamiento, la producción, la transformación y la comercialización de insectos con fines de alimentación como sistemas alternativos de producción animal es de suma importancia para desarrollar en Colombia este renglón económico agropecuario que ya es prioritario en países de la Unión Europea, Norteamérica y Asia. Alcanzar este cometido requiere de la cooperación entre disciplinas de ciencias técnicas (multidiscipliniedad), ciencias sociales (interdiscipliniedad) y entre científicos y partes interesadas no académicas (transdiscipliniedad), en particular la cooperación entre el sector público, académico y privado.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

FUENTES DE FINANCIACIÓN

Este trabajo fue financiado con recursos del Fondo de CTeI del Sistema General de Regalías del Departamento de Cundinamarca y al Programa Nacional Colombia Bio (MinCiencias) bajo la convocatoria 829-2018 2ª Convocatoria proyectos de I+D para el desarrollo tecnológico base biológica, Cundinamarca.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo de CTeI del Sistema General de Regalías del Departamento de Cundinamarca y al Programa Nacional Colombia Bio (MinCiencias) por financiar el proyecto “Cría de grillos para la alimentación humana. Fomento del biocomercio en acompañamiento de mujeres rurales en el municipio de La Mesa, Cundinamarca”. A la Universidad de La Sabana, a la empresa ArthroFood S.A.S y al CINAT de la Universidad Nacional de Colombia.

REFERENCIAS

Ahuja K, Mamtani K. 2020. Edible Insects Market Size by Product (Beetles, Caterpillars, Grasshoppers, Bees, Wasps, Ants, Scale Insects & Tree Bugs), By Application (Flour, Protein Bars, Snacks), Industry Analysis Report, Regional Outlook, Application Potential, Price Trends. Disponible en: <https://www.gminsights.com/industry-analysis/edible-insects-market>

Ayala ML. 2021. Mosca negra, plato fuerte de una *spin-off* pionera en Colombia. Periódico UNAL. Disponible en: <https://unperiodico.unal.edu.co/pages/detail/mosca-negra-plato-fuerte-de-una-spin-off-pionera-en-colombia/>

Barragán-Fonseca KY, Barragán-Fonseca KB, Verschoor G, Van Loon JJ, Dicke M. 2020. Insects for peace. Current Opinion in Insect Science. 40:85-93. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2020.05.011>

Banco Mundial. 2019. Población, total | Data. Disponible en: <https://datos.bancomundial.org/indicador/SP.POP.TOTL?end=2009&start=2009&view=bar>

Barenes H, Phimmasane M, Rajaonarivo C. 2015. Insect Consumption to Address Undernutrition, a National Survey on the Prevalence of Insect Consumption among Adults and Vendors in Laos. PLOS ONE. 10(8):e0136458. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136458>

Bhaskar M. 2017. Curaduría. El poder de la selección en un mundo de excesos. México: Fondo de Cultura Económica. 311 p.

Cadena-Castañeda OJ. 2011. A new genus of cricket near to *Miogryllus* and *Kazuemba* from the Colombian Atlantic coast and the first report of *Grylloides sigillatus* from Colombia. Zootaxa. 3126:55-61.

Cámara MM, Moreno PC, Daschner Á, Fandos MEG, Gómez AP, Lázaro DR, Buelga JÁS. 2018. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) en relación a los riesgos microbiológicos y alérgicos asociados al consumo de insectos. Revista del Comité Científico de la AESAN 27:11-40.

Cartay R. 2018. Entre el asombro y el asco: El consumo de insectos en la cuenca amazónica. El caso del *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera Curculionidae). Revista Colombiana de Antropología. 54(2):143-169. <https://doi.org/10.22380/2539472X.465>

Comisión Nacional del Medio Ambiente. 2008. Biodiversidad de Chile. Patrimonio y desafíos. 2da Ed. Santiago de Chile: Ocho Libros Editores Ltda. 640 p.

Cortés JA, Ruiz AT, Morales-Ramos JA, Thomas M, Rojas MG, Tomberlin, JK, Yi L, Han R, Giroud L, Jullien RL. 2016. Chapter 6—Insect Mass Production Technologies. En: Dossey A, Morales-Ramos JA, Rojas MG. Insects as Sustainable Food Ingredients. London: Academic Press. 153-201 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802856-8.00006-5>

Cruz D, Arévalo, H. 2021. Artrópodos. Producción de grillos de forma sustentable. Chía: Universidad de La Sabana. 99 p.

Díaz E. 2019. Bioemprendimientos en Latinoamérica: jóvenes emprendedores. En: Hodson E, Henry G, Trigo, E. La bioeconomía Nuevo marco para el crecimiento sostenible en América

- Latina. 147-161 p. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana.
- Dicke M. 2017. Servicios ecosistémicos de insectos. En: Van Huis A, Tomberlin JK. *Insects as Food and Feed: From Production to Consumption*. 61-76 p. Países Bajos: Wageningen Academic Publishers.
- Dion-Poulin A, Laroche M, Doyen A, Turgeon, SL. 2020. Functionality of Cricket and Mealworm Hydrolysates Generated after Pretreatment of Meals with High Hydrostatic Pressures. *Molecules* (Basel, Switzerland). 25(22):5366. <https://doi.org/10.3390/molecules25225366>
- Dossey AT, Tatum JT, McGill WL. 2016. Chapter 5-Modern Insect-Based Food Industry: Current Status, Insect Processing Technology, and Recommendations Moving Forward. En: Dossey A, Morales-Ramos JA, Rojas MG. *Insects as Sustainable Food Ingredients*. London: Academic Press. 113-152 p. London: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802856-8.00005-3>
- Dunkel FV, Payne C. 2016. Introduction to Edible Insects. En: Dossey AT, Morales-Ramos JA, Rojas MG, editores. *Insects as Sustainable Food Ingredients*. London: Academic Press. p. 1-27.
- FAO. 2009. 2050 High-Level Experts Forum: Foro. Disponible en: <http://www.fao.org/wsfs/forum2050/wsfs-forum/es/>
- FAO. 2019. Meat Market Review—Overview of global meat market developments in 2018. Disponible en: <http://www.fao.org/documents/card/es/c/ca3880en/>
- FAO, FIDA, OPS, WFP, UNICEF. 2020. Panorama de la seguridad alimentaria y nutrición en América Latina y el Caribe 2020. Santiago de Chile: FAO. 150 p.
- Fontaneto D, Tommaseo-Ponzetta M, Galli C, Rise P, Glew RH, Paoletti M. 2011. Differences in fatty acid composition between aquatic and terrestrial insects used as food in human nutrition. *Ecological of Food Nutrition*. 50:351-367. <https://doi.org/10.1080/03670244.2011.586316>
- Fundación Heinrich Böll. 2014. «Atlas de la carne»—Hechos y cifras sobre los animales que comemos. Editora e Imprinta MAVAL Ltda. Disponible en: <https://www.boell.de/sites/default/files/atlasdelacarne.pdf>
- Gillott C. 2005. The Plecopteroid, Blattoid, and Orthopteroid Orders. En: *Entomology*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/1-4020-3183-1_7
- Govorushko S. 2019. Global status of insects as food and feed source: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 91:436-445. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.032>
- Hall FG. 2020. Bioactive and allergenic properties of edible cricket (*Grylloides sigillatus*) peptides. <https://doi.org/10.25394/PGS.13360142.V1>
- Halloran A, Roos N, Flore R, Hanboonsong Y. 2016. The development of the edible cricket industry in Thailand. 91-100 p. Wgeningen: Academic Publishers. <https://doi.org/info:doi/10.3920/JIFF2015.0091>
- Halloran A, Hanboonsong Y, Roos N, Bruun S. 2017. Life cycle assessment of cricket farming in north-eastern Thailand. *J Clean Prod*. 156:83-94. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.04.017>
- Halloran A, Roos N, Hanboonsong Y. 2017. Cricket farming as a livelihood strategy in Thailand. *The Geographical Journal*. 183(1):112-124. <https://doi.org/10.1111/geoj.12184>
- Halloran A, Hansen HH, Jensen LS, Bruun S. 2018. Comparing Environmental Impacts from Insects for Feed and Food as an Alternative to Animal Production. En: Halloran A, Flore R, Vantomme P, Roos N, editors. *Edible Insects in Sustainable Food Systems*. Springer International Publishing. p. 163-180. https://doi.org/10.1007/978-3-319-74011-9_1
- Hanboonsong Y, Jamjanya T, Durst P.B. 2013. Six-legged livestock: Edible insect farming, collection and marketing in Thailand. Bangkok: FAO. 57 p.
- Hanboonsong A, Durst P. 2020. Guidance on sustainable cricket farming—A practical manual for farmers and inspectors. Bangkok: FAO. 84 p.
- Hartmann C, Siegrist M. 2016. Becoming an insectivore: Results of an experiment, *Food Quality and Preference*. 51:118-122. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.03.003>
- IPIFF. 2016. Implementation of EU Regulation 2015/2283 on 'novel foods'. Disponible en: <https://ipiff.org/wp-content/uploads/2018/05/ipiff-position-paper-implementation-of-eu-nf-regulation.pdf>
- Ivy TM, Sakaluk SK. 2005. Polyandry promotes enhanced offspring survival in decorated crickets. *Evolution* 59(1):152-159. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2005.tb00902.x>








- Jongema Y. 2017. List of Edible Insects of the World. Wageningen. University. Disponible en: <https://www.wur.nl/en/Research-Results/Chair-groups/Plant-Sciences/Laboratory-of-Entomology/Edible-insects/Worldwide-species-list.htm>.
- Keenan S, Spice S, Cole J, Banfi P. 2015. Directorate General for Internal Policies. Policy Department A: economic and scientific policy. Food Safety Policy and Regulation in the United States. Disponible en: <http://www.europarl.europa.eu/studies>.
- Kluk, C. 2016. Innovación social. Creando soluciones para la vida. México: Promotora Social de México. 250 p.
- Lahteenmaki-Uutela A, Grmelova N, Henault-Ethier L, Deschamps MH, Vandenberg, GW, Zhao A, Zhang Y, Yang B, Nemane V. 2017. Insects as Food and Feed: Laws of the European Union, United States, Canada, Mexico, Australia, and China. *Insects as Food and Feed*. 3(2):155-160. <https://doi.org/10.3920/JIFF2016.0058>
- Lensvelt EJS, Steenbekkers LPA. 2014. Exploring consumer acceptance of entomophagy: A survey and experiment in Australia and the Netherlands. *Ecology of Food and Nutrition*, 53(5):543-561. <https://doi.org/10.1080/03670244.2013.879865>
- Malm M, Liceaga AM. 2021. Physicochemical Properties of Chitosan from Two Commonly Reared Edible Cricket Species, and Its Application as a Hypolipidemic and Antimicrobial Agent. *Polysaccharides*. 2(2):339-353. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2020022>
- Meyer- Rochow, VB, Jung, C. 2020. Insects used as food and feed: isn't that what we all need?. *Foods*. 9(8):1003. <https://doi.org/10.3390/foods9081003>
- Michalowski S, Sánchez C, Marí n D, Jiménez A, Martínez H, Domínguez V, Arroyave LM. 2018. Entre coacción y colaboración-verdad judicial, actores económicos y conflicto armado en Colombia. Bogotá: Dejusticia. 329 p.
- Ministerio de Cultura. 2015. La tierra de la abundancia. Las cocinas tradicionales indígenas del sur del departamento del Amazonas. Bogotá D.C.: Ministerio de Cultura de Colombia. 89 p.
- Nadathur SR, Wanasundara JPD, Scanlin L. 2017. Chapter 1-Proteins in the Diet: Challenges in Feeding the Global Population. En: Nadathur SR, Wanasundara JPD, Scanlin L, editores. *Sustainable Protein Sources*. Academic Press. p. 1-19.
- Okada K, Pitchers W.R. Sharma MD, Hunt J, Hosken DJ. 2011. Longevity, calling effort, and metabolic rate in two populations of cricket. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 65(9):1773-1778. <https://doi.org/10.1007/s00265-011-1185-3>
- Ooninx D, van Itterbeeck J, Heetkamp M, van den Brand H, van Loon, JJA, van Huis A. 2010. An Exploration on Greenhouse Gas and Ammonia Production by Insect Species Suitable for Animal or Human Consumption. *PLoS ONE*. 5(12): e14445. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014445>
- Orinda M., Oloo J, Magara H, Ayieko M, Ekese S, Roos N. 2021. Cricket rearing handbook services for science and education United Kingdom: Service For Science and Education. 59 p.
- Piha S, Pohjanheimo T, Lähteenmäki-Uutela A, Křečková Z, Otterbring T. 2018. The effects of consumer knowledge on the willingness to buy insect food: An exploratory cross-regional study in Northern and Central Europe, *Food Quality and Preference*. 70:1-10. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.12.006>
- Ramos -Elorduy J, Viejo JL. 2007. Los insectos como alimento humano: Breve ensayo sobre la entomofagia, con especial referencia a México. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural Sección Biológica*. 102(1-4):61-84.
- Ramos-Elorduy J. 2008. Energy Supplied by Edible Insects from Mexico and their Nutritional and Ecological Importance. *Ecology of Food and Nutrition*. 47(3):280-297. <https://doi.org/10.1080/03670240701805074>
- Restrepo EM, Rosales RB, Estrada M, Orozco JDC, Herrera JER. 2016. Es Posible Enfrentar el Cambio Climático y Producir más Leche y Carne con Sistemas Silvopastoriles Intensivos. *Ceiba*. 54(1):23-30. <https://doi.org/10.5377/ceiba.v54i1.2774>
- Ribeiro JC, Lima RC, Maia M, Almeida A, Fonseca AJ, Cabrita AR, Cunha LM. 2019. Impact of defatting freeze-dried edible crickets (*Acheta domesticus* and *Gryllobes sigillatus*) on the nutritive value, overall liking and sensory profile of cereal bars. *LWT*. 113: 108335. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108335>

- Roos N, van Huis A. 2017. Consuming insects: Are there health benefits? *Journal of Insects as Food and Feed*. 3(4):225-229. <https://doi.org/info:doi/10.3920/JIFF2017.x007>
- Sarmiento, JP. (2018). La aplazada reforma agraria y la Concentración de la tierra en Colombia. *Revista de Derecho*. 49:VII-XII.
- Simon SA, de Araujo IE, Gutierrez R, Nicoletis M. 2006. The neural mechanisms of gustation: A distributed processing code. *Nature Reviews Neuroscience*. 7(11):890-901. <https://doi.org/10.1038/nrn2006>
- Smil V. 2002. Eating meat: evolution, patterns, and consequences. *Population and Development Review*. 28(4):599-639. <https://doi.org/10.1111/j.1728-4457.2002.00599.x>
- Smith RL, Thomas W. 1988. Southwestern Distribution and Habitat Ecology of *Gryllobes supplicans*. *American Entomologist*. 34(4):186-191. <https://doi.org/10.1093/besa/34.4.186>
- Stehfest E, Bouwman L, van Vuuren DP, Den Elzen MGJ, Eickhout B, Kabat P. 2009. Climate benefits of changing diet. *Climatic change*, 95:83-102. <https://doi.org/10.1007/s10584-008-9534-6>
- Suescún CA. 2013. La inercia de la estructura agraria en Colombia: determinantes recientes de la concentración de la tierra mediante un enfoque espacial. *Cuadernos de Economía*, 32(SPE61):653-682.
- Tripathi AD, Mishra R, Maurya KK, Singh RB, Wilson DW. 2019. Estimates for world population and global food availability for global health. En: Singh RB, Watson RR and Takahashi T, editors. *The Role of Functional Food Security in Global Health*. 1st edition. London: Academic Press. p. 3-24.
- Vandeweyer D, Wynants E, Crauwels S, Verreth C, Viaene N, Claes J, Lievens B, Van Campenhout L. 2018. Microbial Dynamics during Industrial Rearing, Processing, and Storage of Tropical House Crickets (*Gryllobes sigillatus*) for Human Consumption. *Applied and Environmental Microbiology*. 84(12):e00255-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.00255-18>
- van Huis A. 2018. Chapter 11-Insects as Human Food. En Nóbrega RR, Albuquerque UP, editores. *Ethnozoology*. Academic Press. p 195-213.
- Vernot D. 2021. Nuevas alternativas de producción con grillos *G. sigillatus*. Empoderamiento, emprendimiento y reconocimiento a mujeres rurales del municipio de La Mesa, Cundinamarca-Colombia. Chía: Universidad de La Sabana. 133 p.
- Walker TJ. 1999. Grillo de la casa tropical—*Gryllobes sigillatus* (F. Walker). Disponible en: <http://entnemdept.ufl.edu/creatures/misc/crickets/gsigilla.html>
- Woolf EZY, Emory K, Zhao J, Liu C. 2019. Willingness to consume insect-containing foods: A survey in the United States. *LWT*, 102:100-105, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.010>
- Wu G, Bazer FW, Cross HR. 2014. Land-based production of animal protein: impacts, efficiency, and sustainability. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1328:18-28. <https://doi.org/10.1111/nyas.12566>
- Zielińska E, Baraniak B, Karaś M, Rybczyńska K, Jakubczyk A. 2015. Selected species of edible insects as a source of nutrient composition. *Food Research International*. 77:460-466. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.09.008>
- Zielińska E, Pankiewicz U, Sujka M. 2021. Nutritional, Physiochemical, and Biological Value of Muffins Enriched with Edible Insects Flour. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. 10(7):1122. <https://doi.org/10.3390/antiox10071122>
- Zumbado, MA y Azofeifa, D. (2018). Insectos de importancia agrícola. Guía básica de entomología Costa Rica y Centroamérica. Programa Nacional de Agricultura Orgánica (PNAO).

Forma de citación del artículo:

Arévalo Arévalo H, Vernot D, Barragán-Fonseca K. 2022. Perspectivas de uso sostenible del grillo doméstico tropical (*Gryllobes sigillatus*) para la alimentación humana en Colombia. *Rev Med Vet Zoot*. 69(3):310-324. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n3.98890>

Unilateral perineal hernia surgery. Case report

P. S. Nakaza¹ , A. C. Rodrigues Silva¹ , A. L. Alves de Brucker¹ ,
D. Mesquita Grangeiro¹ , P. U. Carnauba Vicente² ,
J. Cirqueira dos Santos³ , D. Carvalho Viana³ 

Recibido: 12/05/2021. Aprobado: 11/02/2022

ABSTRACT

Perineal hernia results from weakening and/or the inability of the pelvic diaphragm to support the rectal wall, promoting caudal displacement of abdominal or pelvic organs in the perineum. Unneutered male dogs aged between 7 and 10 years are the most affected, being rare in females. The main clinical signs are unilateral or bilateral swelling of the perineal region, associated or not with tenesmus, dysuria, urinary and/or fecal incontinence, anuria and pain during defecation. The diagnosis is based on clinical history, anamnesis, physical examination, and complementary tests such as radiography and ultrasound. Clinical treatment can be done in some cases, but surgical intervention is required to resolve the problem. The present work aims to report the case of a patient treated at the FullPet Veterinary Clinic in Guarulhos, São Paulo, Brazil, a 7-year-old male Yorkshire canine, unneutered, weighing 4.5 kg. The same was submitted to surgery by the traditional method of suture with nylon thread and enteropexy. When there was recurrence, surgical reintervention was necessary to correct the hernia using a polypropylene mesh.

Keywords: dog, hernia, surgery, recurrence

Cirurgia unilateral de hernia perineal. Reporte de caso

RESUMEN

La hernia perineal resulta del debilitamiento y/o incapacidad del diafragma pélvico para sostener la pared rectal, lo que promueve el desplazamiento caudal de los órganos abdominales o pélvicos en el perineo. Los perros machos no castrados de entre 7 y 10 años son los más afectados, siendo raro en las hembras. Los principales signos clínicos son tumefacción unilateral o bilateral de la región perineal, asociada o no a tenesmo, disuria, incontinencia urinaria y/o fecal, anuria y dolor durante la defecación. El diagnóstico se basa en la historia clínica, la anamnesis, el examen físico y pruebas complementarias como la radiografía simple y la ecografía. El tratamiento clínico se puede hacer en algunos casos,

¹ Universidade Guarulhos (UNG).

² Clínica Veterinária Full Pet 24 horas, Guarulhos, São Paulo.

³ Núcleo de Estudos Morfológicos Avançados (NEMO), Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL); Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA) da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA).

* Corresponding author: dieob@bol.com.br

pero se requiere una intervención quirúrgica para resolver el problema. El presente trabajo tiene como objetivo relatar el caso de un paciente atendido en la Clínica Veterinaria FullPet de Guarulhos, São Paulo, Brasil, un canino Yorkshire macho de 7 años, sin castrar, con un peso de 4,5 kg. Fue intervenido quirúrgicamente por el método tradicional de sutura con hilo de nylon y enteropexia. Cuando hubo recidiva, fue necesaria la reintervención quirúrgica para corregir la hernia mediante una malla de polipropileno.

Palabras clave: perro, hernia, cirugía, recaída.

INTRODUCTION

Anatomically, the perineum is the area of the body that caudally covers the pelvis, and surrounds the anal and urogenital canals (Conci 2017). Named as pelvic diaphragm, this characterizes the main structure of the perineum, being composed of the coccygeus muscles, levator ani, external and internal sphincter (König 2011; Fossum 2014). Perineal hernia is the result of weakness and/or rupture of the muscles and fasciae that make up the pelvic diaphragm, allowing the caudal displacement of abdominal or pelvic organs to the perineum. (Aronson 2017). Its exact cause is still unknown and poorly understood, but it has been proposed to be related to male hormones, exertion and congenital or acquired muscle weakness or atrophy (Fossum 2014), as well as constipation, hyperplastic prostate diseases, recurrent rectopathies, and chronic tenesmus (Bojrab 1981; Silva *et al.* 2019). In 20% to 50% of cases, the hernia is bilateral (Barreau, 2008) and the dilatation is usually ventrolateral to the anus. (Bellenger and Cafield 2007; Brito 2020). The objective of this work is to report a case of perineal hernia in a male dog and to emphasize the clinical-surgical management performed for this type of condition.

MATERIALS AND METHODS

A 7-year-old male Yorkshire breed dog was admitted at the FullPet Veterinary

Clinic in Guarulhos-SP, weighing 4.5 kg. In the anamnesis, the tutor reported that the patient had dyschesia, swelling next to the anus, normorexia, normodipsia and normuria. On physical examination, an aspect of a bag was palpated in the left perineal region with accumulation of feces, mucous membranes were normocolored, non-invasive blood pressure: 110/80 mmHg, respiratory rate: 25 rpm heart rate: 104 bpm and temperature: 38.2 °C.

After performing the abdominal ultrasound, a slightly enlarged spleen and an enlarged prostate were identified, with dimensions of approximately 3.29 cm longitudinal axis x 2.54 cm transverse axis (figure 1).

RESULTS

According to the history and clinical findings, the diagnosis of perineal hernia was established, which may be secondary to prostatic alteration, evident on ultrasound. The suggestion was to perform an orchiectomy surgery, with the aim of possible treatment for the reduction of the prostate and surgical correction of perineal hernia. After accepting the surgical procedure, the owner brought the animal for preoperative examinations. On physical examination, the mucous membranes were of normal color, adequate hydration, no pain on abdominal palpation, NDN lymph nodes (nothing noteworthy), left

unilateral perineal hernia. The pre-surgical complementary tests performed were blood count, urea, creatinine, ALT, AST, GGT, AF, electrocardiogram and chest x-ray. (LL/VD) (figure 2). The owner was informed about the possibility of recurrence that after the surgical procedure.

The animal underwent surgery and intramuscularly acepromazine was administered at a dose of 0.05 mg/kg, combined with tramadol 4 mg/kg as pre-anesthetic medication. Propofol was used at a dosage of 4 mg/kg intravenously and inhalation maintenance with isoflurane for anesthetic

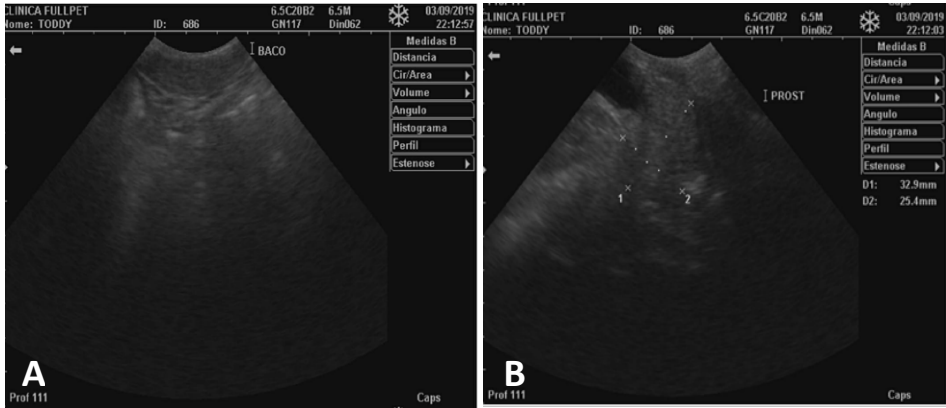


FIGURE 1. Ultrasound images. (A) Ultrasonography of the spleen, with enlarged dimensions; (B) ultrasonography of the prostate, with enlarged dimensions. Source: Fullpet Veterinary Clinic.

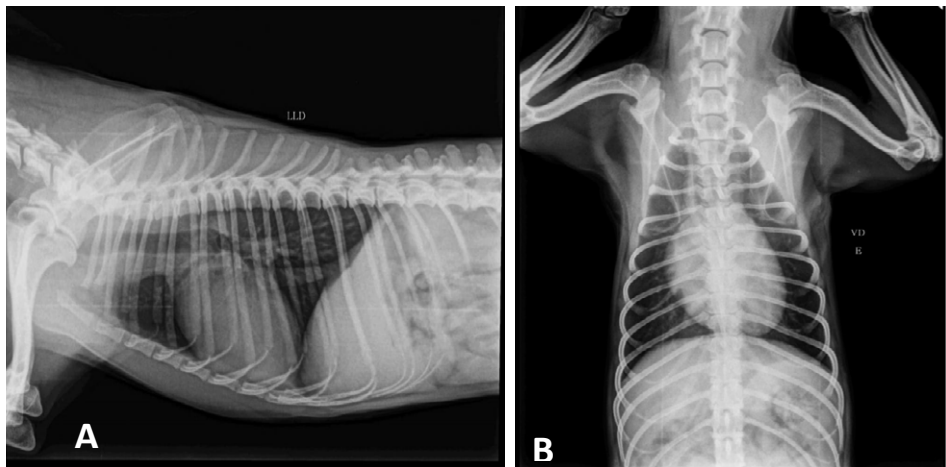


FIGURE 2. Thoracic x-ray. (A) Chest X-ray (LL), without alterations. (B) Chest X-ray (RV), without alterations. Source: Fullpet Veterinary Clinic.

induction. The surgical technique used was herniorrhaphy sutures with nylon thread to correct the hernia. An incision was made at the caudal edge of the obturator internus muscle, which was elevated from the ischial surface using a periosteal elevator. Muscle elevation cannot proceed beyond the rim of the obturator foramen to avoid injuring the corresponding vessels and nerves. The tendon of the muscle was incised in its condensed portion, where it begins its lateral passage along the body of the ischium, taking care not to injure the sciatic nerve. The muscle was dorsally elevated and transposed over the hernia. The initial suture was performed between the external anal sphincter muscle, sacrotuberous ligament and the gluteal fascia as dorsally as possible to obtain a surface which could be sutured to the apex of the obturator internus muscle. The caudolateral edge of the muscle flap was sutured to the caudomedial apex of

the caudal gluteal artery and the sciatic nerve. The caudomedial edge of the muscle flap was sutured to the external anal sphincter muscle. It is important to point out that all suture threads were positioned as described and later sawed, because in this way it was possible to introduce the threads properly. Then, the suture of the subcutaneous and skin was performed.

After the procedure, the animal recovered well (figure 3) and was released home.

Nine days after the procedure, the owner returned with the animal and reported normorexia, normodipsia, normuria and normochesia. On physical examination, normal colored mucous membranes, adequate hydration, no pain on abdominal palpation, lymph nodes (DNN), temperature 38.3° C were observed. The surgical wound presented good healing, requesting a return after 7 days to remove the stitches.

The patient came for the removal of the stitches, but 9 days after the removal the

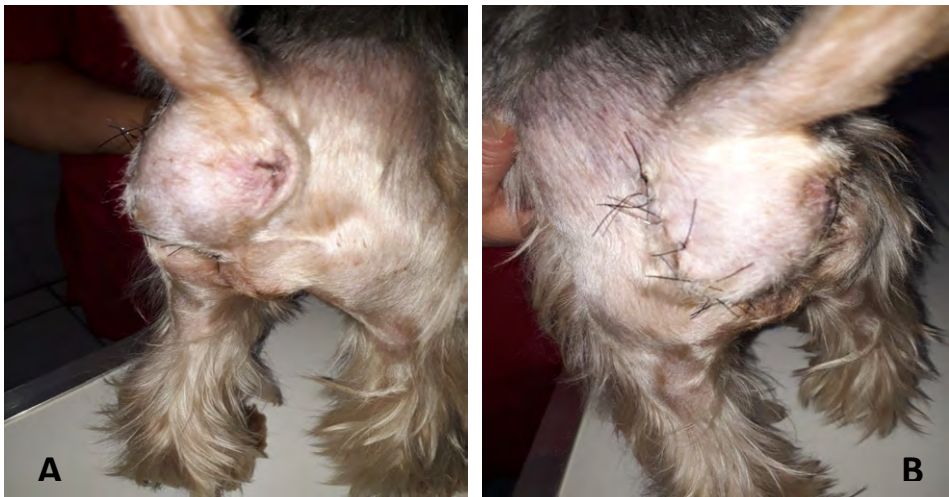


FIGURE 3. Post surgical hernia perineal region. (A) Right LD side view; (B) left lateral view (LE). Source: Fullpet Veterinary Clinic.

animal presented recurrence, with a rectal prolapse as illustrated (figure 4). It grew where the herniorrhaphy was performed. Complementary tests were requested to investigate the cause of the hernia: TSH, free T₄, total T₄, T₃, fructosamine and glycated hemoglobin. The results of the exams were within the reference values, so the animal was sent again for surgery, for mesh placement (hernia correction). The patient was again directed to the surgical field for preoperative evaluation. The use of biocompatible materials for surgical treatment for the correction of perianal hernia was chosen. The material chosen for the procedure was polypropylene mesh.



FIGURE 4. Anal prolapse in dog after perineal hernia repair surgery.

Source: Fullpet Veterinary Clinic.

For investigating the sample, a surgical procedure of exploratory laparotomy was performed. Presence of splenomegaly was found and enteropexy was performed.

In the postoperative period, the animal had a urethral tube and liquid food to prevent prolapse recurrence. The animal was released after 10 days of surgery with home medications: benzoylmetronidazole 1.5 ml BID + neodexa cream.

Upon return for stitch removal, the tutor reported that the animal was active, with normochesia, normorexia, normodipsia, normuria, and surgical wound showing good healing. Abdominal ultrasound was requested for follow-up and peristalsis and continued intestinal mobility were observed. Two months after the operation, the animal already presented shaped stools, with no difficulty in defecating. After three months, the animal was released with solid food and medical discharge.

DISCUSSION

According to the report, in the anamnesis, the owner reports that the patient has dyschesia, swelling next to the anus, normorexia, normodipsia and normuria. On physical examination, the left perineal region is palpated with accumulation of feces, the mucous membranes are normocolored, non-invasive blood pressure: 110/80 mmHg, respiratory rate: 25 rpm heart rate: 104 bpm and temperature: 38.2° C. As a prevention method used to decrease the chances of recurrence and possibly as a treatment for a reduced prostate, orchiectomy surgery is recommended. This procedure is commonly performed in veterinary practice, which helps to prevent pathologies, and in addition to prevention, it is also a method adopted for possible treatments of pathologies of reproductive origin (Oliveira *et al.* 2010). Testicular and scrotal neoplasms, orchitis, epididymitis, trauma, or abscesses are primary indications for this procedure. As

stated in the literature, prostatic hypertrophy, prostatitis, cryptorchidism, perianal adenoma, and perineal hernia are seen as an indication for orchiectomy, serving as prevention and adjunct treatment of these pathologies (Towle 2012; Crane 2014).

The increased perineal volume in the case of the patient in this study may have an undetermined cause. According to Penaforte Junior *et al.* (2015) and Assumpção (2016), approximately 97% of cases occur in male dogs and, of these, 95% in non-orchiectomized dogs. This can be explained according to the fragility of the insertions of the levator ani muscle in the male, and the pressure caused by the prostate which, when hypertrophied, causes an extra pressure load on the pelvic diaphragm muscles (Serafini *et al.* 2011). The actual cause of muscle weakness is still unknown, but some factors have been proposed, such as neurogenic or senile muscle atrophy, enlarged prostate, myopathies, and hormonal changes (Rahal 2005; Machado *et al.* 2020). The pelvic diaphragm represents the main structure of the perineum, which is formed by the levator ani muscles, external anal sphincter, coccygeus, and internal anal sphincter (König 2011; Fossum 2014). Perineal hernia is caused by the separation and weakening of the muscles and fascia that are part of the formation of the pelvic diaphragm; the muscular pelvic diaphragm that supports the rectal wall, which deflects causing pelvic and/or abdominal contents to bulge (Bellenger and Canfield 2007).

Perineal hernia is described as a low-prevalence condition that affects animals over 7 years of age. (Bellenger and Canfield 2007; Assumpção 2016). The profile of the patient described in this report perhaps fits both the age group and the reproductive status because it is an uncastrated animal,

according to the broad classification investigated by Fernandes (2019). There are also reports of genetic predispositions in dogs of the German Shepherd, Boxer, Collie, Poodle, Daschund and Pekinese breeds (Assumpção 2016; Silva *et al.* 2019).

During the evaluation, in the examination of the patient, it is possible to observe the growth in terms of volume in the left lateral region of the anus. After performing the abdominal ultrasound, a slightly enlarged spleen and prostate were identified. The normal sonographic appearance of the prostate in the dog is very variable in shape and texture, depending on age, sexual status (neutered or intact) and history of previous prostate disease. As with shape and texture, the echogenicity of the prostate can vary, being slightly more echogenic than the spleen (Junior 2012; Moresco and Gonçalves, 2019).

The animal mentioned in this report underwent surgery with the following pre-anesthetic medication: acepromazine at a dose of 0.05 mg/kg, combined with intramuscular tramadol 4 mg/kg. For anesthetic induction, propofol with a dosage of 4 mg/kg was used intravenously and inhalation maintenance with isoflurane. Brito (2020) used midazolam, at a dose of 0.5 mg/kg, by intravenous access, propofol, at a dose of 3mg/kg, and ketamine at a dose of 1 mg/kg, they were used for induction, both were used for the intravenous access in the case of a patient with correction of perineal hernia.

Among the techniques used to correct this condition, the use of biocompatible materials has grown in small animal surgery, such as the use of bovine pericardium (Marques *et al.* 2015), peritônio bovino (Bastos *et al.* 2005), equine pericardium (Zerwes *et al.* 2011), natural latex (Paulo *et al.* 2005), and polypropylene fabric

(Rego *et al.* 2016; Ferraz *et al.* 2017). In the correction of the hernia of this patient, the surgical technique used was the traditional suture with nylon thread. Surgical techniques frequently used in pelvic diaphragm reconstruction include the traditional suturing method, also known as anatomic replacement, transposition of the obturator internus muscle, with or without section of the muscle tendon; the transposition of the superficial gluteal muscle and the transposition of the obturator internus muscle combined with the transposition of the superficial gluteal muscle.

25 days after undergoing the surgical procedure and post-operative evaluation returns, the patient returned to the clinic with recurrence due to anal prolapse, presented an increase where the herniorrhaphy was performed, which consists of the replacement of the contents of the hernia sac in its normal place. Possible postoperative complications include wound infection, fecal incontinence, tenesmus, rectal prolapse and sciatic nerve paralysis (Ribeiro, 2010; Moreira *et al.* 2020). Relapses usually occur in animals with more severe preoperative signs and in those with bilateral involvement. Complementary tests were requested to investigate the cause of the hernia: TSH, free T4, total T4, T3, fructosamine and glycated hemoglobin. These tests aim to evaluate the amount of hormones available in the bloodstream for possible use by tissue organs, to assess whether hormone production is within the standards to provide energy for metabolic activities. These tests aim to evaluate the amount of hormones available in the bloodstream for possible use by tissue organs, to assess whether hormone production is within the standards to provide energy for metabolic activities.

The material chosen for the correction procedure was the polypropylene mesh. The use of the mesh is more viable both for its low cost and for the response in the correction of hernias. As it is woven with monofilament thread and interspersed with pores, it allows the infiltration of fibroblasts and also stimulates and allows the production of collagen, which offers a less aggressive inflammatory response. According to Silva *et al.* 2019, the polypropylene mesh still has an inexpressible level of reactivity, low potential for bacterial adhesion and even when placed in a highly contaminated environment, the mesh accepts full incorporation by granulation tissue. In this way, the material will remain in place for an indefinite period, which guarantees the fundamental and necessary mechanical barrier to prevent the animal from having a hernia recurrence again after this surgical correction.

CONCLUSION

The technique, traditional suture with nylon thread, associated with orchiectomy is a possible method of treatment for the case of perineal hernia reported in a dog, and may be indicated for routine use of this type of problem. The most frequent clinical signs are tenesmus, constipation, and perineal swelling. For an adequate and accurate diagnosis, the physical examination must include rectal palpation, and radiographic and ultrasound examinations may also be necessary, as in this case. In cases of recurrence, complementary methods are used to correct the hernia, such as the use of polypropylene mesh, which proved to be more viable due to its low cost and the response in the correction of hernias, allowing the infiltration of fibroblasts, that stimulates and allows the production of collagen.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

ACKNOWLEDGMENTS

Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), Maranhão Foundation for Support to Scientific and Technological Research and Development (FAPEMA), National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

FUNDING SOURCES

This investigation took place with the authors' own resources.

REFERENCES

- Aronson LR. 2017. Rectum Anus Perineum. In: Tobias KM, Johnston SA. *Veterinary surgery: small animal*. 2nd Ed. St. Louis: Elsevier Saunders. pp. 4821-4947.
- Assumpção TCA. 2016. Estudo crítico retrospectivo das técnicas de herniorrafia perineal em cães. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. Available in: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10137/tde-17102016-145508/>.
- Barreau P. 2008. Perineal hernia: three steps in one surgery: pexy, sterilisation, repair. In: *The 33rd World Congress in Small Animal Veterinary Medicine–WSAVA* (Dublin, Ireland). 1 CD ROM.
- Bastos ELS, Fagundes DJ, Taha MO, Novo NF, Silvano RAB. 2005. Peritônio bovino conservado na correção de hérnia ventral em ratos: uma alternativa para tela cirúrgica biológica. *Rev. Col. Bras. Cir.* 32(5):256-260. <https://doi.org/10.1590/S0100-69912005000500007>.
- Bellenger CR, Cafield RB. 2007. Hérnia perineal. In: *Slatter DBV. Manual De Cirurgia De Pequenos Animais*. 3 ed. Manole.
- Bojrab MJ, Toomey A. 1981. Perineal herniorraphy. *Compendium on continuing education for the practising veterinarian*. 8:8-15.
- Brito KCD. 2020. Relatório de estágio curricular obrigatório em medicina veterinária: Universidade de Caxias do Sul. Área do conhecimento de ciências da vida curso de medicina veterinária, clínica médica e cirurgia de pequenos animais. Available in: <https://repositorio.ucs.br/11338/6596>.
- Conci FK. 2017. Estudo retrospectivo de herniorrafia perineal realizadas em cães. *Hospital de clínicas veterinárias da UFRGS*.
- Crane SW. 2014. Orquiectomia de testículos descidos e retidos no cão e no gato. In: Bojrab MJ, Waldron DR, Toombs JP. 2014. *Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais*. 5 ed. Editora Tenton NewMedia. pp. 540-545.
- Ferraz REO, Rodrigues IR, Macedo HJR, Albuquerque AH, Feitosa AS, Freitas VML, Oliveira ALA. 2017. Hérnia perineal complicada com envolvimento de intestino e bexiga em cão: Relato de caso. *PUBVET*. 11(9):882-888. Doi: [10.22256/PUBVET.V11N9.882-888](https://doi.org/10.22256/PUBVET.V11N9.882-888).
- Fernandes K. 2019. Programa de residência em medicina veterinária tratamento cirúrgico e manejo de complicações relacionadas a hérnia perineal em um cão. Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages, SC.
- Fossum TW. 2014. *Cirurgia de pequenos animais*. Elsevier brasil, são Paulo. 4 ed.
- Junior ACCL. 2012. Aspectos ultrassonográficos e citopatológicos das prostatopatias em 52 cães. *Biotemas*. 25(1):137-149. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2012v25n1p137>
- König HE. 2011. Anatomia Topográfica. In: König HE, Liebich HG. *Anatomia Dos Animais Domésticos*. 4^a Ed. Artmed. pp. 667- 727.
- Marques DRC, Russo C, Ibañez JF. 2015. Utilização de pericárdio bovino conservado em glicerina 98% na herniorrafia perineal em cães–relato de 12 casos. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*. 18(3):185-190. <https://doi.org/10.25110/arqvet.v18i3.2015.5540>
- Moreira S, Silva FL, Silva CRA, Ferreira ASHCA, Chaves LDCS, Santos LP. 2020. Hérnia perineal bilateral em uma gata: relato de caso. *Pubvet*.

- 14:128. [https://doi.org/ 10.31533/pubvet.v14n1a499.1-4](https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n1a499.1-4)
- Moresco BN, Gonçalves GF. 2019. Digital radiography and ultrasonography in evaluation of the canine prostate. *Semina: ciências agrárias*. 40(2):677-686. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n2p677>
- Oliveira KM, Muzzi LAL, Torres BBJ, Alves EGL, Sampaio GR, Muzzi RAL. 2010. Estudo comparativo entre três técnicas abertas de orquiectomia em gatos. *Acta scientiae veterinariae*. 38: 177-183.
- Paulo NM, Silva MAM, Conceição M. 2005. Biomembrana de látex natural (*Hevea brasiliensis*) com polilisina a 0,1% para herniorrafia perineal em um cão. *Acta Scientiae*. 33:79-82.
- Penaforte Junior MA, Aleixo GAS, Maranhão FECB, Andrade LSS. 2015. Hérnia perineal em cães: revisão de literatura. *Medicina veterinária (UFRPE)*. 9(1):26-35.
- Rahal M. 2005. Hérnia perineal em cães. *Ciência rural*. 35(5): 1220-1228. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000500040>.
- Rego RO, Henrique FV, Felipe GC, Medeiros LKG, Araujo SB, Júnior AGO, Alves AP, Neto JMC, Neto PIN. 2016. Tratamento cirúrgico da hérnia perineal em cães pela técnica de elevação do músculo obturador interno e reforço com cartilagem auricular suína ou tela de polipropileno. *Revista Brasileira De Medicina Veterinária*. 38:99-107.
- Ribeiro J. 2021. Hérnia perineal em cães: avaliação e resolução cirúrgica. *Revista lusófona de ciência e medicina veterinária Faculdade de Medicina Veterinária – ULHT*. 3:2-9.
- Serafini GMC, Guedes RL, Müller DCM, Schossler JEJ. 2011. Hérnia perineal pós parto em cadela. *Revista científica eletrônica de medicina veterinária*. 9(19):1-13.
- Silva HF, Ferraz REO, Silva MC, Vago PB. 2019. Correção de hernia perianal em cão utilizando tela de polipropileno. *Ciência Animal*. 29(4):135-144.
- Towle HA. 2012. Testes and Scrotum. In: Tobias KM, Johnston SA. *Veterinary Surgery Small Animal*. Elsevier. pp.1903-1916.
- Zerwes MBC, Stopiglia AJ, Matera JM, Fantoni DT, Sterman FA, Lacerda PMO. 2011. Avaliação do tratamento cirúrgico da hérnia perineal em cães com o reforço de membrana de pericárdio equino preservado em glicerina a 98%. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci*. 48(3):220-227. <https://doi.org/10.11606/S1413-95962011000300006>.

Forma de citación del artículo:

Satie Nakaza B, Rodrigues Silva AC, Alves de Brucker AL, Mesquita Grangeiro D, Carnauba Vicente PU, Cirqueira dos Santos J, Carvalho Viana D. 2022. Unilateral perineal hernia surgery. Case report. *Rev Med Vet Zoot*. 69(3):325-333. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v69n3.103809>

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES Y CONSIDERACIONES ÉTICAS

Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia

Alcance: La Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia publica artículos de investigación, de revisión, reportes de caso y ensayos científicos de todas las áreas de la medicina veterinaria y la zootecnia.

La temática que aborda la revista se encuentra incluida dentro de la gran área 4 de las Ciencias Agrícolas, 4B área de Ciencias animales y lechería, 4B01 Ciencias animales y lechería (biotecnología animal en 4.D), 4B02 Crías y mascotas, 4C01 Ciencias Veterinarias, según la clasificación de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE).

Frecuencia de publicación: Cuatrimestral (3 números por año). Para el envío de manuscritos a consideración del comité editorial de la revista es indispensable cumplir con los siguientes requisitos:

1. Los artículos deben ser inéditos y no deben haber sido publicados o sometidos a consideración en otras revistas o publicaciones técnico-científicas (excepto cuando hayan sido publicados como tesis de grado o como resumen en un congreso). Enviar simultáneamente un mismo artículo a consideración de dos o más revistas es una falta grave a la ética académica.
2. Los autores transfieren los derechos de publicación a la revista, tanto en su versión impresa como en línea, incluyendo esta última las diferentes bases de datos en las que se encuentre indexada la revista.
3. La publicación del artículo debe haber sido aprobada por todos los coautores (si aplica) y por las autoridades responsables de la institución donde se llevó a cabo la investigación. Para esto es requisito diligenciar y enviar junto con el manuscrito el “[Formato datos personales autores](#)” y “[Formato autorización para publicación](#)”. El autor de correspondencia es responsable de toda la información solicitada por la revista y debe garantizar que el artículo cuente con todas las aprobaciones institucionales necesarias.
4. El documento debe cumplir a cabalidad con las instrucciones para autores establecidas por el comité editorial descritas en este documento “[instrucciones para los autores](#)” que pueden también ser consultadas en la página de Internet <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remezvez/index>. Los artículos que no se ajusten a estas pautas serán devueltos los autores sin haber sido considerados para evaluación.
5. Después de que el manuscrito es aceptado para publicación, es una condición para la publicación que los autores apoyen y agilicen la corrección y diagramación del manuscrito en los tiempos estipulados por la Revista. Todas las consultas sobre la publicación de manuscritos deben dirigirse al correo rev_fmvezbog@unal.edu.co
6. Los autores deben revisar cuidadosamente la lista y el orden de los autores antes de enviar su manuscrito y antes de entregar el “[Formato autorización para publicación](#)”. No se aceptará adición o eliminación de autores excepto en casos en los que se demuestre una justificación jurídica o ética aplicable y solo si lo aprueba el Editor de la revista.

TIPOS DE CONTRIBUCIÓN

La revista acepta los siguientes tipos de contribuciones originales: **Artículo científico:** artículo científico original que presenta los resultados de investigaciones que se rigen bajo el método científico. Típicamente consta de las siguientes secciones: resumen, introducción, metodología (materiales y métodos), resultados y discusión y conclusiones.

Reporte de caso: reporte de un caso clínico de relevancia, ya sea por ser el primero en su contexto específico o por sus características particulares que lo hacen de interés para la comunidad científica y

por ende publicable. Debe contener al menos las siguientes secciones: resumen, introducción, descripción del caso (que involucra la respectiva discusión) y conclusión o perspectivas. El formato general del texto, las ilustraciones y las referencias deben seguir las mismas normas exigidas para los artículos de investigación.

Artículo de revisión: revisión crítica de un tema específico desde una perspectiva analítica, interpretativa y crítica del autor, que recurre siempre a fuentes originales. Para este tipo de manuscritos, dentro de la lista de autores al menos un autor debe tener la experiencia investigativa demostrada en el tema o en el área que concierne al artículo. Idealmente una revisión debe presentar un resumen crítico de las investigaciones hasta ahora realizadas y proponer nuevos temas por investigar. Debe contener al menos las siguientes secciones: resumen, introducción, metodología, desarrollo del tema y conclusiones. Se recomienda que el desarrollo del tema contenga subsecciones que permitan la presentación ordenada del asunto a exponer. El texto debe estar citado correctamente y debe contener las opiniones, reflexiones o contribuciones de los autores que tienen experiencia en el tema. Además de someterse al mismo nivel riguroso de revisión científica por pares académicos externos, como los artículos de investigación, los artículos de revisión serán criticados en función del impacto general al tema que se está revisando, la relevancia, actualidad, las revisiones preexistentes del tema y el reconocimiento de al menos uno de los autores como una figura significativa en el área. El formato general del texto, las ilustraciones y las referencias deben seguir las mismas normas exigidas para los artículos de investigación. Los artículos de revisión se publicarán en el orden de aceptación por la revista, teniendo en cuenta que máximo se publicará 1 artículo de revisión por número. Esto implica que la revista publicará máximo 3 artículos de revisión por año.

REMISIÓN DE MANUSCRITOS

Las contribuciones deben ser sometidas por la plataforma de la revista en la página: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remezvez/index>. El autor de correspondencia deberá registrarse previamente con usuario y contraseña para poder ingresar y subir la información y archivos del manuscrito y la información de todos los autores.

Todos los autores deben contar identificador ORCID para el momento de ingresar sus datos a la plataforma. Este registro no tiene ningún valor asociado. Para la creación del ORCID se puede ingresar al siguiente link: <https://orcid.org/register> Junto con el manuscrito se deben adjuntar el “[Formato datos personales autores](#)” (uno por autor) y “[Formato autorización para publicación](#)”, que deberá ser firmado por todos los autores. Los formatos podrán ser descargados desde la página de la revista: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remezvez/index>.

Formato

El texto del artículo debe enviarse en MS-Word®, sin incluir tablas ni figuras, las cuales deben presentarse en archivos separados. El texto debe tener máximo 25 páginas en tamaño carta incluida la bibliografía, figuras y tablas. Las páginas deben estar numeradas consecutivamente en el lado inferior derecho, con márgenes de 2,5 cm por cada lado, a doble espacio, con fuente Times New Roman, tamaño de 12 puntos, y cada línea del documento deberá estar enumerada consecutivamente (en MS-Word®: Diseño de página/Números de línea/Continua). Las tablas y las figuras (fotografías, gráficos, dibujos, esquemas, diagramas de flujo, diagramas de frecuencia, etc.) deberán enumerarse consecutivamente en números arábigos, y además de enviarse separadas en un archivo MS-Word® deberán incluirse los archivos originales (por

ejemplo, jpg o MS-Excel*), de acuerdo con el programa con el que hayan sido elaboradas. Todas las tablas y figuras deben haber sido citadas en el texto y deben tener las fuentes de consulta en los casos que corresponda.

Página Inicial con título del manuscrito, nombre y filiación de autores

El título del manuscrito se debe presentar en una página separada del resto del manuscrito, en español (o portugués) y en inglés (obligatorio), en negrilla y centrado. Si incluye nombres científicos se deberá usar nomenclatura binomial. Cuando corresponda, el título debe informar la especie animal a la que hace referencia el manuscrito. Bajo el título se escriben los nombres y apellidos de los autores de la siguiente manera: iniciales de los nombres (con punto), seguidos del primer apellido completo, sin títulos académicos ni cargos laborales y separando cada autor con una coma. El autor para correspondencia debe identificarse con un asterisco. Como pie de página debe indicarse la filiación institucional de cada autor (Universidad, Facultad, departamento, grupo de investigación) incluyendo la dirección, ciudad y país, y la dirección de correo electrónico del autor para correspondencia.

Manuscrito

Debe contener el título del manuscrito en español (o portugués) y en inglés (obligatorio), en negrilla y centrado **sin nombre de los autores ni filiaciones**. Adicionalmente, el manuscrito debe contener las siguientes secciones en orden:

Resumen y palabras clave

Los artículos deben incluir un resumen en español (o portugués) y uno en inglés, de no más de 250 palabras. El resumen debe registrar brevemente todas las partes del documento: los propósitos del estudio o investigación, materiales y métodos (selección de los sujetos del estudio o animales de laboratorio; métodos de observación y de análisis), resultados y discusión (consignando información específica o datos y su significancia estadística siempre que sea posible), y las conclusiones principales. Deberán destacarse las observaciones y aspectos más novedosos y relevantes del estudio. Las palabras clave (máximo cuatro) son términos para indexación del artículo en las bases de datos y los buscadores de Internet. Estas deben identificar el contenido del artículo y se deben colocar después del resumen en su correspondiente idioma. Para seleccionar las palabras clave del documento, se sugiere consultar y usar los **descriptores del tesoro agrícola multilingüe Agrovoc**, creado por la FAO, el cual abarca terminología de la agricultura, silvicultura, pesca, medioambiente y temas afines <http://www.fao.org/agrovoc/es> o los **Descriptores en Ciencias de la Salud** <https://decs.bvsalud.org/E/homepagec.htm> y <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>. Estas herramientas permiten seleccionar las palabras clave adecuadas para que el artículo sea difundido de forma más efectiva en Internet.

Introducción

Debe presentar una breve revisión de los trabajos previos relacionados con el tema por investigar y finalizar con la justificación y los objetivos de la investigación. La introducción no incluirá resultados o conclusiones del trabajo que se está publicando.

Materiales y métodos

En esta sección se deben describir de forma clara, concisa y secuencial, los materiales (animales, implementos de laboratorio) utilizados en desarrollo del trabajo, además de los procedimientos o protocolos seguidos y el diseño experimental escogido para el tratamiento estadístico de los datos. La información aquí consignada debe permitir a otros investigadores reproducir el experimento en detalle. Este apartado puede tener subtítulos y no debe incluir ningún resultado ni discusión de los hallazgos. En la sección de materiales y métodos se debe declarar la aprobación del estudio por parte del *Comité de Ética para experimentación con animales* al cual fue sometida la investigación antes de su

ejecución. Indicar nombre del comité de ética, fecha, número de acta de aprobación.

Resultados y discusión

En esta sección se deben describir los resultados en orden lógico y de manera objetiva y secuencial, apoyándose en las tablas y figuras. Este apartado puede también incluir subtítulos y no debe discutir los datos presentados. La discusión debe ser una síntesis de la confrontación de los datos obtenidos en el estudio con respecto a la literatura científica relevante (citando solo los principales estudios realizados en el tema) que además interprete las similitudes o los contrastes encontrados. Se enfocará hacia la interpretación de los hallazgos experimentales y no repetirá los datos e información presentados en la introducción ni en los resultados. Los resultados y discusión deben ser presentados en la misma sesión de forma ordenada, discutiendo cada resultado después de ser presentado.

Conclusiones

En esta sección se relacionan los hallazgos más relevantes de la investigación, es decir, aquellos que constituyan un aporte significativo para el avance del campo temático explorado, además de considerar un direccionamiento sobre futuras investigaciones.

Conflicto de intereses. Ocurren cuando se puede percibir razonablemente que cuestiones ajenas a la investigación afectan la neutralidad u objetividad del trabajo o su evaluación. Los autores deberán declarar no tener relaciones de interés comercial o personal dentro del marco de la investigación que condujo a la producción del manuscrito sometido. El autor de correspondencia es responsable de que los coautores revisen y declaren que no tienen conflicto de intereses.

Reconocimientos/Fuentes de financiación. Se deben describir los tipos de apoyo recibido tales como financiación, patrocinios, becas o suministro de equipos, entre otros. Por ejemplo: "Este trabajo fue apoyado por el Consejo de Investigación en Ciencias Naturales [Número de proyecto- Acta]."

Agradecimientos

En esta sección se agradece por las contribuciones importantes en cuanto a la concepción, o realización de la investigación: especialistas, firmas comerciales, entidades oficiales o privadas, asociaciones de profesionales y auxiliares de campo y laboratorio.

Referencias

La citación de referencias bibliográficas que sustentan frases dentro del texto se debe ceñir a las normas de estilo del Council of Science Editors (CSE) algunas de las cuales se muestran a continuación: dentro del texto se hará uso del sistema "autor(es) año" si se trata de uno o dos autores: (Jiménez 2009), (Pineda y Rodríguez 2010); si la publicación citada tiene tres o más autores, se cita el apellido del primer autor acompañado de la expresión latina *et al.*: (Bernard *et al.* 2003). Si se citan varias referencias seguidas, deberán organizarse en orden alfabético, separadas por punto y coma (;): (Hänsel y Gretel 1990; Hergé *et al.* 1983). Si el autor o autores se citan directamente en el texto se utiliza la misma notación, pero con el año entre paréntesis: Ejemplo: Wagner (1982) encontró que el agua es vida, mientras que Vivaldi y Pergolesi (1988) afirman lo contrario. Los investigadores Magendiendav *et al.* (1845) descubrieron que los perros pueden recibir terapias homeopáticas.

Las referencias bibliográficas completas van al final del artículo en orden alfabético de autores; si en la lista de referencias se citan varias publicaciones del mismo autor o autores se listan en orden cronológico desde la más antigua hasta la más reciente. Todas las referencias de artículos científicos deben tener indicado al final el "Digital Object Identifier" (DOI) si el artículo lo tiene asignado por una revista. No es recomendable el uso de otras fuentes de información como tesis, trabajos de grado o memorias de eventos. Se anima a los autores a usar como fuente de consulta documentos

que estén en bases de datos indexadas y preferiblemente que tengan DOI asignado.

Las contribuciones que no cumplan con las normas de estilo bibliográfico serán devueltas sin ser consideradas para evaluación. Para obtener más ejemplos sobre el sistema de citación del Council of Science Editors (CSE) recomendamos remitirse al siguiente enlace: <http://www.scientificstyleandformat.org/Tools/SSF-Citation-Quick-Guide.html>

Libros

Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P. 1990. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th ed. New York: Pergamon Press. 1811 p.

Capítulos de libro

Diaz GJ. 2001. Naturally occurring toxins relevant to poultry nutrition. En: Leeson S, Summers JD, editores. Scott's Nutrition of the Chicken. 4th ed. Guelph: University Books. p. 544-591.

E-Book

Rollin, BE. 1998. The unheeded cry: animal consciousness, animal pain, and science [Internet]. Ames(IA): Iowa State University Press; [Citado 2008 agosto 9]. Disponible en: <http://www.netlibrary.com>.

Artículo de revista

Hepworth PJ, Nefedov AV, Muchnik IB, Morgan KL. 2010. Early warning for hock burn in broiler flocks. Avian Pathol. 39:405-409. <https://doi.org/10.1080/03079457.2010.510500>
Nota: se deben anotar las iniciales de todos nombres que tengan los autores. Los nombres de las revistas se deben registrar en su forma abreviada; para consultar el nombre abreviado de las revistas sugerimos consultar el ISI Journal Title Abbreviations: http://www.zxlei.cn/science/isi/M_abrvjt.html

Artículo de revista o información publicada únicamente en forma electrónica

Leng F, Amado L, McMacken R. 2004. Coupling DNA supercoiling to transcription in defined protein systems. J Biol Chem [Internet]. [citado 2007 July 24]; 279(46):47564-47571. Disponible en: <http://www.jbc.org/cgi/reprint/279/46/47564>

Tablas

- Se deben evitar las tablas demasiado grandes. Si se tienen muchos datos en una tabla, se recomienda dividirla en dos o más.
- Cada tabla debe tener un título corto y explicativo en la parte superior, sin abreviaturas.
- No deben emplearse líneas verticales para separar las columnas y, por tanto, debe existir suficiente espacio entre ellas.
- Cualquier explicación esencial para entender la tabla debe presentarse como una nota en la parte inferior de esta.
- Los encabezados de columna deben ser breves, pero suficientemente explicativos.
- Cada tabla debe haber sido referenciada en el texto.
- Todas las tablas deben indicar la fuente de la información, sino se declara la fuente, se asume que son el resultado del trabajo que está siendo publicado.

Figuras

- Las gráficas deben ser a una sola tinta con porcentajes de negro para las variaciones de las columnas, las líneas de las curvas deben ser de color negro, puntuadas o continuas usando las siguientes convenciones: ▲, ■, ●, ◆, ◇, ○, □, △.
- En caso de fotografías o mapas (originales o escaneados) estos deben enviarse en archivos independientes, en formato tiff o jpg con un mínimo de 600 dpi de resolución y adicionalmente dentro de un archivo MS-Word® en el que se incluya su título (corto y explicativo) en la parte inferior.
- Al igual que las tablas, deben enumerarse con números arábigos en forma consecutiva, y debe hacerse referencia en el texto a cada una de las figuras presentadas.

- Cada figura debe tener un título corto y explicativo en la parte superior, sin abreviaturas
- Todas las figuras deben indicar la fuente de la información, de no declararse la fuente, se asume que son el resultado del trabajo que está siendo publicado.

Nomenclatura

- Las unidades deben expresarse de acuerdo con el Sistema Métrico Decimal (SI).
- Los autores aceptarán la normatividad colombiana, así como la trazada por el *International Code of Botanical Nomenclature*, el *International Code of Nomenclature of Bacteria*, y el *International Code of Zoological Nomenclature*.
- Toda la biota (cultivos, plantas, insectos, aves, mamíferos, peces, etc.) debe estar identificada en nomenclatura binomial (nombre científico), a excepción de los animales domésticos comunes.
- Todos los medicamentos, biocidas y demás sustancias de uso comercial deben presentar el nombre de su principio activo principal o nombre genérico.
- Para la nomenclatura química se usarán las convenciones determinadas por la *International Union of Pure and Applied Chemistry* así como por la *Comisión on Biochemical Nomenclature*.

NORMAS DE ESTILO

- Se debe redactar en voz activa (se evaluaron dos metodologías, y no: dos metodologías fueron evaluadas) y en forma impersonal, es decir, tercera persona del singular (se encontró, y no: encontré o encontramos).
- En cuanto a los tiempos verbales, el uso común es el pasado para la introducción, procedimientos y resultados, y el presente para la discusión.
- En general, se recomienda evitar el uso del gerundio. Recurra a esta forma verbal solo para indicar dos acciones simultáneas; en los demás casos, redacte diferente la frase (reemplazar: un protocolo fue establecido, minimizando el efecto negativo..., por: se estableció un protocolo con el cual se minimizó el efecto negativo...).
- Las letras cursivas o itálicas se usan para los nombres científicos (sistema binomial) y palabras o expresiones en idioma extranjero.
- El significado de las siglas y abreviaturas debe explicarse cuando se mencionan por primera vez en el texto. Posteriormente, se debe usar solamente la sigla o abreviatura.
- Las siglas no tienen forma plural; este se indica en las palabras que la acompañan: las ONG, dos Elisa.
- Las abreviaturas del SI no deben ir con punto, en plural o en mayúscula: 1 kg, 25 g, 10 cm, 30 m, etc. Consulte el SI en: <https://bit.ly/3n5W8Qp>
- Entre el valor numérico y el símbolo debe ir un espacio: 35 g (no 35g), p > 12 (no p>12); excepto para los signos: °C, %, +, - (estos dos últimos cuando indican positivo y negativo). Ejemplos: 99%, +45, -37.
- En una serie de medidas, el símbolo va al final: hileras a 3, 6 y 9 m, o 14, 16 y 18%.
- La barra oblicua (/) es un signo lingüístico que en alguno de sus usos significa "por": tres perros/perrera, 4 tabletas/día, 2 l/matera, 10 frutos/rama. Uno de sus usos no lingüísticos es expresar los cocientes de magnitudes y unidades de medida: 80 km/h, 10 ml/min, 10°C/h.
- Uno de los usos no lingüísticos del punto (·) es indicar la multiplicación de dos cantidades, caso en el que se coloca separado de estas y a media altura: 6 · 3 = 18; 2 · (x + y) = 30.
- El punto (.) se usa para separar los miles y la coma (,) se usa para separar decimales.
- Las unidades que se basan en nombres se usan en minúsculas: un siemens (con algunas excepciones como cuando el símbolo se deriva de un nombre propio: °C, grados Celsius).

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Autoría. Se considera autor a todo aquel que haya realizado una contribución directa y sustancial al contenido del manuscrito. Esta contribución debe incluir su participación en aspectos tales como la concepción del ensayo y del diseño experimental, la obtención de los datos crudos, el análisis de los datos y la interpretación de los resultados, la aplicación del modelo estadístico apropiado, la redacción del manuscrito y la investigación bibliográfica asociada, la validación de datos, escritura, revisión y edición. Cada autor deberá estar en capacidad de explicar su participación directa en la publicación y de sustentar el contenido de la misma ante el Comité Editorial en caso de ser requerido. La inclusión de autores honorarios (contribución autoral impropia) se considera un comportamiento no ético. La declaración de la contribución de cada autor en el manuscrito debe ser declarada en el documento denominado “Formato información personal de autores”. No se aceptará adición o eliminación de los autores excepto en casos en los que se demuestre una justificación jurídica o ética aplicable y solo si lo aprueba el Editor de la revista.

Aprobación de comité de Ética:

Toda investigación que utilice animales en su experimentación, deberá declarar en el manuscrito, en la sección de materiales y métodos, la aprobación de un **Comité de Ética** para experimentación con animales (nombre del comité de ética, acta y fecha de aprobación) del estudio realizado.

Sometimiento de manuscritos. Los documentos sometidos para evaluación y posible publicación no deberán ser presentados simultáneamente a otra revista (o revistas). Esto invalida su originalidad y compromete los derechos sobre su publicación.

Integridad de la investigación. La fabricación o falsificación de resultados a través de la manipulación de equipos, materiales o procesos de investigación, el cambio u omisión de datos y resultados, el plagio (mención de los resultados propios o de otros sin hacer claridad de ello de acuerdo con las normas de citación bibliográfica) o la publicación fragmentada (someter fragmentos de una investigación en forma de artículos independientes), son comportamientos no éticos e inaceptables.

Evaluación de artículos. Los evaluadores solo aceptarán la revisión de aquellos manuscritos cuyo tema sea de su completo dominio. Se espera una opinión objetiva desde el punto de vista académico y científico, alejada de condicionamientos personales. Durante todo el proceso, el evaluador conservará la confidencialidad total del contenido del manuscrito y no deberá transferir la responsabilidad asignada a un tercero (coinvestigador, estudiante de posgrado u otros). Si durante el periodo de revisión el evaluador considera que tiene algún impedimento de tipo ético o conflicto de intereses deberá suspender la evaluación y así comunicarlo al Comité Editorial.

Ética en el proceso de publicación

Los Editores se comprometen a identificar y evitar la publicación de artículos en los que se haya producido una mala conducta en la investigación. Se consideraría una falta grave de ética si la editorial permite la publicación de artículos en los que se ha identificado alguna situación de mala conducta. Por ello, los Editores utilizarán las herramientas disponibles para identificar este tipo de situaciones, incluida la aplicación de software destinado a identificar el plagio en cada manuscrito recibido. El Comité Editorial rechazará de inmediato cualquier manuscrito que haya sido identificado como involucrado en algún tipo de mala conducta científica, reportando las pruebas correspondientes a los autores. En cualquier caso, el autor debe tener la oportunidad de responder a cualquier denuncia.

Los Editores de la revista se asegurarán de que se cumplan las buenas prácticas editoriales descritas en esta declaración. Se trata de un compromiso institucional que involucra no solo a la revista en sí, sino también al nombre y prestigio de la “Universidad Nacional de Colombia” como editorial.

Cuando sea necesario, los Editores publicarán las correcciones, aclaraciones, retractaciones y disculpas.

Revisión por pares:

Todos los manuscritos que sean sometidos a la revista deberán cumplir con las normas de presentación, estilo y citación propias de la revista descritas en este documento (“Instrucciones para los autores”). En caso contrario, los documentos serán devueltos y el proceso de búsqueda y asignación de evaluadores externos será aplazado hasta que los autores hayan hecho los ajustes pertinentes. En primera instancia los manuscritos sometidos serán revisados por el editor de la revista para determinar si entran dentro del área temática de la publicación, en caso afirmativo se aprobará la asignación y envío a pares evaluadores externos mediante la modalidad de doble ciego con cuando menos dos evaluadores por manuscrito; en caso contrario, se enviará un email a los autores indicando que el artículo no es aceptado para continuar con el proceso de revisión por pares académicos.

La evaluación por pares académicos externos procurará identificar los aportes a la innovación científica tecnológica o pedagógica de las propuestas, frente al estado vigente de conocimiento en una disciplina; los jurados deben emitir un concepto de aprobación, modificación o reprobanación y en caso de un concepto dividido por parte de los evaluadores, el manuscrito será enviado a un tercer evaluador experto en el área para definir si se acepta o se rechaza el manuscrito. El Comité editorial o el editor en jefe, podrán recomendar o negar la publicación del manuscrito, o solicitar la corrección de forma o de fondo del mismo.

Los criterios considerados durante la evaluación serán:

- Cumplimiento de las normas de estilo de la revista
- Pertinencia de contenido: los textos deberán abordar las cuestiones que resulten relevantes de manera directa o indirecta, para la comprensión de alguna de las disciplinas de la salud y la producción animal.
- Originalidad, novedad, relevancia del tema.
- Calidad científica: Se deben usar metodologías apropiadas al tema estudiado, ser comprensibles y posibles de reproducir.
- Rigor argumental: los trabajos deberán tener un pensamiento formal coherente y lógico.
- Coherencia metodológica: concordancia entre el planteamiento del problema, los objetivos, resultados e interpretaciones.
- Claridad conceptual: correspondencia entre términos científicos o técnicos empleados en la finalidad temática.
- Si los artículos son aceptados para publicación, los autores deberán corregirlos de acuerdo con las observaciones de los pares y/o del comité editorial dentro del tiempo otorgado para ello. Las observaciones que no sean aceptadas por los autores deberán contar con un sustento apropiado y enviadas en un documento adjunto al manuscrito corregido indicando la página y el número de línea al que hace referencia, estos cambios y aclaraciones serán evaluados por el editor correspondiente. El editor y el comité editorial se reservan el derecho de rechazar o aceptar los materiales enviados para su publicación.

Los formatos para realizar la revisión académica de artículos se pueden descargar en los siguientes enlaces:

- [Formato de datos personales evaluadores](#)
- [Formato evaluación artículo de investigación](#)
- [Formato evaluación artículo de revisión](#)
- [Formato evaluación reporte de caso](#)

Derechos de autor:

Aquellos autores/as que tengan publicaciones con esta revista, aceptan los términos siguientes:

- Los autores/as conservarán sus derechos de autor y de publicación y garantizarán a la revista el derecho de primera publicación de su obra, el cual estará simultáneamente sujeto a la [Licencia de reconocimiento de Creative Commons](#) que permite a terceros

compartir la obra siempre que se indique su autor y su primera publicación (esta revista).

b) Los autores/as podrán adoptar otros acuerdos de licencia no exclusiva de distribución de la versión de la obra publicada (p. ej.: depositarla en un archivo telemático institucional o publicarla en un volumen monográfico) siempre que se indique la publicación inicial en esta revista.

c) Se permite y recomienda a los autores/as difundir su obra a través de Internet (p. ej.: en archivos telemáticos institucionales o en su página web), lo cual puede producir intercambios interesantes y aumentar las citas de la obra publicada. (Véase [Que es el acceso abierto- UNESCO](#)).

d) Las tablas y figuras que no indiquen en su parte inferior la fuente de la información se consideran resultados del estudio que está siendo publicado, es decir, que fueron elaborados por los autores del manuscrito basados en la información obtenida y procesada en la investigación, reporte de caso, etc que está siendo publicado.

Autorización de publicación y acuerdo editorial

Una vez sometidos los manuscritos, los autores/as confieren a la dirección editorial de la Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia en su versión impresa (ISSN 0120-2952) y en su versión online (ISSN 2357-3813) la autorización para su publicación de acuerdo a los criterios establecidos en el ["Formato autorización para Publicación"](#) que deberán firmar todos los autores.

Declaración de privacidad y Política de tratamiento de datos personales

La información y datos personales solicitados en el proceso editorial se usarán exclusivamente para los fines propios de la revista, como los procesos de indexación ante Publindex de Minciencias y no estarán disponibles para ningún otro propósito u otra persona. Los datos personales serán tratados de acuerdo a la Política de tratamiento de datos de la Universidad Nacional de Colombia. Para mayor información consultar el siguiente link:

<https://unal.edu.co/tratamiento-de-datos-personales.html>

GUIDE FOR AUTHORS AND ETHICAL CONSIDERATIONS

Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia

The *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia* publishes research articles, review and case reports in all areas of veterinary medicine and animal science.

The topic addressed by the journal is included within the Agricultural Sciences area, Animal and dairy sciences area, animal biotechnology, Veterinary Sciences area, according to the classification of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD).

Publication frequency: Quarterly (3 issues per year).

For manuscript submission to the editorial committee of the journal it is necessary to comply with the following requirements:

1. Contributions must be original and must not have been submitted to any other journal (except when they have been published as theses or as abstracts in a congress).
2. The authors transfer all publication rights to the journal, in both printed and electronic versions. Electronic versions include all databases where the journal has been indexed.
3. The article publication must have been approved by all coauthors and by the authorities where the research took place. It is a requirement to fill out and send together with the manuscript the forms: "Author information form" and "Publication agreement form". The corresponding author is responsible for all the information requested by the journal and must ensure that the article has all the necessary institutional approvals.
4. The submission must comply with all requirements described in the present document which can also be downloaded from the journal web site: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/remevez/index>. Submissions that do not comply with these requirements will be returned to the authors without consideration for evaluation.
5. After the manuscript is accepted for publication, it is a condition that the authors support and expedite the manuscript correction in the times stipulated by the Journal. All inquiries about the publication of manuscripts should be directed to the email rev_fmzbog@unal.edu.co
6. Authors should carefully review the list and the order of the authors before submitting their manuscript and before submitting the "Authors Declaration Form". The addition or deletion of authors will not be accepted except in cases in which an applicable legal or ethical justification is demonstrated and only if approved by the Journal Editor.

TYPES OF CONTRIBUTIONS

The journal accepts the following types of original contributions:
Scientific article: original scientific paper reporting the results of a research conducted under the scientific method. It typically contains the following sections: Abstract, introduction, materials and methods, results and discussion (either individually or combined) and conclusions.

Case report: report of clinical cases that become relevant and publishable due to their specific context. It must contain at least the following sections: Abstract, introduction, description of the case (which involves the discussion) and conclusion or perspectives. The general format of the text, illustrations and references should follow the same standards required for research articles.

Review article: critical review of a specific topic from an analytical, interpretative and critical perspective of the author, who always uses original sources. For this type of manuscript, within the list of authors at least one author must have proven research experience in the subject or area that concerns the article. Ideally, a review should present a critical summary of the research carried out so far and propose new topics to be investigated. It must contain at

least the following sections: summary, introduction, methodology, development of the topic and conclusions. The development of the topic must contain subsections to present the ideas in order. The text must be correctly cited and must contain the authors opinions as a contribution to the manuscript. In addition to undergoing the same rigorous level of academic peer review as research articles, review articles will be critiqued based on the overall impact of the topic being reviewed, the relevance of the topic, pre-existing reviews and the recognition of the authors in the area. The general format of the text, illustrations and references should follow the same standards required for research articles. Review articles will be published in the order of acceptance by the journal, a maximum of 1 review article per issue will be published. This implies that the journal will publish maximum 3 review articles per year.

ARTICLE SUBMISSION

Contributions must be submitted by the journal's platform on the page: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remevez/index>.

The corresponding author must register with a username and password to be able to enter and upload the manuscript files and the information of the rest of the authors. All authors must have an ORCID identifier at the time of entering their data on the platform. To create the ORCID you can enter the following link: <https://orcid.org/register>

Along with the manuscript, the forms of "Author Information form" (one per author) and of "Publication agreement form" must be attached, which must be signed by all authors. The forms can be downloaded at the following link: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remevez/index>.

The article text must be submitted in MS-Word®, without tables or figures, which shall be sent in separate files. It is recommended that the text is no longer than 25 pages, letter size, numbered consecutively at the bottom right corner with margins of 2.5 cm on each side. Lines shall be numbered consecutively. Use Times New Roman 12 pt font.

Tables and figures shall be number consecutively in the text using Arabic numbers and shall be sent inserted in MS-Word® files as well as in its original format (e.g. jpg o MS-Excel®). All tables and figures must be mentioned in the text. All tables and figures must have the sources when it corresponds.

Essential title page information

This part should be presented on a separate page from the rest of the manuscript. The title must be written in English and Spanish, in bold, and centered. If scientific names are used, they must be written using the binomial system. When applicable, the title should inform the animal species to which the manuscript refers. The name of the authors must be written under the title as follows: given name initials (with periods) follow by the last name with no academic titles. Each author is separated of the next one by a comma. The corresponding author will be identified with an asterisk. Each author's affiliation shall be shown as a footer including address, city and country as well as the electronic address of the corresponding author.

Manuscript structure

It must contain the title of the manuscript in English and in Spanish (mandatory), in bold and centered without the name of the authors or affiliations (to guarantee the double-blind process in the academic review process). Additionally, the manuscript must contain the following sections in order:

Abstract and key words

Articles shall include an abstract in English and another in Spanish which must contain up to 250 words. The abstract shall include a brief description of all parts of the article including the objectives, materials and methods, results and discussion, and conclusions. The most important findings of the study should be highlighted in the abstract.

Key words (up to four) are terms for indexation of the article on databases and Internet search engines. They shall identify the article contents and. Key words shall be placed after the summary in each language. To select the key words it is recommended to consult the descriptors of the agricultural **thesaurus AGROVOC** of the FAO (<https://www.fao.org/agrovoc/es>) and DeCS (<http://decs.bvs.br/E/homepage.htm> and <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=mesh>). These tools help select appropriate key words so that the article is more visible on the Internet.

Introduction

This section shall present a brief review of previous studies related to the topic of research and shall finish with a brief justification of the study and its objectives. The introduction shall not include data or conclusions of the study being described.

Materials and methods

This section must describe in clear, concise and logical form both the materials (animals, laboratory equipment, etc.) used as well as the detailed description of the techniques or protocols followed. This information given shall allow another research to be able to perform the same experiment(s) in detail. This section shall also describe the statistical treatment of the data and shall not include results or discussion of the results. Must include the statement of approval by an ethics committee for animal experimentation to which the project or research was submitted. Indicate the name of the ethics committee (institution, date, act number etc).

Results and discussion

This section shall describe the results in a logical order and in an objective and sequential fashion with the help of tables and figures. This section might include subheadings and shall not discuss the data presented. The results and discussion must be presented in the same session in an orderly manner, discussing each result after it is presented. The discussion shall be a synthesis of the comparison of the observed data against published relevant literature with an interpretation of the similarities and differences found. It will focus on the interpretation of the experimental findings and shall not repeat information presented in the introduction or the results sections. In some cases, it is possible to combine the results and discussion sections in one.

Conclusions

This section describes the most relevant findings of the research conducted, that is, those that make a significant contribution to the advancement of the specific topic investigated. It shall also point out towards future research needed.

Conflict of interests. When it can be reasonably perceived that issues outside the investigation affect the neutrality or objectivity of the work or its evaluation. Authors must declare that they have no relationships of commercial or personal interest within the framework of the research that led to the production of the submitted manuscript. The corresponding author is responsible for the co-authors to review and declare that they have no conflict of interest.

Funding. The types of support or grant received should be described, such as financing, sponsorships, scholarships or equipment supply, among others. For example: "This work was supported by the Natural Sciences Research Council [project number].
Acknowledgements

When necessary, acknowledgements can be given in this section to people or institutions that helped with the satisfactory development of the study being reported.

References

For referring publications in the text, the Council of Science Editors (CSE) style must be used: "author(s) year" system shall be used for one or two authors: (Jiménez 2009), (Pineda y Rodríguez 2010); if the publication has three or more authors the last name of the first author is cited with the latin expression *et al.* in italic: (Bernard *et al.* 2003). When more than one reference is cited they shall be organized in alphabetical order, separated by a semicolon (;): (Hänsel and Gretel 1990; Hergé *et al.* 1983). When the author is cited within the sentence the same notation shall be used but with the year in brackets: Wagner (1982) found out that water wets but Vivaldi and Pergolessi (1988) do not agree. The complete references shall be included at the end of the article according to the format described below. When two or more references of the author are cited they shall be listed in chronological order starting with the oldest one. All references to scientific articles must have the "Digital Object Identifier" (DOI) indicated at the end.

Contributions that do not comply with the references' requirements will be returned to the authors without consideration for publication.

The use of other sources of information such as thesis, graduate work or memories of events is not recommended. Authors are encouraged to use as source of consultation documents that are in indexed databases and preferably that have DOI assigned. For more information about the Council of Science Editors (CSE) style:

<http://www.scientificstyleandformat.org/Tools/SSF-Citation-Quick-Guide.html>

• Book

Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P. 1990. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th ed. New York: Pergamon Press. 1811 p.

• Book chapter

Diaz GJ. 2001. Naturally occurring toxins relevant to poultry nutrition. In: Leeson S, Summers JD editores. Scott's Nutrition of the Chicken. 4th ed. Guelph: University Books. p. 544-591.

• E-Book

Rollin, BE. 1998. The unheeded cry: animal consciousness, animal pain, and science [Internet]. Ames(IA): Iowa State University Press; [Citado 2008 agosto 9]. Disponible en: <http://www.netlibrary.com>.

• Journal article

Hepworth PJ, Nefedov AV, Muchnik IB, Morgan KL. 2010. Early warning for hock burn in broiler flocks. *Avian Pathology* 39:405-409. Doi: 10.1080/03079457.2010.510500.

Please note that the initials of all author's given names must be included. For journal title abbreviations: <http://www.cfm.leeds.ac.uk/~mark/ISlabbr/>

• Journal article or document published only online

Leng F, Amado L, McMacken R. 2004. Coupling DNA supercoiling to transcription in defined protein systems. *J Biol Chem* [Internet]. [citado 2007 July 24]; 279(46):47564-47571. Disponible en: <http://www.jbc.org/cgi/reprint/279/46/47564>.

Tables

- Too large tables shall be avoided. If there is too much information in a table, it is recommended to split it in two or more.
- Each table shall have a short but explicative title on top (without abbreviations and with a period at the end).
- No vertical lines shall be included in the tables.
- Any additional explanation to the table shall be presented as a note at the bottom.
- Column titles shall be short but explicative.
- Each table must be referenced in the text.
- All tables must indicate the source of the information, if the source is not declared, it is assumed that they are the result of the work that is being published.

Figures

- Figures must be black and white with grayscale to show variations. The following symbols can be used for graphs: p, ▲, ■, ●, ◆, ◊, ○, □, △.
- Photographs or maps (either originals or scanned) must be sent as individual files, in tiff or jpg format and a minimum of 600 dpi of resolution. Additionally, these graphs must be sent embedded in a MS Word® file with the title of the figure at the bottom.
- Figures shall be numbered with Arabic numbers, consecutively and each one must be referenced in the text.
- Each figure must have a short and explanatory title at the top, without abbreviations
- All figures must indicate the source of the information, if the source is not declared, it is assumed that they are the result of the work that is being published.

Nomenclature

- Units must be expressed in the International System of Units (SI).
- Authors must follow the *International Code of Botanical Nomenclature*, the *International Code of Nomenclature of Bacteria*, and the *International Code of Zoological Nomenclature*.
- All living organisms must be identified with the binomial system, except for common domestic animals.
- Drugs, biocides and all substances of commercial use shall be named by the active chemical ingredient or generic name (not the commercial name).
- For chemical notation authors must follow the rules of the *International Union of Pure and Applied Chemistry and the Commission on Biochemical Nomenclature*.

OTHER REQUIREMENTS

- Italic font must be used for Latin names (binomial system) and words or expression written in a different language.
- The meaning of abbreviations must be explained in full the first time they are used. Afterwards use only the abbreviation.
- Abbreviations do not have a plural form: one NGO, two ELISA.
- SI abbreviations shall not have a period at the end or be written in plural or upper case letters: 1 kg, 25 g, 10 cm, 30 m, etc. Please see: <https://bit.ly/3n5W8Qp>
- Always insert a space between the numeric value and the symbol: 35 g (not 35g), $p > 12$ (not $p>12$); except for the signs %, +, - (these last two when meaning positive and negative). For example: 99%, +45, -37.
- In a series of measurements the symbol goes at the end. For example: 3, 6 and 9 m (except for the percentage sign which is always written: 14%, 16% and 18%).
- The slash bar (/) is a linguistic sign used sometimes instead of the word per: ten chicks /pen, 4 tablet/d, 10 fruits/branch. This symbol can be used in a no linguistic context to express quotients of measurement and unit magnitudes: 80 km/h, 10 ml/min, 10°C/h.
- The sign period can be used in a no linguistic context to indicate multiplication. In this case it is used separated and in the middle: $6 \cdot 3 = 18$; $2 \cdot (x + y) = 30$.
- In English language the period (.) is used to separate decimals and the comma (,) to separate thousands.
- Name-based units must be written in lower case (for example: one siemens), except when they are derived from a proper name: °C, degrees Celsius.

ETHICAL CONSIDERATIONS

Authorship. Only a person who has made a significant and substantial contribution to the manuscript shall be included as author. This contribution shall include his/her participation in tasks such as the conception of the experiment and the experimental design,

raw data collection, data validation, writing, review and editing, data reduction, analysis and interpretation of results, application of the appropriate statistical model, elaboration of the manuscript and bibliographical search. Every author shall be able to explain his direct involvement with the manuscript and be able to defend its contents if the Editorial Committee so requires. Including honorary authors (improper author contribution) is considered unethical and unacceptable. Contribution of each author in the manuscript must be declared in the "Author information form". The addition or deletion of authors will not be accepted except in cases in which an applicable legal or ethical justification is demonstrated and only if approved by the Editor of the journal.

Ethics committee approval: All research that uses animals in their experimentation, must declare in the materials and methods section, the Ethics Committee for experimentation with animal's approval (name of the ethics committee, act and date of approval).

Manuscript submission. Documents submitted for evaluation and possible publication must not be submitted to other journal(s) simultaneously. This voids its originality and compromises the publication rights.

Manuscript integrity. Fabrication or making up results through instrument, materials or research processes manipulation, changing or omitting results or data, plagiarism (citation of his/her own or other's results without clarification according to citation rules), fragmented submission (submission of fragments as independent articles) are all considered unethical practices and are unacceptable.

Manuscript evaluation. Reviewers will only accept to review manuscripts that are within their area of expertise. Their opinions shall be objective and based only on academic and scientific grounds, without any personal consideration. During the evaluation process the reviewer must keep the contents of the manuscript confidential and shall not assign the reviewing task to any other person (co-researcher, graduate student, etc.). If during the reviewing process the referee finds any conflict of interest or any ethical conflict, he/she shall stop the evaluation process and let the Editorial Committee know about this.

Peer Review process:

All manuscripts submitted to the journal must comply with the presentation, style and citation standards of the journal described in this document. Otherwise, the documents will be returned and the peer review process will be postponed until the authors have made the pertinent correction.

In the first instance, the submitted manuscripts will be reviewed by the journal editor to determine if the manuscript is into the interest area, if so, the assignment and sending to external academic peers will be approved through the double-blind modality with at least two evaluators by manuscript; otherwise, an email will be sent to the authors indicating that the article is not accepted to continue with the academic peer review process.

The evaluation by external academic peers will try to identify the contributions to the scientific, technological or pedagogical innovation of the proposals, compared to the current state of knowledge in a discipline; the academic reviewers must give a concept of approval, modification or disapproval. In case of a divided concept by the evaluators, the manuscript will be sent to a third expert reviewer in the area to define if the manuscript is accepted or rejected. The Editorial Committee or the editor-in-chief may recommend or deny the publication of the manuscript, or request the correction of its form or content.

The criteria considered during the evaluation will be:

- Compliance with the style rules of the journal
- Relevance of content: the texts should address the issues that are relevant, directly or indirectly, for the understanding of any of the disciplines of health and animal production.
- Originality, novelty, relevance of the topic.
- Scientific quality: Appropriate methodologies must be used to the subject studied, be understandable and possible to reproduce.

- Rigor of argumentation: the works must have a coherent and logical formal thought.
- Methodological coherence: agreement between the problem statement, the objectives, results and interpretations.
- Conceptual clarity: correspondence between scientific or technical terms used in the thematic purpose.

If the articles are accepted for publication, the authors must correct them according to the observations of the peers and / or the editorial committee within the time allotted for it. The observations that are not accepted by the authors must have an appropriate support and sent in a document attached to the corrected manuscript indicating the page and the line number to which it refers, these changes and clarifications will be evaluated by the corresponding editor. The editor and editorial committee reserve the right to reject or accept materials submitted for publication. The forms for academic review of articles can be downloaded at the following links:

[Reviewers personal data form](#)

[Research article form](#)

[Review article form](#)

[Case report form](#)

Publication ethics

- The Editors are committed to identify and avoid the publication of papers where research misconduct has occurred. It would be considered a serious lack of ethics if the publisher allows the publication of articles in which any situation of misconduct has been identified. For this reason, the Editors will make use of the tools available to identify this kind of situations, including the application of software intended to identify plagiarism in every manuscript received. The Editorial Board will immediately reject any manuscript that has been identified to be engaged in any kind of scientific misconduct, reporting the corresponding evidence to the authors. In any event, the author should be given the opportunity to respond to any allegations.
- The Editors of the journal shall ensure that the good editorial practices described in this statement are accomplished. This is an institutional commitment involving not only the journal itself but also the name and prestige of the “*Universidad Nacional de Colombia*” as publisher.
- When needed, the Editors shall publish any corrections, clarifications, retractions, and apologies.

Copyright:

Those authors who have publications with this journal, accept the following terms:

- Authors will retain their copyright and publication rights and will guarantee the journal the right of first publication of their work, which will be simultaneously subject to the Creative Commons Recognition License that allows third parties to share the work as long as its author and its first publication in this journal are indicated.
- Authors may adopt other non-exclusive license agreements for the distribution of the published version of the study published (eg: deposit it in an institutional telematic archive or publish it in a monographic volume) as long as the initial publication in this journal is indicated
- Authors are allowed and recommended to disseminate their work through the Internet (eg: in institutional telematic files or on their website) which can lead to interesting exchanges and increase the citations of the published work. ([See What is open access- Unesco](#)).
- Tables and figures that do not indicate the source of the information are considered results of the study that is being published, it means that are prepared by the authors of the manuscript based on the information obtained and processed in the research, case report, etc.

Publication authorization and editorial agreement

Once the manuscripts have been submitted, the authors confer on the editorial management of the “*Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*” in its printed version (ISSN 0120-2952) and in its online version (ISSN 2357-3813) the authorization for its publication according to the criteria established in the “[Publication Agreement form](#)” that all authors must sign.

Privacy Statement and Personal Data Protection Policy

The information and personal data requested in the editorial process will be used exclusively for the journal's own purposes (such as the indexing processes in Publindex de Minciencias-Colombia) and will not be available for any other purpose or other person. Personal data will be treated in accordance with the Data Processing Policy of the Universidad Nacional de Colombia. More information on the following [link: https://unal.edu.co/tratamiento-de-datos-personales.html](https://unal.edu.co/tratamiento-de-datos-personales.html)

INSTRUÇÕES AOS AUTORES E CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia

Escopo: A Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria e Zootecnia publica artigos de pesquisa, artigos de revisão e relatos de casos de todas as áreas da medicina veterinária e a Zootecnia. O assunto abordado pelo jornal está incluído na grande área de Ciências Agrárias, área de Ciências Animais e leiteiras, Ciências Animais e láticas (biotecnologia animal), Animais de estimação, Ciências Veterinárias, de acordo com a classificação da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE). Frequência de publicação: Trimestral (3 edições por ano).

Para o envio dos manuscritos para consideração do comitê editorial do periódico é indispensável preencher os seguintes requisitos:

1. Os manuscritos devem ser inéditos e não ter sido publicados ou submetidos a consideração a quaisquer jornal técnico-científicas (exceto quando tenham sido publicados como dissertações ou teses de pós-graduação ou como resumos de congressos). Enviar simultaneamente o mesmo artigo a consideração a uma ou mais jornal é uma falta grave à ética acadêmica.
2. Os autores transferem os direitos de publicação à revista, tanto na sua versão impressa como *on line*, incluindo nesta última as diferentes bases de dados nas quais se encontre indexado o periódico.
3. A publicação do artigo deve ter sido aprovada por todos os coautores (se houver) e pelas autoridades responsáveis da instituição onde foi realizada a pesquisa. Para isso, é obrigatório o preenchimento e envio junto com o manuscrito das formas: “[Formato de información personal autor](#)” e “[Formato de Autorización para Publicación](#)” ou preencher a informação pela página online da revista. O autor para correspondência é responsável por todas as informações solicitadas pela revista e deve garantir que o artigo tenha todas as aprovações institucionais necessárias.
4. O documento deve preencher totalmente as instruções para autores estabelecidas pelo comitê editorial descritas no [presente documento](#), que podem também ser consultadas na página de internet <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/remevez/index>. Os artigos que não se ajustem a estas instruções serão devolvidos aos autores sem serem considerados para avaliação.
5. Após o manuscrito ser aceito para publicação, é condição para publicação que os autores agilizem a correção e diagramação do manuscrito nos prazos estipulados pela Revista. Todas as dúvidas sobre a publicação de manuscritos devem ser encaminhadas para o e-mail rev_fmvmzbog@unal.edu.co
6. Os autores devem revisar cuidadosamente a lista e a ordem dos autores antes de enviar seu manuscrito e antes de enviar o “[Formato de Autorización para Publicación](#)”. Não será aceito acréscimo ou exclusão de autores, exceto nos casos em que seja demonstrada uma justificativa legal ou ética aplicável e somente se aprovado pelo Editor da Revista.

TIPOS DE CONTRIBUIÇÃO

A revista aceita os seguintes tipos de contribuições originais:

- **Artigo científico:** artigo científico original que apresente resultados de pesquisas regidas pelo método científico. Tipicamente consta das seguintes seções: resumo, introdução, metodologia (materiais e métodos), resultados e discussão (apresentados em seções individuais ou em uma única seção) e conclusões.
- **Relato de caso:** relato de um caso clínico de relevância seja por seu inéditismo no seu contexto específico ou pelas suas características particulares que o fazem de interesse para a comunidade científica para sua publicação. Deve conter, no mínimo, as seguintes seções: resumo, introdução, descrição do caso (que envolve a respectiva discussão) e conclusão ou

perspectivas. O formato geral do texto, ilustrações e referências devem seguir os mesmos padrões exigidos para artigos de pesquisa.

- **Artigo de revisão:** revisão crítica de um tema específico desde uma perspectiva analítica, interpretativa e crítica do autor, que recorre sempre a fontes originais. Para este tipo de manuscrito, dentro da lista de autores, pelo menos um autor deve ter experiência de pesquisa no assunto ou área do que trata o artigo. Idealmente, uma revisão deve apresentar um resumo crítico das pesquisas realizadas até o momento e propor novos tópicos de investigação. Deve conter, no mínimo, as seguintes seções: resumo, introdução, metodologia, desenvolvimento do tema e conclusões. Recomenda-se que o desenvolvimento do tópico contenha subseções que apresentem as ideias de forma ordenada. O texto deve ser corretamente citado e deve conter as opiniões ou reflexões dos autores que têm experiência no assunto como contribuição ao manuscrito. Além de passar pelo mesmo nível rigoroso de revisão científica por pares acadêmicos externos que os artigos de pesquisa, os artigos de revisão serão criticados com base no impacto geral e a relevância do tema que está sendo revisado, as revisões pré-existentes do tema e o reconhecimento de pelo menos um dos autores como figura significativa na área. O formato geral do texto, ilustrações e referências devem seguir os mesmos padrões exigidos para artigos de pesquisa. Os artigos de revisão serão publicados na ordem de aceitação pela revista e será publicado no máximo 1 artigo de revisão por número. Isso implica que a revista publicará no máximo 3 artigos de revisão por ano.

ENVIO DE MANUSCRITOS

As contribuições devem ser enviadas pela plataforma da revista na página: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remevez/index>. O autor para correspondência deve se cadastrar previamente com nome de usuário e senha para poder acessar e fazer upload dos arquivos do manuscrito e das informações dos coautores. Todos os autores devem ter o identificador ORCID no momento de inserir seus dados na plataforma. O registro do ORCID não tem valor associado. Para gerar o ORCID você pode entrar no seguinte link: <https://orcid.org/register>. Juntamente com o manuscrito, devem ser anexados as formas “[Formato datos personales autores](#)” (um por autor) ou declarar a informação na página online da revista e a forma “[Formato Autorización de Publicación](#)”, os quais devem ser assinados por todos os autores. Os formatos podem ser baixados no seguinte link: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remevez/index>.

Formato

O texto do artigo deve enviar-se em MS-Word, sem incluir tabelas nem figuras, as quais devem apresentar-se em arquivos separados. Recomenda-se que o texto não tenha mais que 25 páginas em tamanho carta incluindo referências, numeradas consecutivamente no lado inferior direito, com margens de 2,5 cm por cada lado, em espaço duplo, com fonte Times New Roman, tamanho 12, e cada linha do documento deverá estar numerada de forma contínua. As tabelas e figuras (fotos, gráficos, desenhos, esquemas, diagramas de fluxo, diagramas de frequência, etc.) deverão numerar-se consecutivamente em números arábicos, e enviar-se inseridas em arquivo MS-Word com os arquivos originais (por exemplo, jpg ou excel), conforme o programa em que foram elaboradas. Todas as tabelas e figuras devem ser referenciadas no texto e devem ter as fontes de consulta, caso corresponda.

Página inicial com título, nome e afiliação dos autores

O título do artigo se deve apresentar numa página separada do resto do manuscrito, deve ser em espanhol ou português (opcional dependendo da língua do manuscrito) e inglês (obrigatório), em negrito e centralizado. Se tiver nomes científicos deverá usar a nomenclatura indicada anteriormente (sistema binomial). Quando aplicável, o título deve informar a espécie animal a que o manuscrito faz referência. Embaixo do título se escrevem os nomes e sobrenomes dos autores da seguinte maneira: iniciais dos nomes (com ponto), seguidos do primeiro sobrenome completo, sem títulos acadêmicos nem cargos institucionais e separando cada autor com vírgula. O autor para correspondência deve identificar-se com um asterisco. Como pé de página deve indicar-se a origem institucional de cada autor incluindo endereço, cidade e país, e endereço de correio eletrônico do autor para correspondência.

Manuscrito

Deve conter o título do manuscrito em espanhol (ou português) e em inglês (obrigatório), em negrito e centralizado **sem o nome dos autores ou afiliações**. Além disso, o manuscrito deve conter as seguintes seções em ordem:

Resumo e palavras-chave

Os artigos devem incluir um resumo em espanhol (ou português) e um em inglês, de no máximo 250 palavras. O resumo deve registrar brevemente todas as partes do documento: os propósitos do estudo ou pesquisa, materiais e métodos (seleção dos sujeitos do estudo ou animais de laboratório; métodos de observação e de análise), resultados e discussão (registrando informação específica ou dados e seu significado estatístico sempre que for possível), e as conclusões principais. Deverão destacar-se as observações e aspectos mais novos e relevantes do estudo.

As palavras-chave (máximo quatro) são termos para indexação do artigo nas bases de dados e os termos de busca de Internet. Estas devem identificar o conteúdo do artigo e devem colocar-se depois do resumo em seu correspondente idioma. Para selecionar as palavras-chave do documento, sugere-se consultar e usar os descritores do **Tesouro agrícola multilíngue Agrovoc**, criado pela FAO, que abrange terminologia da agricultura, silvicultura, pesca, meio-ambiente e temas afins <http://www.fao.org/agrovoc/es> ou os descritores em Ciências da Saúde <https://decs.bvsalud.org/E/homepage.htm> e <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>. Estas ferramentas permitem selecionar as palavras-chave adequadas para que o artigo seja difundido de forma mais efetiva na Internet.

Introdução

Deve apresentar uma breve revisão dos trabalhos prévios relacionados com o tema por investigar e finalizar com a justificação e os objetivos da pesquisa. A introdução não deve incluir dados ou conclusões do trabalho que se está submetendo.

Materiais e métodos

Nesta seção devem descrever-se de forma clara, concisa e sequencial, os materiais (vegetais, animais, implementos de laboratório) utilizados no desenvolvimento do trabalho, além dos procedimentos ou protocolos seguidos e do desenho experimental escolhido para o tratamento estatístico dos dados. A informação aqui registrada deve permitir a outros pesquisadores reproduzir o experimento de forma detalhada. Esta parte pode ter subtítulos e não deve incluir nenhum resultado nem discussão dos achados.

A seção de materiais e métodos deve incluir a declaração de aprovação do estudo ou pesquisa por um comitê de ética para experimentação com animais ao qual o projeto ou pesquisa foi submetido antes da sua execução. Indique o nome do comitê de ética, data, número do certificado de aprovação.

Resultados e discussão

Nesta seção devem descrever-se os resultados em ordem lógica e de forma objetiva e sequencial, apoiando-se nas tabelas e figuras.

Esta parte pode também incluir subtítulos e não deve discutir os dados apresentados.

A discussão deve ser uma síntese da confrontação dos dados obtidos no estudo com relação à literatura científica relevante que ademais interprete as similaridades ou os contrastes encontrados. Deverá focar visando a interpretação dos achados experimentais e não repetirá os dados apresentados na introdução nem a informação apresentada nos resultados. Os resultados e discussão devem ser apresentados na mesma sessão de forma ordenada, discutindo cada resultado após a sua apresentação.

Conclusões

Nesta seção se relacionam os achados mais relevantes da pesquisa, isto é, aqueles que constituam um aporte significativo para o avanço do campo temático explorado, além de considerar um direcionamento sobre futuras investigações.

Conflito de interesses.

Eles ocorrem quando pode ser razoavelmente percebido que questões fora da investigação afetam a neutralidade ou objetividade do trabalho ou de sua avaliação. Os autores devem declarar que não possuem qualquer relação de interesse comercial ou pessoal no âmbito da pesquisa que motivou a produção do manuscrito submetido. O autor para correspondência é responsável pela revisão e declaração dos coautores de que não há conflito de interesses.

Fontes de financiamento.

Devem ser descritos os tipos de apoios recebidos, como financiamentos, patrocínios, bolsas de estudo ou fornecimento de equipamentos, entre outros. Por exemplo: "Este trabalho foi apoiado pelo Conselho de Pesquisa em Ciências Naturais [número do projeto xxxx, yyyy]."

Agradecimentos

Se necessário, podem ser feitos agradecimentos por contribuições importantes quanto à concepção, financiamento ou realização da investigação: financiadores, especialistas, firmas comerciais, entidades oficiais ou privadas, associações de profissionais e colaboradores de campo e de laboratório.

Referências

A citação de referências bibliográficas que sustentam frases dentro do texto deve seguir as normas de estilo do *Council of Science Editors* (CSE) algumas das quais se ilustram a continuação: dentro do texto se usará o sistema "autor(es) an" se for um ou dois autores: (Jiménez 2009), (Pineda e Rodríguez 2010); se a publicação citada tiver três ou mais autores, cita-se o sobrenome do primeiro autor acompanhado da expressão latina *et al.*: (Bernard *et al.* 2003). Se forem citadas várias referências seguidas, deverão organizar-se em ordem alfabética, separadas por ponto e vírgula (;) exemplo: (Hänsel e Gretel 1990; Hergé *et al.* 1983). Se o autor ou autores são citados diretamente no texto utiliza-se a mesma notação com o ano entre parênteses: Exemplo: Wagner (1982) encontrou que a água é vida, enquanto que Vivaldi e Pergolesi (1988) afirmam o contrário. As referências bibliográficas completas devem ir ao final do artigo em ordem alfabética de autores; se na lista de referências são citadas várias publicações do mesmo autor ou autores listam-se em ordem cronológica desde a mais antiga até a mais recente. Todas as referências a artigos científicos devem ter o "Digital Object Identifier" (DOI) indicado ao final, caso o artigo tenha sido atribuído por uma revista.

As contribuições que não preencham as normas de estilo bibliográfico serão devolvidas sem serem consideradas para avaliação. O uso de outras fontes de informação como teses, pós-graduação ou memórias de eventos não é recomendado. Os autores são encorajados a usar como fonte de consulta os documentos que estão em bancos de dados indexados e de preferência que tenham DOI atribuído. Para obter mais exemplos sobre o sistema de citação do *Council of Science Editors* (CSE): <http://www.scientificstyleandformat.org/Tools/SSF-Citation-Quick-Guide.html>

- Livros
 - Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P. 1990. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th ed. New York: Pergamon Press. 1811 p.
 - Capítulos de livro
 - Diaz GJ. 2001. Naturally occurring toxins relevant to poultry nutrition. In: Leeson S, Summers JD editores. Scott's Nutrition of the Chicken. 4th ed. Guelph: University Books. p. 544-591.
 - E-Book
 - Rollin, BE. 1998. The unheeded cry: animal consciousness, animal pain, and science [Internet]. Ames (IA): Iowa State University Press; [Citado 2008 agosto 9]. Disponível em: <http://www.netlibrary.com>.
 - Artigo de revista
 - Hepworth PJ, Nefedov AV, Muchnik IB, Morgan KL. 2010. Early warning for hock burn in broiler flocks. Avian Pathology 39:405-409. Doi: 10.1080/03079457.2010.510500.
- Nota: devem ser registradas as iniciais de todos os nomes dos autores. Pará abreviaturas nome revistas:
- <http://www.efm.leeds.ac.uk/~mark/ISlabbr/>
- Artigo de revista ou informação publicada eletrônica
 - Leng F, Amado L, McMacken R. 2004. Coupling DNA supercoiling to transcription in defined protein systems. J Biol Chem [Internet]. [Citado 2007 Jul. 24]; 279(46):47564-47571. Disponível em: <http://www.jbc.org/cgi/reprint/279/46/47564>.
 - Paswan VK, Sahoo A. 2010. Rumen metabolites and enzymatic profiles in crossbred cattle bulls fed on high and low levels of tanniniferous oak (*Quercus incana*) leaves. Livestock Research for Rural Development [Internet]. [Citado 2011 Mar. 22]; 22(11). Disponível em: <http://www.lrrd.org/lrrd22/11/pasw22207.htm>

Tabelas

- Devem ser evitadas tabelas muito grandes. Se existirem muitos dados em uma tabela, recomenda-se dividi-la em duas ou mais.
- Cada tabela deve ter um título curto e explicativo na parte superior, sem abreviaturas.
- Não devem ser usadas linhas verticais para separar as colunas devendo, portanto, existir suficiente espaço entre elas.
- Qualquer explicação essencial para entender a tabela deve apresentar-se como uma nota na parte inferior desta.
- Os cabeçalhos de coluna devem ser breves, mas suficientemente explicativos.
- Cada tabela deve ter sido referenciada no texto.
- Todas as tabelas devem indicar a fonte das informações, caso a fonte não seja declarada, presume-se que sejam o resultado do trabalho que está sendo publicado.

Figuras

- Os gráficos devem ser feitos em apenas uma cor com proporções de preto para as variações das colunas. As linhas das curvas devem ser na cor preta, pontilhadas ou contínuas usando as seguintes convenções: ▲, ■, ●, ◆, ◇, ○, □, △.
- Em caso de fotografias ou mapas (originais ou escaneados) devem enviar-se em arquivos independentes, em formato tif ou jpg com mínimo 600 dpi de resolução e, adicionalmente, dentro de um arquivo MS-Word no qual seja incluído o título (curto e explicativo) na parte inferior.
- Da mesma forma que nas tabelas, devem numerar-se com números arábicos em forma consecutiva, e deve ser feita referência no texto a cada uma das figuras apresentadas.
- Cada figura deve ter um título curto e explicativo na parte superior, sem abreviaturas
- Todas as figuras devem indicar a fonte da informação, caso a fonte não seja declarada, presume-se que sejam o resultado do trabalho que está sendo publicado.

Nomenclatura

- As unidades devem expressar-se conforme o Sistema Métrico Decimal (SI).

- Os autores aceitarão as normas colombianas, bem como a vigente pelo International *Code of Botanical Nomenclature*, o *International Code of Nomenclature of Bacteria*, e o *International Code of Zoological Nomenclature*.
- Toda a biota (cultivos, plantas, insetos, aves, mamíferos, peixes, etc.) deve estar identificada em nomenclatura binomial (nome científico), exceto os animais domésticos comuns.
- Todos os medicamentos, biocidas e demais substâncias de uso comercial devem apresentar o nome de seu princípio ativo principal ou o nome genérico.
- Para a nomenclatura química serão usadas as convenções determinadas pela *International Union of Pure and Applied Chemistry* bem como pela *Comission on Biochemical Nomenclature*.

NORMAS DE ESTILO

- Deve ser redigido em voz passiva (avaliaram-se duas metodologias, e não: duas metodologias foram avaliadas) e em forma impessoal, isto é, terceira pessoa do singular (se encontrou, e não: encontrei ou encontramos).
- Quanto aos tempos verbais, o uso comum é o passado para a introdução, procedimentos e resultados, e o presente para a discussão.
- Em geral, recomenda-se evitar o uso do gerúndio. Fazer uso desta forma verbal apenas para indicar duas ações simultâneas; nos demais casos, redigir diferente a frase (substituir: um protocolo foi estabelecido, minimizando o efeito negativo..., por: se estabeleceu um protocolo com o qual foi minimizado o efeito negativo...).
- As letras itálicas são usadas para os nomes científicos (sistema binomial) e palavras ou expressões em idioma estrangeiro.
- O significado das siglas e abreviaturas deve explicar-se quando se mencionam pela primeira vez no texto. Posteriormente, se deve usar apenas a sigla ou abreviatura.
- As siglas não têm forma plural; esta é indicada nas palavras que as acompanham: as ONG, os ELISA.
- As abreviaturas do SI não devem ir com ponto, em plural ou em maiúscula: 1 kg, 25 g, 10 cm, 30 m, etc. Consulte o SI em: <https://bit.ly/3n5W8Qp>
- Entre o valor numérico e o símbolo deve ir um espaço: 35 g (não 35g), p > 12 (não p>12); exceto para os sinais: %, +, - (os dois últimos quando indicam positivo e negativo). Exemplos: 99%, +45, -37.
- Em uma série de medidas, o símbolo vai ao final: fileiras a 3, 6 e 9 m, ou 14, 16 e 18%.
- A barra oblíqua (/) é um sinal linguístico que entre seus usos significa "por": três cães/gaiola, 4 pastilhas/dia, 2 l/recipiente, 10 frutos/galho. Um dos seus usos não linguísticos é expressar os quocientes de magnitudes e unidades de medida: 80 km/h, 10 ml/min, 10°C/h.
- Um dos usos não linguísticos do ponto (.) é indicar a multiplicação de duas quantidades, caso no qual se coloca separado delas e a meia altura: 6 · 3 = 18; 2 · (x + y) = 30.
- O ponto (.) se usa para separar os milhares e a vírgula (,) se usa para separar decimais.
- As unidades baseadas em nomes se usam em minúsculas: um siemens (com algumas exceções como quando o símbolo deriva de um nome próprio: °C, graus Celsius).

CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Autoria. Considera-se autor àquela pessoa que tenha realizado uma contribuição direta e substancial no conteúdo do manuscrito. Esta contribuição deve incluir sua participação em aspectos como a concepção do ensaio e do desenho experimental, a obtenção dos dados de campo, a análise dos dados e a interpretação dos resultados, a aplicação do modelo estatístico apropriado, a redação do manuscrito e a pesquisa bibliográfica associada, validação, redação, revisão e edição de dados. Cada autor deverá estar em capacidade de explicar sua participação direta na publicação e de sustentar o

seu conteúdo junto ao Comitê Editorial, caso seja requerido. A declaração da contribuição de cada autor no manuscrito deve ser declarada no documento denominado “[Formato de informação do autor](#)” ou na página online. Não será aceito acréscimo ou exclusão de autores, exceto nos casos em que seja demonstrada uma justificativa legal ou ética aplicável e somente se aprovado pelo Editor da Revista. A inclusão de autores honorários (contribuição autoral imprópria) é considerado um comportamento não ético.

Aprovação do comitê de ética:

Todas as pesquisas que utilizem animais em sua experimentação, devem declarar no manuscrito, na seção de materiais e métodos, a aprovação de um Comitê de Ética para experimentação com animais (nome do comitê de ética, ata e data de aprovação) do estudo realizado.

Submissão de manuscritos. Os documentos submetidos para avaliação e possível publicação não deverão ser apresentados simultaneamente a outra revista (ou revistas). Isto invalida sua originalidade e compromete os direitos sobre sua publicação.

Integridade da pesquisa. A fabricação ou falsificação de resultados através da manipulação de equipamentos, materiais ou processos de pesquisa, a mudança ou omissão de dados e resultados, o plágio (menção dos resultados próprios ou de outros sem fazer o devido esclarecimento conforme as normas de citação bibliográfica) ou a publicação fragmentada (submeter fragmentos de uma pesquisa na forma de artigos independentes), são comportamentos não éticos e inaceitáveis.

Conflito de interesses. Os autores deverão declarar não ter relações de interesse comercial ou pessoal dentro do marco da pesquisa que levou à produção do manuscrito submetido.

Reconhecimentos. Devem ser descritos os tipos de apoio recebidos tais como financiamento, patrocínios, bolsas ou fornecimento de equipamentos, entre outros.

Avaliação de artigos. Os avaliadores só aceitarão revisar artigos manuscritos cujo tema seja de seu completo domínio. Espera-se uma opinião objetiva do ponto de vista acadêmico e científico, desprovida de condicionamentos pessoais. Durante todo o processo, o avaliador conservará a confidencialidade total do conteúdo do manuscrito e não deverá transferir a responsabilidade designada a um terceiro (copesquisador, estudante de pós-graduação ou outros). Se durante o período de revisão o avaliador considera que tem qualquer impedimento de tipo ético ou conflito de interesses deverá interromper a avaliação e assim comunicar ao Comitê Editorial.

PROCESSO DE AVALIAÇÃO ACADEMICA:

Todos os manuscritos submetidos à revista devem obedecer aos padrões de apresentação, estilo e citação da revista descritos neste documento “Instruções aos autores”. Caso contrário, os documentos serão retornados e o processo de designação dos avaliadores acadêmicos externos será adiado até que os autores tenham feito a adequação pertinente.

Em uma primeira instância, os manuscritos submetidos serão revisados pelo editor da revista para determinar se o manuscrito enquadra na área temática da revista, em caso afirmativo, o trabalho e envio a colegas acadêmicos externos será aprovado na modalidade duplo-cego com pelo menos dois avaliadores por manuscrito; caso contrário, será enviado um e-mail aos autores indicando que o artigo não foi aceito para dar continuidade ao processo de avaliação por pares acadêmicos.

A avaliação por colegas acadêmicos externos procurará identificar as contribuições para a inovação científica, tecnológica ou pedagógica das propostas respeito ao estado atual de conhecimento da disciplina; os avaliadores devem emitir um conceito de aprovação, modificação ou reprovação e, em caso de conceito dividido pelos avaliadores, o manuscrito será enviado a um terceiro avaliador especialista na área para definir se o manuscrito é aceito ou rejeitado. O Comitê Editorial ou o editor-chefe podem recomendar ou negar a publicação do manuscrito, ou solicitar a correção de sua forma ou conteúdo.

Os critérios considerados durante a avaliação serão:

- Conformidade com as regras de estilo do jornal
- Relevância do conteúdo: os textos devem abordar as questões que sejam relevantes, direta ou indiretamente, para a compreensão de qualquer uma das disciplinas da saúde e produção animal.
- Originalidade, novidade, relevância do tema.
- Qualidade científica: Devem ser utilizadas metodologias adequadas ao tema estudado, que sejam compreensíveis e passíveis de reprodução.
- Rigor de argumentação: as obras devem ter um pensamento formal coerente e lógico.
- Coerência metodológica: concordância entre a definição do problema, os objetivos, os resultados e as interpretações.
- Clareza conceitual: correspondência entre termos científicos ou técnicos utilizados na finalidade temática.

Se os artigos forem aceitos para publicação, os autores devem corrigi-los de acordo com as observações dos avaliadores e/ou do comitê editorial no tempo previsto para isso. As observações que não forem aceitas pelos autores deverão ter um suporte adequado e enviadas em documento anexo ao manuscrito corrigido indicando a página e o número da linha a que faz referência, essas alterações e esclarecimentos serão avaliados pelo editor correspondente. O editor e o comitê editorial reservam-se o direito de rejeitar ou aceitar materiais submetidos para publicação.

Os formatos para realizar a revisão acadêmica de artigos podem ser baixados nos seguintes links:

[Formato dos dados pessoais dos avaliadores](#)

[Formato de avaliação do artigo de pesquisa](#)

[Formato de avaliação do artigo de revisão](#)

[Formato de avaliação de reporte de caso](#)

Ética no processo de publicação

Os Editores comprometem-se a identificar e prevenir a publicação de artigos nos quais tenha ocorrido má conduta de pesquisa. Seria considerado falta de ética grave se o editor autorizasse a publicação de artigos em que fosse identificada situação de má conduta. Portanto, os Editores utilizarão as ferramentas disponíveis para identificar esse tipo de situação, incluindo a aplicação de um software desenvolvido para identificar plágio em cada manuscrito recebido. O Comitê Editorial rejeitará imediatamente qualquer manuscrito que tenha sido identificado como envolvido em algum tipo de má conduta científica, reportando a evidência correspondente aos autores. Em qualquer caso, o autor deve ter a oportunidade de responder a qualquer reclamação.

Os Editores da revista zelarão pelo cumprimento das boas práticas editoriais descritas nesta declaração. É um compromisso institucional que envolve não só a própria revista, mas também o nome e prestígio da “Universidade Nacional da Colômbia” como editora. Quando necessário, os Editores publicarão correções, esclarecimentos, retratações e desculpas.

DIREITOS AUTORAIS:

Os autores que possuem publicações com a Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, aceitam os seguintes termos:

- a) Os autores manterão seus direitos autorais e de publicação e garantirão à revista o direito de primeira publicação de seu trabalho, que estará simultaneamente sujeito à Licença de Reconhecimento Creative Commons que permite que terceiros compartilhem a obra desde que seu autor e seu primeiro publicação são indicados nesta revista.
- b) Os autores podem adotar outros contratos de licença não exclusivos para a distribuição da versão da obra publicada (ex: depositar em arquivo telemático institucional ou publicá-la em volume monográfico) desde que a publicação seja indicada como inicial nesta revista.
- c) Os autores estão autorizados e recomendados a divulgar seus trabalhos pela Internet (ex: em arquivos telemáticos institu-

cionais ou em seu site), o que pode levar a trocas interessantes e aumentar as citações dos trabalhos publicados. (Veja [O acesso aberto- UNESCO](#)).

- d) As tabelas e figuras que não indicam a fonte da informação na parte inferior são consideradas resultados do estudo que está sendo publicado, ou seja, são elaboradas pelos autores do manuscrito com base na informação obtida e processada na pesquisa, relato de caso, etc.

AUTORIZAÇÃO DE PUBLICAÇÃO E ACORDO EDITORIAL

Uma vez submetidos os manuscritos, os autores conferem à direção editorial da Revista de la Facultad de Medicina Veterinária y de Zootecnia na sua versão impressa (ISSN 0120-2952) e na sua

versão online (ISSN 2357-3813) a autorização para a sua publicação de acordo com os critérios estabelecidos no "[Formato de Autorización para Publicación](#)" que todos os autores devem assinar.

DECLARAÇÃO DE PRIVACIDADE E POLÍTICA DE PROCESSAMENTO DE DADOS PESSOAIS

As informações e dados pessoais solicitados no processo editorial serão utilizados exclusivamente para os próprios fins da revista, como os processos de indexação em Publindex (Minciencias-Colômbia) e não estarão disponíveis para nenhum outro fim nem pessoa. Os dados pessoais serão tratados de acordo com a Política de Processamento de Dados da Universidad Nacional de Colombia. Para mais informações consulte o seguinte link: <https://unal.edu.co/tratamiento-de-datos-personales.html>

ÍNDICE DE AUTORES DE LA REVISTA DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y DE ZOOTECNIA, VOL. 69, 2022

Autores	Artículo	Ubicación
Andrade–Becerra R. J	Virus de la leucemia e inmunodeficiencia felina: un estudio retrospectivo en clínicas veterinarias particulares en Bogotá y Chía (Colombia), 2015-2019	N.º 2, pp. 155-165
Cienfuegos A. V	Isolation of <i>Escherichia coli</i> and <i>Klebsiella pneumoniae</i> strains producing extended spectrum β -lactamases from dog urine of the Metropolitan Area of the Aburrá Valley Antioquia-Colombia	N.º 3, pp. 245-258
Caro L. G	Virus de la leucemia e inmunodeficiencia felina: un estudio retrospectivo en clínicas veterinarias particulares en Bogotá y Chía (Colombia), 2015-2019	N.º 2, pp. 155-165
García M. J	Prevalencia de <i>Dientamoeba fragilis</i> y otros protozoarios intestinales en porcinos de una granja en la región Andina de Colombia	N.º 2, pp. 129-142
Jaramillo-Jaramillo Ana Soffia	Lack of evidence for <i>Mycoplasma</i> spp. in bulk tank milk of herds located in mid-western Colombia.	N.º 3, pp. 268-280
Londoño L. F	Evaluation of chemical silage on egg quality parameters in ISA Brown line laying hens (<i>Gallus gallus Domesticus</i>)	N.º 1, pp. 63-74
Retamozo–Hurtado J. L	Estimación poblacional y sanitaria de <i>Canis lupus familiaris</i> en zonas rurales y urbanas de Huancarama, Perú	N.º 2, pp. 143-154
Suárez K. J	Prevalencia de <i>Dientamoeba fragilis</i> y otros protozoarios intestinales en porcinos de una granja en la región Andina de Colombia	N.º 2, pp. 129-142
Agudelo D	Prevalencia de <i>Fasciola hepatica</i> y Paramphistomidae en bovinos de doble propósito en una hacienda del trópico bajo andino colombiano	N.º 1, pp. 19-32
Alves de Brucker Ana Luiza	Unilateral perineal hernia surgery. Case report	N.º 3, pp. 325-333
Arévalo Arévalo H	Perspectivas de uso sostenible del grillo doméstico tropical (<i>Gryllodes sigillatus</i>) para la alimentación humana en Colombia	N.º 3, pp. 310-324
Arias A	Reporte de caso: tumor de células en forma de huso en un canino (fibrosarcoma)	N.º 2, pp. 198-212

Autores	Artículo	Ubicación
Arroyo M. I	Prevalencia de <i>Fasciola hepatica</i> y Paramphistomidae en bovinos de doble propósito en una hacienda del trópico bajo andino colombiano	N.º 1, pp. 19-32
Aya- Baquero E	Establecimiento de biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno, tendiente a la producción de zooplancton	N.º 3, pp. 281-298
Barragán-Fonseca K	Perspectivas de uso sostenible del grillo doméstico tropical (<i>Gryllobates sigillatus</i>) para la alimentación humana en Colombia	N.º 3, pp. 310-324
Calixto L. C	Determinación de <i>Helicobacter</i> spp. en mucosa gástrica glandular de mulas a través de la prueba de la actividad de la ureasa e histopatología	N.º 2, pp. 121-128
Camargo-Castillo I. S	Apropiación de los elementos de innovación social en organizaciones comunitarias agropecuarias del departamento de Boyacá-Colombia	N.º 3, pp. 299-309
Camargo-Poveda A. M	Virus de la leucemia e inmunodeficiencia felina: un estudio retrospectivo en clínicas veterinarias particulares en Bogotá y Chía (Colombia), 2015-2019	N.º 2, pp. 155-165
Campo L. F	Prevalencia de <i>Dientamoeba fragilis</i> y otros protozoarios intestinales en porcinos de una granja en la región Andina de Colombia	N.º 2, pp. 129-142
Carnauba Vicente Paulo Usignolo	Unilateral perineal hernia surgery. Case report	N.º 3, pp. 325-333
Ceballos-Márquez Alejandro	Lack of evidence for <i>Mycoplasma</i> spp. in bulk tank milk of herds located in mid-western Colombia.	N.º 3, pp. 268-280
Cirqueira dos Santos Josiel	Unilateral perineal hernia surgery. Case report	N.º 3, pp. 310-325
Collazos-Lasso L. F	Perspectivas de una producción sostenible en acuicultura multitrófica integrada (IMTA): una revisión	N.º 1, pp. 75-97
Collazos-Lasso L. F	Establecimiento de biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno, tendiente a la producción de zooplancton	N.º 3, pp. 281-298
Daza O. A	Factores que influyen en el desempeño del sistema doble propósito bovino en el Piedemonte Araucano (Colombia)	N.º 2, pp. 166-181
Delgado Gutiérrez Maira	Diagnóstico de parasitosis gastrointestinal en ganado vacuno de razas carniceras con diferentes técnicas coproparasitológicas	N.º 3, pp. 259-267

Autores	Artículo	Ubicación
Droppelmann Delgado Arturo	Diagnóstico de parasitosis gastrointestinal en ganado vacuno de razas carniceras con diferentes técnicas coproparasitológicas	N.º 3, pp. 259-267
Dufour Simon	Lack of evidence for <i>Mycoplasma</i> spp. in bulk tank milk of herds located in mid-western Colombia.	N.º 3, pp. 268-280
Espinoza Cornuy Emilio Jose	Diagnóstico de parasitosis gastrointestinal en ganado vacuno de razas carniceras con diferentes técnicas coproparasitológicas	N.º 3, pp. 259-267
Fajardo-Rosero A. G	Perspectivas de una producción sostenible en acuicultura multitrofica integrada (IMTA): una revisión	N.º 1, pp. 75-97
Figueroa Alfar Nathalie Francisca o	Diagnóstico de parasitosis gastrointestinal en ganado vacuno de razas carniceras con diferentes técnicas coproparasitológicas	N.º 3, pp. 259-267
Fonseca de Freitas R. T	Supervivencia observada en tres familias de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) infectadas con <i>Streptococcus agalactiae</i>	N.º 3, pp. 236-244
Galván A. L	Prevalencia de <i>Fasciola hepatica</i> y Paramphistomidae en bovinos de doble propósito en una hacienda del trópico bajo andino colombiano	N.º 1, pp. 19-32
Galván-Díaz A. L	Prevalencia de <i>Dientamoeba fragilis</i> y otros protozoarios intestinales en porcinos de una granja en la región Andina de Colombia	N.º 2, pp. 129-142
García M. I	Isolation of <i>Escherichia coli</i> and <i>Klebsiella pneumoniae</i> strains producing extended spectrum β -lactamases from dog urine of the Metropolitan Area of the Aburrá Valley Antioquia-Colombia	N.º 3, pp. 245-258
Gaviria Y. S	Evaluation of chemical silage on egg quality parameters in ISA Brown line laying hens (<i>Gallus gallus Domesticus</i>)	N.º 1, pp. 63-74
Gómez L	Prevalencia de <i>Fasciola hepatica</i> y Paramphistomidae en bovinos de doble propósito en una hacienda del trópico bajo andino colombiano	N.º 1, pp. 19-32
Gutiérrez M. F	Sarcoma felino posvacunal (FISS), reporte de caso en Colombia	N.º 2, pp. 182-197
Hernández C	Prevalencia de <i>Fasciola hepatica</i> y Paramphistomidae en bovinos de doble propósito en una hacienda del trópico bajo andino colombiano	N.º 1, pp. 19-32

Autores	Artículo	Ubicación
Jiménez-Moreno Y (Q.E.P.D.)	Establecimiento de biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno, tendiente a la producción de zooplancton	N.º 3, pp. 281-298
Manrique C	Factores que influyen en el desempeño del sistema doble propósito bovino en el Piedemonte Araucano (Colombia)	N.º 2, pp. 166-181
Marín-López D	Dinámicas de producción y emisiones modeladas de gases de efecto invernadero en sistemas regionales de producción lechera de Honduras	N.º 1, pp. 46-62
Martínez J. R	Determinación de <i>Helicobacter</i> spp. en mucosa gástrica glandular de mulas a través de la prueba de la actividad de la ureasa e histopatología	N.º 2, pp. 121-128
Matamoros-Ochoa I. A	Dinámicas de producción y emisiones modeladas de gases de efecto invernadero en sistemas regionales de producción lechera de Honduras	N.º 1, pp. 46-62
Mesquita Grangeiro Daniele	Unilateral perineal hernia surgery. Case report	N.º 3, pp. 325-333
Molina V. M	Frecuencia de la leucemia felina (ViLeF) en un refugio municipal de Rionegro, Colombia, durante 2020	N.º 1, pp. 11-18
Molina V. M	Sarcoma felino posvacunal (FISS), reporte de caso en Colombia	N.º 2, pp. 182-197
Morales J	Sarcoma felino posvacunal (FISS), reporte de caso en Colombia	N.º 2, pp. 182-197
N. P. Moreno-García	Virus de la leucemia e inmunodeficiencia felina: un estudio retrospectivo en clínicas veterinarias particulares en Bogotá y Chía (Colombia), 2015-2019	N.º 2, pp. 143-154
Naspirán-Jojoa D. C	Perspectivas de una producción sostenible en acuicultura multitrofica integrada (IMTA): una revisión	N.º 1, pp. 75-97
Ochoa AM	Isolation of <i>Escherichia coli</i> and <i>Klebsiella pneumoniae</i> strains producing extended spectrum β -lactamases from dog urine of the Metropolitan Area of the Aburrá Valley Antioquia-Colombia	N.º 3, pp. 245-258
Ochoa J. E	Reporte de caso: tumor de células en forma de huso en un canino (fibrosarcoma)	N.º 2, pp. 198-212
Orjuela M	Frecuencia de la leucemia felina (ViLeF) en un refugio municipal de Rionegro, Colombia, durante 2020	N.º 1, pp. 11-18

Autores	Artículo	Ubicación
Piepers Sofie	Lack of evidence for <i>Mycoplasma</i> spp. in bulk tank milk of herds located in mid-western Colombia.	N.º 3, pp. 268-280
Quevedo D. M	Reporte de caso: tumor de células en forma de huso en un canino (fibrosarcoma)	N.º 2, pp. 198-212
Ramírez-Restrepo C. A	Dinámicas de producción y emisiones modeladas de gases de efecto invernadero en sistemas regionales de producción lechera de Honduras	N.º 1, pp. 46-62
Restrepo E. Y	Prevalencia de <i>Dientamoeba fragilis</i> y otros protozoarios intestinales en porcinos de una granja en la región Andina de Colombia	N.º 2, pp. 129-142
Rodríguez Silva Alison Chagas	Unilateral perineal hernia surgery. Case report	N.º 3, pp. 325-333
Roque A. I	Reporte de caso: tumor de células en forma de huso en un canino (fibrosarcoma)	N.º 2, pp. 198-212
Saldivia M	Niveles séricos de la isoenzima creatina quinasa-MB y lactato deshidrogenasa, como indicadores de daño miocárdico en perros con enfermedad valvular degenerativa	N.º 1, pp. 40-45
Saldivia Paredes Manuel Alexis	Diagnóstico de parasitosis gastrointestinal en ganado vacuno de razas carniceras con diferentes técnicas coproparasitológicas.	N.º 3, pp. 259-267
Saldivia-Paredes M. A	Medición de los niveles de lactato sérico y frecuencia cardíaca, en caninos (<i>Canis lupus familiaris</i>) braquicefálicos, mesocefálicos y dolicocefálicos sometidos a prueba de esfuerzo en trotadora motorizada	N.º 1, pp. 33-39
Sánchez Roncancio C. O	Supervivencia observada en tres familias de tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) infectadas con <i>Streptococcus agalactiae</i>	N.º 3, pp. 236-244
Satie Nakaza Patricia	Unilateral perineal hernia surgery. Case report	N.º 3, pp. 325-333
Sepúlveda R	Niveles séricos de la isoenzima creatina quinasa-MB y lactato deshidrogenasa, como indicadores de daño miocárdico en perros con enfermedad valvular degenerativa	N.º 1, pp. 40-45
Suarez-Contento L	Establecimiento de biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno, tendiente a la producción de zooplancton	N.º 3, pp. 281-298
Ueno-Fukura M	Establecimiento de biofloc a tres relaciones carbono/nitrógeno, tendiente a la producción de zooplancton	N.º 3, pp. 281-298

Autores	Artículo	Ubicación
Ueno-Fukura M	Perspectivas de una producción sostenible en acuicultura multitrófica integrada (IMTA): una revisión	N.º 1, pp. 75-97
Valderrama–Pomé A. A	Estimación poblacional y sanitaria de <i>Canis lupus familiaris</i> en zonas rurales y urbanas de Huancarama, Perú	N.º 2, pp. 143-154
Vásquez L	Isolation of <i>Escherichia coli</i> and <i>Klebsiella pneumoniae</i> strains producing extended spectrum β -lactamases from dog urine of the Metropolitan Area of the Aburrá Valley Antioquia-Colombia	N.º 3, pp. 245-258
Vásquez S	Niveles séricos de la isoenzima creatina quinasa-MB y lactato deshidrogenasa, como indicadores de daño miocárdico en perros con enfermedad valvular degenerativa	N.º 1, pp. 40-45
Vega- Pérez C. A	Apropiación de los elementos de innovación social en organizaciones comunitarias agropecuarias del departamento de Boyacá-Colombia	N.º 3, pp. 299-309
Velasco-Bolaños Juan	Lack of evidence for <i>Mycoplasma</i> spp. in bulk tank milk of herds located in mid-western Colombia.	N.º 3, pp. 268-280
Velásquez L. E	Prevalencia de <i>Fasciola hepatica</i> y Paramphistomidae en bovinos de doble propósito en una hacienda del trópico bajo andino colombiano	N.º 1, pp. 19-32
Vernot D	Perspectivas de uso sostenible del grillo doméstico tropical (<i>Gryllodes sigillatus</i>) para la alimentación humana en Colombia	N.º 3, pp. 310-324
Villa-Arcila Néstor Alonso	Lack of evidence for <i>Mycoplasma</i> spp. in bulk tank milk of herds located in mid-western Colombia.	N.º 3, pp. 268-280
Zapata M. J. E	Evaluation of chemical silage on egg quality parameters in ISA Brown line laying hens (<i>Gallus gallus Domesticus</i>)	N.º 1, pp. 63-74



Revista de la
Facultad de **Medicina Veterinaria**
y de **Zootecnia**

© Universidad Nacional de Colombia, 2022