

ANALES
de la
REAL ACADEMIA
DE CIENCIAS VETERINARIAS
DE ESPAÑA



2016

VOLUMEN XXIV

Número 24

*ANALES DE LA
REAL ACADEMIA
DE CIENCIAS VETERINARIAS
DE ESPAÑA*



2016

VOLUMEN XXIV

Número 24

**Los trabajos de este volumen corresponden
a los originales y correcciones efectuadas
por los propios autores**

**REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS
DE ESPAÑA**

Dirección: C/ Maestro Ripoll, 8

Teléfono: 915 611 799

28006 MADRID

www.racve.es

racve@racve.es

ISSN: 1135-2795

Depósito legal: M. 10.260-1995

Maquetación e Impresión:
Real Academia de Ciencias Veterinarias de España

CONSEJO EDITORIAL

Presidente de la RACVE

Arturo Ramón Anadón Navarro

Vice-Presidente de la RACVE

Francisco Antonio Rojo Vázquez

Secretario General de la RACVE

Salvio Jiménez Pérez

Bibliotecario

Amalio de Juana Sardón

Sección 1ª.

Leopoldo Cuéllar Carrasco

Guillermo Suárez Fernández

Sección 2ª.

Elías Fernando Rodríguez Ferri

Sección 3ª.

Francisco Tortuero Cosialls

Antonio R. Martínez Fernández

Sección 5ª.

Miguel Ángel Vives Vallés

ANALES DE LA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS DE ESPAÑA

VOL. XXIV	2016	Núm. 24
-----------	------	---------

SUMARIO

	<i>Pág.</i>
Conferencias y Actividades:	
«El libro de caça de las aves de Don Pero López de Ayala». Excmo. Sr. Dr. D. Eduardo Respaldiza Cardeñosa (Discurso de apertura del curso 2015-2016) (18-01-2016)	9
«Comentando algunos aspectos medioambientales de la encí- clica LAUDATO SI. Sobre el cuidado de la casa común». Excmo. Sr. Dr. D. José Manuel Etxániz Makazaga (08-02-2016)	41
«Mesa Redonda sobre Reconocimiento científico al descu- brimiento de la ivermectina y su contribución terapéutica». – Coordinada por el Excmo. Sr. Dr. D. Arturo Ramón Anadón Navarro – Dr. Jaime Méndez Vigo – Excmo. Sr. Dr. D. Antonio Ramón Martínez Fernández – Excmo. Sr. Dr. D. Francisco Antonio Rojo Vázquez (29-02- 2016)	43
«Desarrollos en Vacunología Veterinaria». Excmo. Sr. Dr. D. Elías Fernando Rodríguez Ferri (07-03-2016)	71
«Desarrollo de nuevos alimentos; Mi experiencia en produc- tos pesqueros». Dr. D. Antonio Javier Borderías Juárez (14-03- 2016)	75

«Veterinaria en España. Visión Global de la Profesión». Ingreso Académico de Honor: Excmo. Sr. Dr. D. Felipe Vilas Herranz (04-04-2016)	85
«Mesa Redonda sobre La Farmacovigilancia como herramienta de mejora en la sanidad animal».	
– Coordinada por el Excmo. Sr. Dr. D. Arturo Ramón Anadón Navarro	
– Sr. D. Ramiro Casimiro Elena	
– Sra. D ^a . Isabel Marzo Lázaro	
– Sr. D. Luís Miguel Jiménez Galán	
– Sr. D. Alfredo Fernández Álvarez (11-04-2016)	97
«Mesa Redonda sobre Los retos de la investigación en Ciencias Veterinarias».	
– Coordinada por el Excmo. Sr. Dr. D. Arturo Ramón Anadón Navarro	
– Excmo. Sr. D. Juan María Vázquez Rojas	
– Excmo. Sr. Dr. D. José Julián Garde López-Brea (18-04-2016)	137
«Artemisina». Excmo. Sr. Dr. D. Antonio Ramón Martínez Fernández (25-04-2016)	139
«Alimentos modificados genéticamente. La Biotecnología en la Industria Alimentaria». D ^a . Ligia María Guerra Bone (09-05-2016)	141
«Riesgos Biológicos emergentes para la Sanidad Animal, Salud Pública y Seguridad de los alimentos». Ingreso Académico de Honor: Excmo. Sr. Dr. D. Juan José Badiola Díez (23-05-2016)	143
«Anisakis y alergia». Excma. Sra. Dra. D ^a . María del Carmen Cuéllar del Hoyo (30-05-2016)	161
«Biotecnología aplicada a los verracos de los centros de inseminación artificial para potenciar su capacidad reproductiva». Ilmo. Sr. D. Raúl Sánchez (20-06-2016)	199

« Algunos aspectos históricos menos conocidos de las enseñanzas y titulaciones zootécnicas en España ». Excmo. Sr. Dr. D. Amalio de Juana Sardón (27-06-2016)	201
« Células tumorales circulantes como biomarcador predictivo y subrogado para enfermedad mínima residual en cáncer de pecho ». Ingreso Académico Correspondiente Extranjero Ilmo. Sr. Dr. D. James M. Reuben (26-09-2016)	203
« Primer “Corpus lexicográfico” de términos históricos de la albeitería española ». Excmo. Sr. Dr. D. Luis Ángel Moreno Fernández-Caparrós (10-10-2016)	205
« El control de los biofilms: un reto para la ciencia y la industria alimentaria ». Prof. ^a Dra. D. ^a Belén Orgaz Martín (17-10-2016)	207
« El síndrome de despoblamiento de las colmenas: hipótesis y evidencias ». Prof. ^a Dra. D. ^a María Aranzazu Meana Mañes (24-10-2016)	225
« Nuevos métodos in silico y clásicos de selección de moléculas farmacológicamente activas ». Prof. Dr. D. José Antonio Escario García-Trevijano (07-11-2016)	267
« Sedes madrileñas de la Escuela de Veterinaria: arquitectura y profesión (Recoletos, San Francisco, Curtidores, Embajadores) ». Ilmo. Sr. Dr. D. Ángel Salvador Velasco y Sra. D ^a . Laura R. Salvador González (14-11-2016)	301
« Animales cervantinos ». Excmo. Sr. Dr. D. Salvador Gutiérrez Ordóñez (21-11-2016)	365
« Recubrimientos comestibles ». Sra. Dra. D ^a . M ^a . Elvira López Caballero (28-11-2016)	367
« Mesa Redonda sobre El imaginario animal en el Quijote »	
– Coordinada por el Excmo. Sr. Dr. D. Luis Ángel Moreno Fernández Caparrós	
– Excmo. Sr. Dr. D. Miguel Ángel Vives Vallés	
– Excmo. Sr. Dr. D. Luis Mardones Sevilla	
– Excmo. Sr. Dr. D. Miguel Ángel Aparicio Tovar	
– Excmo. Sr. Dr. D. José Manuel Pérez García (12-12-2016) ...	369

«Situación del sector porcino español, su comercio exterior y sus riesgos sanitarios». Excmo. Sr. Dr. D. Quintiliano Pérez Bonilla (19-12-2016)	371
Premios de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España 2016	373
Memoria actividades académicas curso 2016	795

**EL LIBRO DE LA CAÇA DE LAS AVES DE
DON PERO LÓPEZ DE AYALA**

DISCURSO DE APERTURA DEL CURSO 2016

EXCMO. SR. DR. D. EDUARDO REPALDIZA CARDEÑOSA

Académico de Número de la RACVE

18 de enero de 2016

Excmo. Señor Presidente,

Excmos. Señores Académicos,

Sras. y Sres.:

El compromiso adquirido en nuestro ingreso como Académico de Número en esta docta corporación, nos obliga a cumplir con el precepto de intervención en solemne sesión para pronunciar el discurso inaugural por riguroso turno de antigüedad. El azar académico ha querido que, este año, recaiga en mi persona la responsabilidad de la apertura del curso, para exponer dicho discurso inaugural.

La elección del tema es una tarea difícil y constituye, con el discurso de ingreso, una de las dos ocasiones más relevantes de nuestra vida académica.

Como conocéis, he titulado mi disertación:

“*El Libro de la caça de las aves de Don Pero López de Ayala*”.

Quiero hablarles de uno de los mejores conocedores del arte de la cetrería en la Edad Media, que supo plasmarlo en la literatura española, de forma concienzuda y extensa, como ningún otro hombre de su tiempo y quien, además, ha sido el más insigne de cuantos hijos ha dado el Noble Valle de Ayala cuya capital administrativa es Respaldiza y que, también, todo hay que decirlo, vio nacer a mi padre. Sirva este trabajo como homenaje a ambos.

INTRODUCCIÓN

En primer lugar, describiremos los acontecimientos históricos y literarios sucedidos en los tiempos que al Canciller Ayala le tocaron vivir.

El siglo XIV

Los reyes de Castilla y León descuidan en este siglo la gran empresa nacional de la Reconquista (Alfonso XI obtuvo, sin embargo, la gran victoria del Salado, frente a los árabes, en 1340, y conquistó Algeciras).

Fueron frecuentes las guerras civiles (así la mantenida por Pedro I *el Cruel* [1350-1369] contra sus hermanos bastardos), que asolaron el país. Enrique III (1390-1406) inició la política africana de Castilla: destruyó Tetuán y comenzó la conquista de las Islas Canarias, empresa que remataron los Reyes Católicos en el siglo siguiente.

Los reyes aragoneses colaboraron con Alfonso XI de Castilla en sus campañas reconquistadoras e impulsaron su propia expansión por el Mediterráneo siéndoles concedida la península de Anatolia, e instauraron el ducado de Atenas. Alfonso IV (1327-1336) conquistó Cerdeña, Pedro IV *el Ceremonioso* (1336-1387) se anexionó el reino de Sicilia; creó la Universidad de Huesca.

A nivel local, en 1332, año de nacimiento del Canciller, se produce la “Voluntaria Entrega” o “Pacto de Arriaga” por medio del cual la Cofradía de Arriaga, compuesta por caballeros de alto linaje, entrega a la Corona de Castilla de Alfonso XI el Señorío de Álava, ante la progresiva disminución en el número de campesinos que moraba sus tierras y la consiguiente mengua en las rentas, sus tradicionales fuentes de ingresos, por la desvinculación de su influencia al cambiar su jurisdicción y pasar a depender de las villas realengas de Vitoria y Salvatierra.

En Europa se inició, dentro de este siglo, la Guerra de los Cien Años (1328-1453) entre Inglaterra y Francia, así como el Cisma de Occidente (1378-1418), que dividió a la Cristiandad, por la existencia de dos papas: Urbano VI y Clemente VII; a la muerte de ambos, el cisma continuó con Bonifacio IX y el aragonés Pedro de Luna (Benedicto XIII). Terminó con el concilio de Constanza y la proclamación de un único Papa: Martín V.

Durante esta dramática centuria vivieron algunos de los máximos poetas europeos. En Italia, Dante Alighieri (1263-1321), Petrarca (1304-1374) y Boccaccio (1313-1375). En Inglaterra, el famoso poeta Chaucer (1340-1400).

La literatura española en el siglo XIV

A este siglo pertenecen aún algunos –los últimos– cantares de gesta.

Prolonga también su vida el mester de clerecía: en cuaderna vía escribe nuestro máximo poeta medieval Juan Ruiz, Arcipreste de Hita. En prosa, destaca, el Infante Don Juan Manuel.

EL ARTE DE LA CETRERÍA

Definiremos el término cetrería, hablaremos de sus orígenes y evolución en el tiempo.

Concepto y bosquejo histórico de la cetrería

Según el *Diccionario de la Lengua Española*, editado por la Real Academia, la **cetrería** es el arte de criar, domesticar, enseñar y curar los halcones y demás aves que servían para la caza de la volatería, o bien, según una segunda acepción, la caza de aves y algunos cuadrúpedos que se hacía con halcones, azores y otros pájaros que perseguían la presa hasta herirla o matarla.

Biológicamente se trata de una simbiosis entre hombre y animal, una relación en la que ambas especies se benefician. Uno de sus mayores expertos mundiales, el que fuera nombrado Cetrero Mayor de España, Félix Rodríguez de la Fuente, la definió como «la primera vez en que el hombre no sometió al animal al yugo y al látigo». El humano captura y liga al ave de presa al propio hombre, por reflejos condicionados, y la entrena en la caza y en la fidelidad.

Se piensa que la cetrería tiene su origen hace más de cinco mil años de antigüedad. Es posible que ya se descubriera en China, ya que existen muchas referencias sobre la práctica de la cetrería antes de Cristo en diversos textos chinos.

El mundo greco-latino no practicó la cetrería. Algunas de las representaciones que se hacen pasar como de cetrería, tan sólo lo son de lo que entre los romanos se llama *aucupio* (captura de pájaros, chuchería, pajaritería). De cualquiera de las maneras, el primer testimonio gráfico, datado en el siglo V d. C., se encuentra en los mosaicos de la Villa del Halconero en Argos (Grecia).

Parece que a Europa occidental llegó de mano de las invasiones godas y así se mencionará en las leyes de los pueblos germánicos que poco a poco fueron traspasando las fronteras del Imperio de Roma y se asentaron al sur de los ríos Rin y Danubio.

En Europa la época dorada de este arte y afición fue la Edad Media, en la que estuvo ligada a la nobleza y a los potentados. Se puede decir que más o menos desde el siglo VI hasta el siglo XVI, en el que se practicaba la caza con halcones y azores, disfrutó de su mayor auge y difusión.

En la Península Ibérica, se ha localizado en el campo arqueológico de Mértola (Portugal) un mosaico, fragmentario, que sólo se puede interpretar como una escena de cetrería. El hecho de que se haya descubierto en un estrato inferior de una construcción musulmana, es un claro indicio de que la cetrería llegó a la Península Ibérica de la mano de los pueblos germánicos. El arte de la cetrería gozó en la Edad Media y Renacimiento de tal prestigio que, de simple modo de caza, pasó a convertirse en símbolo de nobleza e hidalguía.

En lo tocante a la realeza, Fernando III, el Santo, bajo la influencia de su primera esposa, la alemana Beatriz de Suabia, introdujo la altanería en la península. Alfonso X, el Sabio, hijo de ambos, fue uno de nuestros primeros monarcas en procurar leyes que protegieran a las aves de presa. Buen cetrero y conocedor de su biología, en las Cortes de Sevilla de 1252 penaba el expolio de huevos y desanide de pollos sin descañar. También penaba la captura de adultos reproductores. La pena por estos motivos era, de entrada, perder la mano derecha.

Los Reyes Católicos también disfrutaban de la cetrería. Uno de sus cazaderos predilectos, que se llamaba “Los Palacios”, se encontraba

en las inmediaciones de Sevilla. Para su exclusivo disfrute como cazadero dictaron una serie de cédulas, prohibiendo la caza en este paraje.

Una vez descubierto el Nuevo Mundo, ansían contar en sus equipos de cetrería con aves de allá. Por ello pidieron a Colón, en 1494, que les remitiera “Los más halcones que de allá se pudieran enviar”. Posteriormente, en 1523, el propio Consejo de Indias ordenó a Hernán Cortés que cada año enviase a la corte “50 aves de caza”.

En lo que se refiere a los caballeros, el halcón fue tan valorado como la propia espada. Así el Cid, en la hora del destierro, lloró amargamente al contemplar sus alcándaras vacías de halcones y azores. Fernán González, a su vez, hubo de entregar, con dolor del alma, el mejor de sus azores a cambio de la independencia de Castilla, y, el Duque de Lerma, vio como uno de sus más preciados regalos, un halcón nacido y criado en el Archipiélago Canario, se escapaba de sus manos y volaba desde Andalucía hasta su isla de origen, cubriendo el trayecto de 250 leguas (≈ 1400 km) en tan sólo 16 horas.

Acabó decayendo por el progreso de las armas de fuego y la mayor vistosidad y festividad que se podía ofrecer con las partidas de caza mayor, especialmente la montería.

Quienes practican la cetrería pueden llamarse tanto «halconeros» como «cetreros», aunque al parecer, y siguiendo las definiciones ofrecidas por ese diccionario, el «halconero» es más bien el cuidador de las aves, practique o no la cetrería con ellas, mientras que el «cetrero» correspondería a aquel que practica la caza, sea o no uno de los cuidadores de su rapaz. Para los cazadores de volatería (aquellos cetreros que cazan aves mediante rapaz adiestrada) el diccionario de la Real Academia incluye la palabra «volatero».

Hoy es un deporte que, en el mundo occidental, se practica con aves de presa criadas en cautividad, lo cual no supone ningún peligro para las aves salvajes. Sin embargo, aún hay zonas remotas en las que se siguen capturando aves silvestres.

En Oriente, hogar de los mongoles nómadas descendientes de Gengis Khan es una práctica bastante frecuente aún hoy en día, y es el método de subsistencia de parte de la población nómada. Para cazar montados a caballo y con el equipo adecuado entrenan principalmente a águilas que cazan después de que estos han comido y están demasiado cansados como para volar, echándoles una red encima confeccionada por ellos mismos.

A continuación proceden a llevar la nueva rapaz al *ger* (tienda) para mantenerla durante un mes en su interior para que se adapte a tacto, sonidos y los movimientos que hacemos los humanos. Las dos o tres semanas siguientes la llevarán sobre su puño, enseñándole a mantener el equilibrio a galope y a no debatirse en el guante, y acabado esto le enseñarán la tarea más importante: regresar al llamado del cetrero.

Hoy en día, la cetrería en Norteamérica se realiza de forma un poco distinta. Ya no se utiliza el caballo y la necesidad por los espacios ha ido reduciendo en forma significativa el número de personas que la práctica.

Principalmente hay que distinguir si las aves rapaces son de alto o de bajo vuelo, siendo las presas obtenidas de características diametralmente opuestas. Si son de bajo vuelo, las presas son por lo general roedores (ratones, liebres, conejos etc.) o aves que son lentas; las representantes de estas rapaces son las águilas, las aguilillas, los azores y gavilanes que, principalmente, se entrenan al guante o lúa. Si son de alto vuelo, la caza se vuelve más especializada y se obtienen normalmente presas como palomas, cercetas, huilotas, garzas y patos entre otras. Esta cacería es representativa de los falconiformes (halcones y cernícalos) y se entrenan al señuelo.

Dentro de la caza de alto vuelo podemos diferenciar entre altanería, que resulta ser el lance de caza en que se suelta el halcón para que tome altura, antes de que la presa (generalmente perdices, codornices, sisonos y faisanes) se haya levantado y el mano a mano, a vista o a brazo tornado, lance de caza en que se suelta el halcón después de que la pieza se levanta.

El primer paso después de obtener a la rapaz es acostumbrarla al contacto humano, mediante el control de peso se empiezan a hacer menos agresivas y comienzan a condicionarse sus sentidos alimentándolos en el señuelo o guante. Aproximadamente después de un par de semanas el halcón está listo para llevarlo al campo y se le dan vuelos rectos con el fiador. Después de que ya existe una respuesta incondicional al señuelo o a la lúa, el halcón ya vuela suelto y responde a los silbidos o llamados del cetrero.

La cetrería en los textos literarios

La historia de los textos de cetrería es extensa. Comenzó en el siglo IX con un brevísimo tratado, que se ha conservado fragmentaria-

mente, que contiene un recetario para el cuidado de las aves que se conoce como Anónimo de Vercelli. A este le seguirá la gran tríada normano-sícula formada por *Dancus Rex*, *Guillelmus falconarius* y *Gerardus falconarius*.

Esta primera época, en las que los libros se ocupan básicamente del *halcón enfermo* se cierra con el *De arte venandi cum avibus* del Emperador Federico II una extensísima obra (seis libros o partes) en los que el primero es, en realidad, un estudio de ornitología, el segundo trata del entrenamiento y los restantes de la caza. Se tradujo al francés medieval a finales del siglo XIII y en la actualidad disponemos de traducciones al español, francés, italiano e inglés.

En la Península Ibérica, además de los primitivos textos latinos y algún que otro de origen árabe cabe destacar *El libro de la caza* escrito por el Infante Don Juan Manuel hacia 1325: Es un breve tratado -doce capítulos- que se dedica a la cetrería. Hasta ahora se le creía absolutamente original y que entre sus líneas se dejaban entrever ligeras reminiscencias de los antiguos tratados de cetrería escritos en latín. Sin embargo, recientemente, se ha demostrado que se basa en el *De arte venandi cum avibus* del Emperador Federico II de Hohenstaufen. El último capítulo, que está incompleto, ofrece una guía de los mejores cazadores de los reinos de Castilla y León. Son una interesante fuente para el conocimiento de la distribución de aves en la España medieval.

Sin embargo, el *Libro de la caza de las aves* de Pedro López de Ayala, se ha erigido en la obra básica de la cetrería hispánica hasta el punto que se considera un tratado que ha gozado de gran aceptación por parte de los cetreros de habla española, entre cuyas páginas se han formado la gran mayoría.

Así mismo, debo mencionar el más reciente *Libro de Cetrería de Caza de Azor*, del experto cetrero y Montero Mayor del Emperador Carlos V, Fadrique de Zúñiga y Sotomayor, primer impreso español de caza en sentido estricto, que vio la luz en 1565.

BIOGRAFÍA DEL CANCELLER AYALA

Sin lugar a dudas, el ayalés de más renombre, tanto a nivel nacional como internacional, es Pero (Pedro) López de Ayala, conocido como el Canciller Ayala. Nació en 1332, aunque no se sabe exactamente donde, siendo una de las posibilidades que se barajan Quejana (Álava), si bien algunos autores señalan a Vitoria como el lugar donde se produjo tal acontecimiento.

Fueron sus padres Fernán Pérez, también una figura importante en la historia de Ayala, y Elvira Álvarez de Ceballos.

Su educación discurrió en sus primeros años entre la tierra de Ayala y Toledo, a donde fue llamado por su tío abuelo el cardenal Barroso. Esta estancia en Toledo le permitió obtener una buena formación cultural en sus primeros años. Gozó de un ambiente intelectualmente selecto y se aficionó a la lectura, afición que mantuvo el resto de su vida. En esta época inicia la carrera eclesiástica que deja a la muerte del cardenal. Entonces se traslada a Avignon, lo que le permite conocer a los clásicos, a la vez que aprende griego y latín.

A partir de 1353 comienza su carrera política al lado de Pedro I “El Cruel”. En 1360, este rey recompensa sus servicios nombrándole Alguacil Mayor de Toledo. Sin embargo, seis años después, el futuro Canciller se cambia al bando de Enrique de Trastámara, hermanastro de Pedro I y pretendiente al trono de Castilla. El señor de Ayala permanecerá fiel a este nuevo rey y a sus sucesores hasta su muerte.

En 1372 comienza su actividad diplomática en nombre de Enrique II de Trastámara. Es en este momento, cuando a consecuencia de la participación de Castilla en la Guerra de los Cien Años y en la política europea del siglo XIV, la flota castellana obtiene la importante victoria de la Rochelle, que abre a las naves castellanas las rutas comerciales de Flandes, siendo López de Ayala uno de los componentes de la delegación castellana encargada de fijar políticamente los beneficios de esta victoria.

A partir de entonces, su vida será un continuo viajar entre Castilla y París con la misión de afianzar la alianza entre Francia y Castilla. Se puede decir de Don Pedro que se encuentra presente en los grandes frentes de la política castellana de la segunda mitad del siglo XIV. Su personal talante negociador y el conocimiento del francés y del latín lo convierten en una persona muy apta para la política internacional castellana que Enrique II y sus sucesores Juan I y Enrique III, supieron aprovechar.

En 1383, en la batalla de Aljubarrota contra los portugueses, Don Pedro es hecho prisionero durante varios meses hasta que se paga por parte de su familia, amigos y los reyes de Castilla y Francia, un rescate de 30.000 doblones de oro, dejando en prenda a su hijo mayor hasta efectuar el desembolso completo del mismo. En este tiempo es-

cribió el *Libro de la Caza* y muchas estrofas de su obra poética *Rimado de Palacio*.

En 1398 es nombrado Canciller Mayor de Castilla, cargo con el que llegó al cenit de su carrera política al haber conseguido alcanzar el puesto más alto de la administración castellano-leonesa. También fue nombrado Merino de Álava y Guipúzcoa. En el ocaso de sus días, se retira al monasterio jerónimo de San Miguel del Monte que él mismo había fundado, cerca de Miranda de Ebro. Murió en Calahorra en 1407, a los 75 años de edad, siendo Señor de Ayala y Salvatierra, de Arceniega, Llodio y Orozco.

Según se dice, era Ayala “*un hombre sereno y calculador, no dado a exaltaciones vehementes, ni a acciones violentas, ni tampoco se aprovechó de su situación de privilegio para enriquecerse provocando la envidia y el descontento de los demás*”. De hecho, no se tienen noticias de usurpaciones que empañaran su imagen o crearan conciencia de hombre pendenciero, sino más bien, la que nos ha sido transmitida es la de un consejero ecuánime, un diplomático eficiente y no muy buen soldado.

Su sobrino, Fernán Pérez de Guzmán, dejó escrito sobre el Canciller:

“Fue este Don Pero López de Ayala alto de cuerpo y delgado e buena persona, hombre de gran discreción e autoritat, y de gran consejo, así de paz como de guerra...Fue de muy dulce condición e de buena conversación, y de gran consciencia, que temía mucho a Dios. Amo mucho las sciencias, diose mucho a los libros e historias, tanto, que como quier que el fuese asaz caballero y de gran discreción en la pratica del mundo, pero naturalmente fue inclinado a las sciencias. E con esto gran parte de tiempo ocupaba en leer y estudiar, no en obras de derecho, sino en Filosofia e Historias...e hizo un buen libro de caza, qu’el fue mucho cazador, e otro libro llamado Rimado de Palacio. Amó muchas mugeres, más que a tan sabio caballero como él se convenía”.

Pero a pesar de la gran importancia que tuvo como político, destacó sobre todo por sus obras literarias. Sus principales obras son: *Libro de la caza de las aves*, *Crónicas de los reyes de Castilla: Pedro I, Enrique II, Juan I y Enrique III*, y el *Rimado de Palacio*. Además tradujo numerosas obras al castellano: *Las Décadas* de Tito Livio, *Morales* de San Gregorio, *De Consolatione* de Boecio, *La caída de los príncipes* de Bocaccio, *De summo bono* de San Isidoro y *La Historia de Troya* de Colonna.

En su moralizante obra el Canciller fustiga, con irritada indignación, los vicios sociales y las malas costumbres de la época.

En opinión de algunos autores, su obra *Crónicas de los reyes de Castilla* es la que ha conseguido perpetuar su nombre ya que gracias a ella se le considera el primer historiador moderno.

También es importante su labor de patronazgo artístico. Será en los años finales del siglo XIV cuando comienza esta actividad con la construcción de la capilla de Santa María del Cabello en Quejana y el conjunto que esta acoge: el retablo, el frontal del altar y el sepulcro. Todos ellos se agrupan en la capilla del torreón y se ejecutan en las mismas fechas, respondiendo al interés de crear un ámbito funerario apropiado donde reposar definitivamente.

LIBRO DE LA CAÇA DE LAS AVES

Entre 1385 y 1386, durante los quince meses que estuvo preso en una jaula de hierro, en el castillo de Óbidos, tras la batalla de Aljubarrota (14 de agosto de 1385), el Canciller Pedro López de Ayala, gestó el más famoso y difundido libro español de cetrería de todos los tiempos, que dedica a su amigo, Don Gonzalo de Mena, obispo de Burgos. Lo escribió porque en «esta arte e çiençia de la caça de las aves oy e vi muchas dubdas [...] e por esto acorde de trabajar por non estar oçioso de poner en este pequeño libro todo aquello que mas cierto falle». Ese «pequeño libro» no es otro que el *Libro de la caça de las aves*.

El *Libro de la caça de las aves* está constituido por tres partes fundamentales. La primera, que comprende los capítulos I-VII y XLI-XLV, habla con todo detalle de las diversas aves de rapiña; comienza por describir y diferenciar las auténticas aves de rapiña de las que no lo son, para continuar con la descripción de las especies utilizadas en la caza y su distribución geográfica.

La segunda sección, dedicada a la enseñanza y entrenamiento de las aves de caza, ocupa un único capítulo, el VIII, que, además de ser la más extensa de todas, está totalmente cuajado de anécdotas de otros tiempos mejores.

La tercera es la médico-farmacéutica (capítulos IX-XL y XLVI). En ella sigue un esquema lógico: primero describe y explica las causas de la enfermedad o herida, después expone los síntomas para, en último lugar ofrecer los remedios, con su célebre frase: «E esta dolencia se

cura assy». Esporádicamente incluye recomendaciones para mantener más sanas las aves de caza.

Al final hay tres capítulos que suponen una auténtica novedad y que se harán tópicos en la producción cetrera posterior. Uno lo dedica a lo que llama «el passo de las aves» (cap. XLV), es decir, a los movimientos migratorios y a qué se deben, con lo que quizá nos encontremos ante el primer estudio ornitológico en lengua española. En el capítulo XLVII expone el «feramental de mjsteryo», que no solo incluye caperuzas, lonjas, pihuelas, gañivetes, luvas, etc., sino también las drogas y simples necesarios para tratar y curar las aves de caza. Estos últimos capítulos no son totalmente originales pues el Canciller traduce, adapta y amplía el *Livro de falcoaria* de Pedro Menino, falconero del Rey Don Fernando de Portugal.

El libro de López de Ayala ha gozado de una amplísima difusión manuscrita y ha sido fuente de varias obras, amén de una sátira. En la actualidad se conocen 35 copias, la mayoría conservadas en la Biblioteca Nacional de España, pero también las hay en Gran Bretaña (1 copia), Francia (2 copias), Italia (3 copias), Estados Unidos (4 copias) así como en manos privadas (más de seis copias), incluida una perteneciente a la Casa de Alba, siendo todas ellas realizadas entre principios del siglo XV y el XVIII. A pesar de ello, no conoció las prensas hasta el último tercio del siglo XIX, cuando la Sociedad de Bibliófilos Españoles publicó la primera edición, aunque con un título ligeramente distinto: *Libro de las aves de caza*. Desde entonces han aparecido seis ediciones con distintas filosofías editoriales y diferentes interés y éxito.

ESTUDIO COMPARATIVO DE ALGUNAS DE LAS ENFERMEDADES ABORDADAS EN EL *LIBRO DE LA CAÇA DE LAS AVES*

Estableceremos un paralelismo entre la forma que tuvo Don Pedro López de Ayala a la hora de describir algunas patologías, en su *Libro de la caça de las aves*, y el enfoque actual de las mismas.

En muchas ocasiones es difícil saber la enfermedad que describe el Canciller, ya que los síntomas que detalla son poco específicos o los nombres que utiliza están en desuso.

Los capítulos a desarrollar, no se han elegido caprichosamente, sino en función de las posibles correspondencias que podrían efectuarse con algunas de las enfermedades que hoy en día están descritas como

más frecuentes en las aves de presa, de manera que, estudiaremos, si bien de forma somera, tres dolencias con origen microbiano (tuberculosis, aspergilosis y viruela), tres de tipo parasitario (tricomoniasis, infestaciones por nematodos filarioideos e infestación por piojos) y una atribuible a un mal manejo de los animales (clavos).

Capítulo IX. Cómo se debe limpiar el halcón del piojo

– Visión del Canciller:

«Los halcones, así los que traen de Noruega, que vienen de Flandes, como los que toman zahareños, lo primero que les debes hacer es bañarlos del piojo. Pues no hay duda que los que traen de Flandes tiene piojo por la compañía de muchos halcones que vienen juntos, y los que se toman bravos tienen piojo de las aves que cazan para cebarse cada día, y hasta que los baños y limpiees no pueden estar en su sabor, ni harías de ellos lo que quisieres, ya que luego que le da el sol al halcón y el piojo bulle, tanto tiene que preocuparse que no cuida de otra cosa, porque la pluma se le calienta, y el piojo muévese, y le hace picotearse y a las veces perderse. Y como dije, cuando son pollos, el oropimente, arsénico sulfurado, es buen baño para ellos. Pero en cuanto han mudado, y están bien vestidos de hermosas plumas, no los quieren los cazadores teñir del oropimente.

Para limpiarlo, cuando tu halcón mudado sintieres que tiene piojo (se lo verás en que toda la noche suena los cascabeles y no sosiega, rascándose con los pies, y sacudiéndose a menudo, y algunas veces son tantos, que los verás salir al sol por encima de las plumas), tomarás para un halcón una onza de pimienta bien molida y cernida, y un cuarto de onza de favarraz molido (albarraz, hierba piojera o *Delphinium staphisagria*), átalo en un trapo y ponlo en un bacín, o en una gamella pequeña con agua tibia y algún vino blanco, cuantía de la cuarta parte, y haz salir toda la fuerza de los polvos de la pimienta y el favarraz que tienes en el trapo, en el agua, y después pon un paño de lino en el bacín, y coge tu halcón dulcemente, que no lo aprietes, para que no se hiera en los hombrillos y en las espaldas, porque tiene allí los huesos y poca carne; ten alguno que te ayude; derriba tu halcón, mójale bien todas las plumas con el agua, así revuelta con el polvo de la pimienta y favarraz, como se dijo, y, cuando lo hubieres así bañado, envuélvelo con un paño de lino limpio, y esté así encamisado un tiempo encima de un faceruelo, y después, desenvuélvelo y tómallo en la mano, tenlo al sol hasta que se vaya enjugando y veas salir el piojo, y quítaselos luego con una caña así

como fuesen saliendo, y a los cuatro o cinco días pruébale el agua dulce para que se bafle si quisiere».

– Visión moderna:

Los parásitos externos de las aves están considerados como verdaderos piojos o masticadores y pertenecen al orden *Mallophaga*, dentro del cual se incluyen dos importantes subórdenes, *Ischnocera*, que únicamente vive en el plumaje muerto y las escamas de la piel, y *Amblycera*, que consume la sangre del hospedador. Producen deterioro de las plumas e irritación y no afectan seriamente a la salud. Infestaciones masivas pueden imposibilitar el vuelo. Las aves los adquieren en el nido de sus propios padres. La línea de sucesión de estos parásitos es tan antigua, que los naturalistas conceden gran importancia a la identificación de sus estirpes de cara al estudio de la filogenia de las aves.

El ciclo biológico se completa en seis semanas y tiene lugar en el hospedador. Las hembras ponen sus huevos en el mismo. La vida del parásito se prolonga entre dos y tres meses.

El contagio puede darse a través del contacto directo o a través de los suelos de halconeras, alcándaras y bancos contaminados.

El tratamiento con piretroides resulta efectivo.

Capítulo XIII. Del halcón que deseca

– Visión del Canciller:

Causas y síntomas:

Muchas veces acaece que por malas viandas y mal pensamiento, y no comer los halcones cuando deben, o comer poco o viandas frías y no frescas, o no ser purgados al tiempo que deben, adolecen y crécenles las dolencias y gástanse cada día, de manera que muchas veces vienen a desecar. Desecan asimismo por hidropesía que tienen, y también deseca el halcón cuando es herido en el cuerpo, y no se le cura como debe, y cada día se le gasta el cuerpo; después que el halcón comienza a desecarse, aunque coma no le aprovecha, ni tiene fuerza en sí, y lo verás triste y apretado y sacúdese flojo, no tira ni despluma y gástasele la carne; debes socorrerlo al comienzo de esta dolencia, porque después, aunque quieras, no le valdrá; y el remedio es éste:

Recetas de reposo:

Tenlo en buen régimen, dándole poco a poco buena vianda, ceretas, negretas, aviones, si es tiempo de ellos, y palominos, y paloma a

degollar; beba la sangre, mas no coma la carne de la paloma. Dale la vianda que le hubieres de dar mojándola en leche de cabras; pero no le des gran papo, y dale la suelda (*Symphytum officinale*), y no le des pluma ni hueso con que haya de trabajar, y tenlo en buena casa, dale sol en que piense de sí, ponlo en el agua si quisiere beber, no te ocupes en mostrarle el señuelo, antes haz todo cuanto pudieres por enorgullecerlo y ponerlo en carnes hasta que sea recio, ya que si en tales dolencias no mejora pronto, tarde se recobra».

– Visión moderna:

Las enfermedades a las que puede referirse el Canciller, en esta ocasión, son la tuberculosis, bastante frecuente en rapaces, teniasis, aspergilosis, e incluso problemas de abscesos, ya que el hígado se ve afectado y no funciona bien.

La tuberculosis aviar se encuentra muy extendida por todo el mundo y, sobre todo, entre las aves de presa. Muchos propietarios de rapaces han perdido algún ejemplar por esta causa. Está producida por *Mycobacterium avium*, un microorganismo particularmente resistente a los desinfectantes. Cursa de forma crónica y los principales síntomas son la pérdida progresiva de peso, a pesar del buen apetito del animal, y un incremento en la ingestión de agua. El contagio se suele ocasionar al tragar las presas contaminadas o por contacto directo con las materias fecales de estos animales. La transmisión habitual es por vía oral, aunque en ocasiones puede producirse por el tracto respiratorio o a través de heridas, describiéndose tres formas de la enfermedad:

- Respiratoria: son raras las lesiones tuberculosas excepto en los pulmones. Estas aves pueden presentar síntomas respiratorios similares a la aspergilosis.
- Piel y musculatura: las garras de otras rapaces suelen provocar lesiones en la piel, membrana subcutánea y musculatura. En el lugar de la infección se desarrolla un nódulo, que se va agrandando hasta convertirse en un granuloma del tamaño de una nuez, albergando material caseoso en su interior. En muchas ocasiones, se observa la existencia de infecciones secundarias, casi siempre atribuibles a *Acinetobacter baumannii* multirresistentes.
- Generalizada: es la forma más común y están afectadas distintas vísceras, principalmente el hígado y el tracto gastrointestinal.

Las aves enfermas adelgazan a pesar de ser bien alimentadas, terminan perdiendo el apetito y mueren con un alto grado de emaciación.

Los pulmones y el hígado, según el caso, presentan infinidad de nódulos tuberculosos, con muy poco tejido noble. El bazo también puede verse afectado existiendo esplenomegalia.

Un exceso de trabajo de las rapaces y los enfriamientos que puedan sufrir éstas, son factores determinantes de la dolencia.

El tratamiento no es recomendable al tratarse de una zoonosis transmisible a personas inmunodeficientes, como es el caso de los enfermos de SIDA.

La combinación de isoniazida, etambutol y rifampicina ofrece un pobre pronóstico, en general, ante una reactivación de la infección.

La clamidiasis u ornitosis, cursa también de forma crónica, y los principales síntomas son descarga nasal y ocular, acompañadas de diarrea y pérdida de peso. Sin embargo, parece que las posibilidades de infección eran mínimas, aunque no totalmente descartables. La enfermedad es originaria de Sudamérica, territorio desconocido en aquella época, y Asia, continente desde el cual se traían aves exóticas hasta Europa.

Capítulo XV. Del halcón que tiene güérmece

– Visión del Canciller:

Primera clase:

Causas:

Los güérmece se engendran en la cabeza del halcón por muchas maneras: los primeros güérmece se engendran en la cabeza cuando el halcón está lleno de agua que corre por las narices a la boca, caliéntala y con aquella putrefacción hace los güérmece, y no son de peligro, pero debes curarlo de esta guisa:

Recetas:

Toma un paño de lino limpio y mojado en vino blanco, lávale la boca con él, rocíale con el vino la cabeza y el rostro, y usa esto hasta que sea sano.

Segunda clase:

Otros güérmece hay que se engendran en la cabeza del halcón; éstos son de heridas de huesos cuando comen, y esto ocurre a los halcones que son garganteros, traban de huesos y lláganse en las bocas, y estos güérmece no son de peligro.

Curación:

Debes curarlos con una paleta muy sutil, cuando estuvieren bien maduros, que no hagan sangre, y después ponle miel en aquellas llagas y curará pronto.

Tercera clase:

Güérmece hay que se engendran en la boca del halcón; de éstos hablaremos y declararemos porque son más peligrosos que todos los otros. Todos los cazadores conocen estos güérmece que digo peligrosos; son blancos, en figura de granos tan grandes como mijo, y mayores, y están por toda la boca y las hendiduras de la lengua, y entran hasta en la garganta, y es dudoso si podrán sanar o no. Pero debes curarlos de esta guisa:

Curación:

Toma una paleta sutil de plata o de hierro, que no sea de caña, que le cortaría y haría sangre, y quítalos grano a grano, de manera que no sangren; toma piedra alumbre y muélela; échasela en aquellos lugares de donde quitares los güérmece, y tenlo derribado un rato hasta que aquel polvo de la piedra alumbre que echaste haga su obra, que no lo sacuda el halcón, y haz esto de tres en tres días, o antes si vieres que tiene necesidad.

Cuarta clase:

Otros güérmece hay en las orejas, y éstos no se deben curar, más que quitándolos con una paleta y llenando las orejas de algodón dos veces al día.

Síntomas:

Los más de los halcones que los tienen traen abierta la boca y no la pueden cerrar, y cuando vieres así la boca abierta, luego ten guarda de estos güérmece sobredichos; párale mientes en la boca, y en aquel

lugar debajo de la lengua donde las bestias tienen el galillo, y mira si tienen aquel lugar hinchado.

Curación:

Si vieres que lo tiene hinchado, toma una lanceta muy aguda, y rómpela a lo largo sin duelo, y si el halcón tiene dentro güérmece, quítaselos y métele dentro algodón envuelto con miel.

Sábetete que el halcón que tiene esta dolencia no quiere comer y debes meterle buena vianda en la boca por fuerza, para que coma, porque no poniéndosela así moriría el halcón por desamparo, y con esto puede curar; porque esta dolencia es mortal, y es menester curarla sutilmente».

– Visión moderna:

Según los datos aportados, los güérmece de primera clase podrían identificarse con la micoplasmosis, los de segunda con una estomatitis, los de tercera con la tricomoniasis y los de cuarta con la aspergilosis y candidiasis. Tampoco hay que descartar la capilariasis oral y la viruela aviar.

Los antiguos cetreros llamaban güérmece a una enfermedad muy común en las aves de presa, sobre todo en las falcónidas, que hoy conocemos con el nombre de tricomoniasis o frounce. Está causada por un protozoo flagelado, *Trichomonas gallinae*. Casi todas las palomas, tanto salvajes como domésticas, suelen estar infectadas y se consideran portadoras. La transmisión a los depredadores es bastante factible.

Las primeras manifestaciones clínicas consisten en una cierta dificultad del animal para mantener el pico cerrado y deglutir los alimentos. Se forman placas blanquecinas en orofaringe, esófago y buche. Al levantarlas se desprende una masa caseosa y se ocasiona una leve hemorragia. Contrariamente a lo que sucede con las placas diftéricas, están muy bien delimitadas del tejido sano y su extensión no es sólo superficial, sino que constituyen verdaderos corpúsculos. Se suelen producir infecciones secundarias por *Pseudomonas aeruginosa*. Sin tratamiento, la masa caseosa crece hasta impedir totalmente la deglución y la respiración del ave enferma, provocando disnea y, finalmente, la muerte de la misma.

En el diagnóstico diferencial se debe tener cuidado para no confundirla con la difteria aviar, candidiasis o deficiencia en vitamina A.

El tratamiento con dimetridazol, carnidazol, metronidazol o furazolidona suele ser efectivo. La prevención radica en la alimentación de las aves con presas, a las que se ha decapitado, eviscerado y congelado, al menos 24 horas antes.

La aspergilosis se conoce desde hace unos 150 años pero se supone que existía desde mucho antes. Puede provocar la muerte en rapaces. Su principal agente etiológico es *Aspergillus fumigatus*, un hongo oportunista, aunque podemos también encontrarnos con otras especies del mismo género como *A. flavus* o *A. niger*. Es frecuente en ambientes cerrados, húmedos y mal ventilados, pudiendo aparecer cuando existe desnutrición por malas prácticas de adiestramiento. No hay evidencia de que se transmita directamente de un animal a otro, pero sí a través de un ambiente contaminado. Las aves presentan lesiones nodulares en los pulmones, sacos aéreos y, a veces, en la tráquea.

Cuando se manifiestan los síntomas clínicos, los pulmones de la rapaz están ya destrozados, observándose disnea, abatimiento, pérdida del apetito e intolerancia al ejercicio. Sorprendentemente las alteraciones respiratorias no son las dominantes en el cuadro clínico.

Si la infección se produce con un alto número de esporas, la enfermedad suele ser aguda dando lugar a un proceso sistémico con disnea, diarrea, anorexia y muerte en menos de una semana. La forma crónica es la más habitual afectando, aún con baja dosis infectiva, a aves inmunodeprimidas por mala alimentación, quizás una hipovitaminosis A, reduciendo las defensas naturales de las estructuras respiratorias con su epitelio escamoso estratificado alterado. Este cuadro también es frecuente en aves recientemente importadas, individuos jóvenes, animales que realizan un trabajo excesivo y aquellos sometidos a corticoterapia o antibioterapia prolongadas.

Los lugares primarios de asentamiento de las esporas son la siringe y los sacos aéreos torácicos caudales y abdominales con posterior migración hacia pulmones, tras lo cual suelen aparecer los primeros síntomas, que se resumen en abatimiento, pérdida de peso, vómitos, polidipsia y poliuria además de biliberdinuria y ocasionalmente tortícolis y posterior paresia, todo ello agravado por una gran dificultad en la respiración en los últimos estadios de la enfermedad.

La lesión más común son los aspergilomas granulomatosos.

Los parámetros clínicos más habituales suelen ser una profunda alteración del hemograma con gran elevación de las Beta y Gamma

globulinas, anemia no regenerativa, hiperproteinemia, marcada leucocitosis con heterofilia y monocitosis además de linfopenia.

Normalmente la enfermedad se manifiesta en animales en los que el proceso está muy avanzado. El diagnóstico es complicado puesto que la única forma fiable es la toma directa de muestras de las zonas afectadas. Para ello hay que tener en cuenta que estamos hablando de aves comprometidas a las cuales hay que someter a una anestesia. La radiología puede ayudar puesto que los aspergilomas son radiodensos. Son igualmente de utilidad la serología, pudiéndose realizar técnicas ELISA o fijación del complemento. El cultivo y estudio histopatológico a partir de biopsias de zonas afectadas resultan definitivos.

A continuación se exponen los tratamientos más utilizados frente a *Aspergillus*:

- **Amfotericina B:** IV o en los sacos aéreos afectados, dos veces al día durante 5 días.
- **Ketoconazol:** Oral, tres veces al día durante 10 días.
- **5- Fluocitosina:** Oral, tres veces al día durante 20 a 30 días.
- **Kapracidina A:** Oral, tres veces al día durante 5 días.
- Nebulización con **enilconazol** durante 20 minutos/día (1ml de compuesto diluido en 10 ml de solución salina) o **clotrimazol**, añadiendo 2ml de principio activo por cada mililitro de agua estéril y alternativamente 10 mg/ml de fármaco en polietilenglicol (solución LOTRIMIN[®]), ambos aplicados de 30 a 60 minutos durante 5 días.

Sin embargo, es mucho más importante prevenir que curar, por lo que en el alojamiento de las aves deben evitarse lugares húmedos y mal aireados, así como materiales tales como el yute, heno o paja, materia fecal y vegetación muerta, aconsejándose un buen drenaje del césped.

Candida albicans es un patógeno oportunista que afecta principalmente a la mucosa orofaríngea y al esófago. Se considera un comensal habitual de la cavidad oral de las rapaces. La enfermedad se manifiesta cuando se ve afectada la resistencia del animal. Los síntomas son escasos, únicamente se aprecia reducción en la ingestión de alimento. Se pueden observar placas blanquecinoamarillentas en la mucosa oral y desaparece el olor bucal típico del ave sana.

Ante la presencia de güérmece, otro diagnóstico es la viruela aviar.

Producida por avipoxvirus, virus ADN, que inducen la formación de cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos y lipofilicos llamados cuerpos de Bollinger (patognomónicos). Pueden ser localizados en células epiteliales afectadas de la piel, tracto respiratorio y cavidad oral.

La transmisión se debe al papel jugado por aves con infección latente y mosquitos. Las rapaces más jóvenes son las más susceptibles de sufrir la enfermedad. Un mosquito que pica a un ave infectada puede tener el virus en sus glándulas salivales entre dos y ocho semanas. El contacto directo se realiza mediante heridas abiertas. El hombre y las superficies que las aves infectadas tocaron, pueden vehicular el virus.

La mayoría de los avipoxvirus estimulan la síntesis de ADN en las células epiteliales del hospedador originando una hiperplasia del epitelio afectado. Las heridas provocadas por los mosquitos permiten la entrada de virus que se replicará en el punto de la picadura para, posteriormente, dar lugar a una viremia y finalmente la distribución a los órganos diana.

Existe una cepa específica de avipoxvirus para las rapaces, *Avipoxvirus falconi*, que afecta principalmente a halcón peregrino, halcón sacre, águila calva, águila real, ratonero de cola roja y ratonero de Harris, todos ellos aves muy recurridas en la cetrería. Se presentan reacciones cruzadas con poxvirus de palomas y pavos. La transmisión del virus, en este caso, no parece muy probable a través de presas infectadas por avipoxvirus. La infección se produce mediante la picadura de mosquitos, o directamente a través de heridas o de las membranas mucosas.

La forma cutánea o “forma seca” es la más habitual en aves de presa. Se caracteriza por lesiones papulares, principalmente en zonas sin pluma, alrededor de ojos, pico, narinas y zona distal del metatarso. En halcones principalmente en dedos. Las lesiones evolucionan desde un color amarillento hasta un marrón oscuro, se forman vesículas que abren espontáneamente, se secan y originan costras. La descamación puede tardar semanas en persistir. Se suelen producir infecciones secundarias por hongos o bacterias.

Esta forma de viruela suele ser autolimitante, por lo que la enfermedad no reviste gravedad alguna. Sin embargo, la importancia radi-

ca en el alto grado de contagio, además de ser un claro indicativo de una inmunosupresión provocada quizás por mal manejo o poca higiene. Se recomienda el aporte de vitamina A, así como antibioterapia no prolongada para prevención de infecciones secundarias.

La forma diftérica es bastante rara. Las lesiones fibrinosas color grisáceas o marrones y de aspecto caseoso se ubican en mucosa de la lengua, faringe y laringe, y más raramente en bronquios, esófago o buche.

La forma septicémica es un proceso agudo en el que los animales presentan plumas erizadas, somnolencia, cianosis y anorexia. La tasa de mortalidad es muy alta (70-99%) en los siguientes tres días tras el comienzo de la presentación de signos clínicos. Es rara en rapaces.

La viruela debe ser tratada por vía tópica y una mezcla diluida de povidona yodada. Remojando o limpiando las zonas afectadas con un algodón o bastoncillo óptico empapado en la solución y luego cubrir la zona con un crema antibiótica, tratamiento eficaz para los casos leves.

Para casos más graves se requiere povidona yodada, aplicando una friega vigorosa en el área y administrando oralmente clindamicina, además de una dieta sana y la reducción del estrés. Los casos más graves pueden requerir tratamiento por cauterización.

Deberá tenerse mucho cuidado si un ave infectada ha tocado, una percha o guante ya que estos deberán ser desinfectados antes de que otra ave lo llegue a tocar. Puede confundirse con la tricomoniasis, candidiasis y capilariasis oral.

Algunos autores hablan de una forma neoplásica y otra neurológica.

Capítulo XXI. Del halcón que tiene filandras o filomeras

– Visión del Canciller:

« Estas filandras o filomeras de que ahora habla este capítulo, es una dolencia de la cual pocos halcones curan, porque es muy grave de entender, y muchos halcones se pierden por ello, porque en el punto que ellas crecen, y son tan grandes como tienen que ser, luego comienzan a comer el cuerpo del halcón, conviene a saber los livianos, después el corazón, y el halcón pronto está muerto, pues casi nunca cura.

Señales:

Digo que cuando estas filandras se engendran en el cuerpo del halcón, debes saber que va muy a menudo con el pico a los costados, alrededor de las ancas y sacúdense muy frecuentemente. Cuando se sacude, aprieta con las manos y estremécese, y debes saber que entonces las está engendrando y puedes socorrerle así:

Receta:

Toma píldoras de acíbar pático; que sean nueve píldoras dadas en tres días, y cuando se las metieres por la boca y vieres que las quiere arrojar, trábale el pico lo más que pudieres para que no las arroje, de manera que quede el olor de ellas en el buche del halcón, y para estas lombrices o filandras, o filomeras, no hay otro remedio.

Los halcones pollos están en mayor peligro de estas filomeras hasta que han mudado, y especialmente en la muda, al caérseles las tijeras, y desde aquí, hasta que desainan, y por tanto aprecian más los cazadores de Francia y Alemania, los halcones mudados, porque están más libres de esta dolencia.

Preventivo:

Sin embargo, oí decir al Vizconde de Illa, que es un gran señor en el reino de Aragón, y es muy cazador y sabedor de los cuidados y dolencias de las aves, que nada en el mundo guarda más al halcón de criar filandras, que hacerle beber, frecuentemente, sangre de gallina. Cuando tu halcón estuviere sano, acostumbra a darle a degollar algunas veces, aunque sólo sea tres días a la semana, una gallina en el señuelo. También le darás las píldoras de acíbar pático, como hemos dicho, cada cierto tiempo, señaladamente al pollo».

– Visión moderna:

Se trata de los nematodos del orden Spirurida, suborden Spirurina, superfamilia Filaroidea y como principales géneros *Serratospiculum* y *Diplotriaena*, que se localizan en sacos aéreos y buche, así como de cestodos.

Los nematodos filaroideos son de aspecto filiforme, muy largos y finos, semejantes a un cabello. Parasitan ordinariamente el primer tramo del intestino, pero pueden pasar al aparato respiratorio, sacos aéreos y aparato circulatorio.

El ciclo biológico es indirecto. Los estadios larvarios se desarrollan en artrópodos como determinadas especies de escarabajos y saltamontes que las rapaces ingieren. Cuando esto sucede la L3, ya desprovista de su cápsula, penetra en el proventrículo y migra directamente a los sacos aéreos, donde sufre dos mudas consecutivas, llegando a L5 o adulto inmaduro. Los adultos, de hasta 20 cm. de longitud, ponen huevos que con la tos pasan al tracto digestivo de la rapaz que, finalmente, los elimina con las heces.

La mayoría de las aves conviven perfectamente con estos parásitos. Un aumento excesivo del número provoca los primeros síntomas de parasitación, que son digestivos. Se observan manchas sanguinolentas en los excrementos y una especie de pedacitos de carne sin digerir.

En fases más avanzadas, el animal pierde peso aunque esté bien alimentado. Finalmente, en el curso de la enfermedad estos nematodos pueden producir aerosaculitis, y bronconeumonía. En ocasiones alcanzan el aparato circulatorio, incluso en animales aparentemente sanos, llegando a obstruir una válvula cardíaca y causar la muerte súbita. Si se localizan en las meninges dan lugar a una sintomatología nerviosa, caracterizada por movimientos descoordinados de la cabeza y parálisis en las extremidades inferiores.

El tratamiento quirúrgico con extracción de adultos en la endoscopia resulta indicado en algunos casos, mientras en otros se opta por el farmacológico con la administración de ivermectina y moxidectina.

Las tenias, gusanos planos y segmentados, se encuentran entre la población intestinal de las aves. En un animal sano, ejercitado y bien alimentado, no se manifiestan síntomas clínicos. Generalmente la acción de los parásitos se suma, y los cuadros de caquexia y trastornos nerviosos pueden atribuirse a nematodos filarioideos, áscaris, coccidios y tenias actuando conjuntamente.

Capítulo XXVI. Del halcón que tiene clavos en los pies

– Visión del Canciller:

«A pesar de que todos los halcones tienen, a las veces, clavos en los pies, los gerifaltes son, de todos los halcones, los que más padecen esta dolencia y son más propicios a ella, porque son de su complexión muy calientes, muy pesados y cargados, y, por tanto, tienen esta dolencia de los clavos y se les hinchan los pies más que a todos los halcones

de cualquier otro plumaje; los alfaneques son también muy propicios a esta dolencia, ya que son de su naturaleza calientes.

Cuando el halcón padece esta enfermedad tiene dolor en los pies y no suele hacer lo que debe por el gran dolor que tiene. Conviene, pues, poner el mejor remedio que pudiese haber, porque la cura de esta dolencia ha de ser muy sutil, por el lugar donde radica, que es en los pies, lugar nervioso, pobre de gobierno y peligroso porque todo el cuerpo se sostiene sobre los pies.

Estos clavos se forman por descendimiento de calor y hácense en las suelas de los pies postillas tan grandes como cabezas de clavos pequeños; por esto se llaman clavos.

Tan pronto aparecen estas postillas, se hinchan los pies y cuando así los vieres, toma las turquesas, del menester de los halconeros, y córtale todas las uñas, de guisa que arrojen sangre. Toma trementina, jabón francés y ceniza de sarmientos; la trementina será lo de más, y el jabón tanto como la mitad de la trementina, y la ceniza, bien cernida, tanto como la mitad del jabón. Échalo todo en una olla pequeña y nueva, hazlo hervir bien sobre brasas, muévelo constantemente con un palo de guisa que todo sea bien mezclado, y cuando vieres que está bien cocido, retíralo, de manera que no se queme, y déjalo enfriar totalmente hasta que se haga un unguento recio como betún. Toma una paleta recia de hierro o de latón, coge de aquella medicina y ponla sobre un cuero de baldés delgado hecho de esta guisa:



Y entre estos cuatro ramales que tiene, sea puesto en un espacio un dedo del halcón, y así los otros dedos, entre dos ramales cada uno, y la medicina susodicha sea puesta delgada en el espacio en medio del cuero entre los cuatro ramales. Los ramales sean largos y sean ligados entre sí desta guisa: toma los ramales delanteros y lígalos tras el zanco, y los ramales zagueros delante contra la planta del pie, en cruz, y déjalo estar así tres días: al fin de ellos quítale el cuero sobredicho.

Para mientes si vieres que crece en derredor una postilla como sostra de bestia, tienta los clavos por si quisieren salir de raíz, y si vieres que se detienen y no se pueden arrancar, ponle la dicha medicina otros tres días, al cabo de los cuales saldrán los clavos, y cuando fueren salidos si vieres que queda dentro de aquella cueva de donde salió el clavo alguna carne podrida, ponle cardenillo molido y la sobredicha medicina otros tres días sobre el dicho cardenillo, ligada como se dijo anteriormente.

Quítese y límpiase a diario aquel unguento, y sea puesto en el pie del halcón después que estuvieren los clavos fuera para limpiar la materia que hiciere la llaga que allí se hizo.

En cuanto vieres que aquella cueva es llena de carne nueva, ponle diaquilón que tienen los cirujanos, de la misma manera en otro cuero tal como el que arriba dijimos.

Una vez esté bien curado, toma aciche, casca de encina y escoria de zumaque, tanto de lo uno como de lo otro, y muélelo bien cada uno sobre sí, y cuando estuviere bien molido, ciérnelo bien, y échalo todo en una olla pequeña nueva, e hínchela de vinagre, el más fuerte que pudieres hallar; hazlo hervir todo bien, meciéndolo siempre, y después que fuere cocido, retíralo. Cuando ya estuviere tibio, toma un paño de lino tan grande que quepan los pies del halcón y mójalo en aquel caldo; pon el paño doblado en cuatro dobleces encima de una piedra redonda como alcándara, en que se pueda bien tener, o en la vara donde suele estar, porque si la piedra estuviere baja, no sosiega tan bien el halcón; y luego pon el halcón encima, de guisa que tenga los pies sobre aquel paño, y esto sea por espacio de medio día. Esto lo harás cada día hasta que veas que el cuero está bien firme en los pies del halcón.

En adelante tráelo en buena lúa, muelle y blanda, de cuero y no de paño, que es caliente; y sea de cuero blando, un poco gruesa, para que el calor de la mano no pase a los pies del halcón. Procura, cuando hiciere sol, si sintieres que se le calientan los pies, ponerlo sobre una piedra fría, y la lúa bajo los pies, aunque esté en la alcándara, y en esta cura manténlo hasta que esté sano».

– Visión moderna:

Este trastorno se conoce actualmente como pododermatitis. Se trata de una infección de las garras con inflamación, formación de abscesos y úlceras de presión. Es una enfermedad multifactorial que suele

causar considerable, a veces irreparable, daño en la piel, músculos, tendones y huesos de las garras de las aves, con elevado dolor que a menudo impide la utilización de las mismas. Los “clavos” no son una enfermedad transmisible «*per se*», pero en el caso de una fuerte infección bacteriana secundaria de la planta otros halcones puestos en el mismo banco pueden llegar a infectarse también.

Causas:

- Falta de ejercicio.
- Sedentarismo en verano y época de muda.
- Infecciones bacterianas normalmente causadas por *Staphylococcus aureus*.
- Heridas (externas o infligidas por el mismo ave).
- Sobrepeso.
- Úlceras de presión por posaderos mal diseñados.
- Deficiencia en vitamina A.

Síntomas de la enfermedad:

- Enrojecimiento de la piel de la planta de la garra.
- Pequeñas heridas en la planta de la garra.
- Inflamación y abscesos en las garras.
- El halcón rehúsa apoyar una pata.

Son muchos los tratamientos que pueden aplicarse, correspondiendo la elección del mismo al veterinario, en función de la gravedad de las lesiones. Así desde la aplicación de baños podales con manzanilla o adición de povidona yodada, hasta el uso de cremas antibióticas, el empleo de cirugía o el uso de plantillas, no muy diferentes a las descritas por el Canciller en su tratado, que parece ser, fueron ideadas por los árabes y de cuya existencia tuvo conocimiento por Pedro Menino, durante su cautiverio en Portugal.

CONSIDERACIONES EPIZOOTIOLÓGICAS ACTUALES DE ALGUNAS ENFERMEDADES DE LAS RAPACES

Ya en España, en 1978, se diagnostican en halcones peregrinos, por el grupo de trabajo del I.N.I.A. que yo dirijo, cuatro casos de cocci-

diosis producidos por *Caryospora falconis* (Wetzel y Enigk, 1937). Así mismo se detectó en uno de ellos la presencia de *Eimeria accipitris* (Schwalbach, 1959).

Se detallan seguidamente, según diversos trabajos de investigación realizados, las patologías más frecuentemente encontradas en aves de presa, así como la casuística correspondiente a la tasa de incidencia asociada a dichos procesos morbosos.

Infecciones bacterianas, víricas y dolencias derivadas de un mal manejo (n=6448 animales) Fuente: Gierse, S. (2001).

- Pododermatitis (clavos) 40,51%
- Infecciones por *E. coli* 11,13% (hasta 45,45% con n=180, según estudio de infecciones bacterianas de Muller, M.G. [2004])
- Infecciones por *Chlamydophila psittaci* 4,75%
- Infecciones por *Pseudomonas* spp. 4,31% (hasta 20,71% con n=180, según estudio de infecciones bacterianas de Muller, M.G. [2004])
- Clostridiosis 3,20% (hasta 33,84% con n=180, según estudio de infecciones bacterianas de Muller, M.G. [2004])
- Enfermedad de Newcastle 2,60%
- Viruela aviar 0,82%
- Salmonelosis 0,76%
- Infecciones por Herpesvirus 0,51%
- Micoplasmosis 0,35%
- Pasterelosis 0,35%

Infecciones e infestaciones parasitarias y micosis (n=220 animales) Fuente: Muller, M.G. (2004).

- Estudios coprológicos:
 - Coccidiosis (*Caryospora* spp.) 18,2%
 - Teniasis 5%

- Nematodos filarioideos (*Serratospiculum* spp.) 2,5%
- Estudio del buche:
 - *Candida* spp. 5%
 - *Trichomonas* spp. 1,4%
 - Nematodos filarioideos (*Serratospiculum* spp.) 0,9%
- Diagnóstico por imagen (endoscopia):
 - Aspergilosis 20% ((sólo 2,98% con n=6448 según estudio de Gierse, S. [2001])
 - Nematodos filarioideos (*Serratospiculum* spp.) 3,2%
- Estudio hematológico:
 - *Haemoproteus* spp. 19%

SITUACIÓN ACTUAL DE LA CETRERÍA EN ESPAÑA. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS Y ASOCIATIVOS

Hablar de la situación actual de la cetrería en España es un tanto complejo. España es un estado descentralizado, con una administración central dependiente del gobierno de Madrid y 17 administraciones autonómicas. Las competencias sobre conservación de la naturaleza y sobre la mayor parte de los aprovechamientos de recursos naturales recaen sobre estas últimas, por lo que hablamos de 17 políticas que, en la mayor parte de los casos, no tienen nada que ver unas con otras y que, incluso, a veces son contradictorias.

La cetrería, por supuesto, y su regulación, es en parte competencia exclusiva de las comunidades autónomas. No obstante, asistimos a un conflicto de competencias entre la administración central y las administraciones regionales de las comunidades autónomas que aún no está resuelto.

Las Comunidades Autónomas son competentes para regular la práctica de la cetrería en todas sus modalidades. Son competentes para marcar periodos hábiles de caza, modalidades practicables y su desarrollo, piezas de caza, especies de rapaces que pueden ser empleadas en cetrería, etc. Para lo que no son competentes es para regular la cría de aves rapaces (salvo en el caso de ejemplares silvestres con cesión ad-

ministrativa, de los que las comunidades autónomas son legales propietarios) y la tenencia de ejemplares con esta procedencia (no nacidos en el campo). Esta competencia recae en exclusiva sobre el Gobierno Central, a través del Ministerio de Economía y Competitividad, encargado de aplicar en España las directrices europeas sobre el Convenio CITES.

Como se ha mencionado con anterioridad, las competencias de regulación exclusivas de la cetrería en España recaen en las Comunidades Autónomas. De esta manera, tenemos algunas en las que la cetrería se permite y se fomenta, permitiendo incluso el acceso a aves rapaces silvestres para su práctica y su empleo para la cría. Otras, la regulan y limitan varias de sus modalidades y, algunas, no la contemplan en su legislación.

La tendencia en los últimos años es a contemplar la cetrería como una modalidad cinegética sostenible y de nulo impacto en las poblaciones de presas y rapaces, y eso se va reflejando poco a poco en las nuevas legislaciones autonómicas que van siendo más aperturistas a nuestros planteamientos y menos crédulas a los argumentos demagógicos de algunos grupos anticetreros. No obstante, hemos de recordar que en España partimos de una situación de virtual prohibición a nivel nacional de la cetrería en 1989 que, si bien declarada inconstitucional en 1995 (debido a que el estado central sobrepasaba sus competencias tratando de regular en un campo de competencia de las CC.AA.) dejó un poso de actividad prohibida y perseguida difícil de olvidar para numerosos responsables de las CC.AA.. Actualmente la Ley 42/2007, del Patrimonio Natural y la Biodiversidad, y [el Real Decreto 139/2011](#), que desarrolla el Catálogo Español de Especies Amenazadas, prohíben terminantemente la caza o captura de aves de presa nocturnas o diurnas en todo nuestro territorio nacional. A su vez el actual Código Penal las tipifica como delito en su artículo 334, estableciendo pena de hasta dos años de prisión.

El fin último de todo cetrero debe ser la captura de especies cinegéticas salvajes en su propio medio natural, usando aves rapaces adiestradas. Afortunadamente, los campos españoles, todavía lo permiten como en ningún otro lugar de Europa, debido a las excelentes condiciones, con terrenos muy abiertos y buena densidad de presas. Sirva como ejemplo el gran número de cetreros europeos que recalán en nuestro país cada año para su práctica.

España posee la mejor población de halcón peregrino del mundo, que ronda las 2800 parejas, que mayoritariamente se sitúan en Cas-

tilla y León, Aragón, Andalucía y Cataluña, según una recopilación independiente publicada en 2010. En 2003, las poblaciones de azor y gavián han sido calculadas en 3500-6500 parejas para el primero, y 6000-10000 para el segundo.

En la actualidad se utilizan rapaces para el control de las palomas y otras aves en aeropuertos, estadios de fútbol, cultivos, etc.

EPÍLOGO

Como colofón cabe señalar que el 16 de noviembre de 2010, la Unesco declaró la cetrería Patrimonio Cultural Inmaterial de la Humanidad, por ser uno de los métodos de caza tradicionales más antiguos, selectivo con las presas cinegéticas, no contaminante y respetuoso con el medio ambiente.

La candidatura multinacional fue presentada por Arabia Saudí, Bélgica, República Checa, Corea del Sur, Emiratos Árabes Unidos, España, Francia, Marruecos, Mongolia, Catar y Siria. El 6 de diciembre de 2012, se unieron a esta candidatura Austria y Hungría.

Y para concluir esta ponencia sirva citar, nuevamente, las palabras del entrañable Félix Rodríguez de la Fuente:

«El halconero moderno es un hombre de espíritu sensible, de conocimientos naturales profundos y de perfeccionismo sumamente arraigado. El territorio, la jerarquía y la nobleza no son pecados o virtudes exclusivamente humanas. Los halcones me trajeron el amor al estudio de la conducta animal, de las complejas interacciones ecológicas que determinan el equilibrio natural y en las que resultan verdadero fulcro los animales predadores y, finalmente, el más profundo espíritu proteccionista hacia todas las criaturas que comparten con nosotros esta nave sideral de roca y agua que llamamos planeta Tierra».

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi gratitud a D. Hipólito Vicente Andrés, párroco de Quejana, por las explicaciones y material aportado, sin los cuales no hubiera sido posible realizar este trabajo, así como por facilitarme el acceso al Solar de los Ayala, permitiendo la toma de fotografías.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Atkinson, C.T., Thomas, N. J., Hunter D. B. *Parasitic Diseases of Wild Birds*. Ames, IA Blackwell Publishing. 2008.
- Camarero Rioja, F.: “Libro de la caza de las aves de D. Pedro López de Ayala”. En *Apuntes para una historia de la Veterinaria Alavesa* (Tesis doctoral inédita). Universidad de Zaragoza, 2003.
- Ceballos Aranda, J.: *Cetrería en España: Evolución histórica del empleo de falconiformes para la caza, argumentos para su mantenimiento y elementos para su gestión*. (Tesis doctoral inédita). Escuela Técnica superior de Ingenieros de Montes de la Universidad Politécnica de Madrid, 2007.
- Código Penal. Ley Orgánica 10/1995, de 23 de noviembre. BOE núm. 281 de 24 noviembre 1995. Texto consolidado. Editorial Tecnos, Madrid 2015 (vigésimoprimera edición).
- Davis, J.W., Anderson, R.C., Karstad, L., Trainer, D.O. (Eds.) *Enfermedades infecciosas y parasitarias de las aves silvestres* (trad. Tarrazona Vilas, J.M.), Editorial Acribia, Zaragoza, 1972.
- *Diccionario de la Lengua Española*. Real Academia Española. Vigésima Primera edición. Madrid, 1992.
- Dietrick Smithbauer, D.A. y Fradejas Rueda, J.M. «Bases para una edición crítica del Libro de la caza de las aves de Pero López de Ayala». *Revista de Filología Española* 92:43-79; 2012.
- Gierse, S. *Die wichtigsten Infektionskrankheiten bei Falken (Falconidae) und die Bedeutung der Beutetiere als Überträger*. *Vet. Med.* Dissertation, Muenchen, 2001.
- Heidenreich, M. *Birds of Prey: Medicine and Management*. Oxford, UK: Blackwell Science; 1997.
- Juan Manuel, don. *Libro de la caza*. Edición de José Manuel Blecua en: *Obras Completas*, Madrid: Gredos, 1981.
- Ley 42/2007, de 13 de diciembre, del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad. B.O.E. núm. 299, de 14 de diciembre de 2011 pp. 51275- 51327.

- López de Ayala, Pedro. Libro de la caza de las aves, ed. modernizada y estudio de José Fradejas Lebrero. Madrid: Castalia, 1969. (Odrés Nuevos.)
- López de Ayala, Pedro. Libro de la caza de las aves. Texto íntegro en la versión del Dr. D. José Fradejas Lebrero. Madrid: Castalia, 1986.
- Madrid Millán, J. Cetrería con azores y gavilanes. El embrujo de los accipíteres. Editorial Cairel. Madrid 2013.
- Muller, M.G. Practical Handbook of Falcon Husbandry and Medicine, Nova, New York, USA, 2009.
- Muller, M.G. and Nafeez, M.J. Pre-purchase examinations in first year captivebred falcons; Wildlife Diseases Association Conference, Abu Dhabi , 11th -13th December 2004.
- Muller, M.G., Mannil, A.T., George, A.R. Study of the most common bacterial infections in falcons in the United Arab Emirates. 3rd Wildlife Disease Association Africa & Middle East Conference held in Abu Dhabi, United Arab Emirates, 11th-13th December 2004.
- Pérez de Guzmán, F. Generaciones y semblanzas, edit. Espasa-Calpe. Madrid, 1979.
- Real Decreto 139/2011, de 4 de febrero, del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino para el desarrollo del Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial y del Catálogo Español de Especies Amenazadas. B.O.E. núm. 46, de 23 de febrero de 2011, pp. 20912-20951.
- Rodríguez de la Fuente, F. El arte de cetrería. Editorial Noriega. México 1986.
- Sociedad Española de Ornitología, SEO/BirdLife. El halcón peregrino en España. Población reproductora en España en 2008 y método de censo. Madrid 2010.
- Zúñiga y Sotomayor, Fadrique de. Libro de cetrería de caza con azor. Edición de Dámaso Gutiérrez Arrese. Madrid: Bibliófilos Españoles, 1953.

**COMENTANDO ALGUNOS ASPECTOS
MEDIOAMBIENTALES DE LA ENCICLICA LAUDATO SI
SOBRE EL CUIDADO DE LA CASA COMÚN**

EXCMO. SR. DR. D. JOSÉ MANUEL ETXÁNIZ MAKAZAGA

Académico de Número de la RACVE

8 de febrero de 2016

Texto no disponible

**MESA REDONDA SOBRE EL RECONOCIMIENTO
CIENTÍFICO AL DESCUBRIMIENTO DE LA
INVERMECTINA Y SU CONTRIBUCIÓN TERAPÉUTICA**

29 de febrero de 2016

**COORDINADOR EXCMO. SR. DR. D.
ARTURO RAMÓN ANADÓN NAVARRO**
Académico de Número y Presidente de la RACVE

**INTERVENCIÓN DEL DR. D.
JAIME MÉNDEZ VIGO**
*Avian & Ruminants Business Unit Manager
Merck Sharp & Dohme Animal Health, España*

Texto no disponible

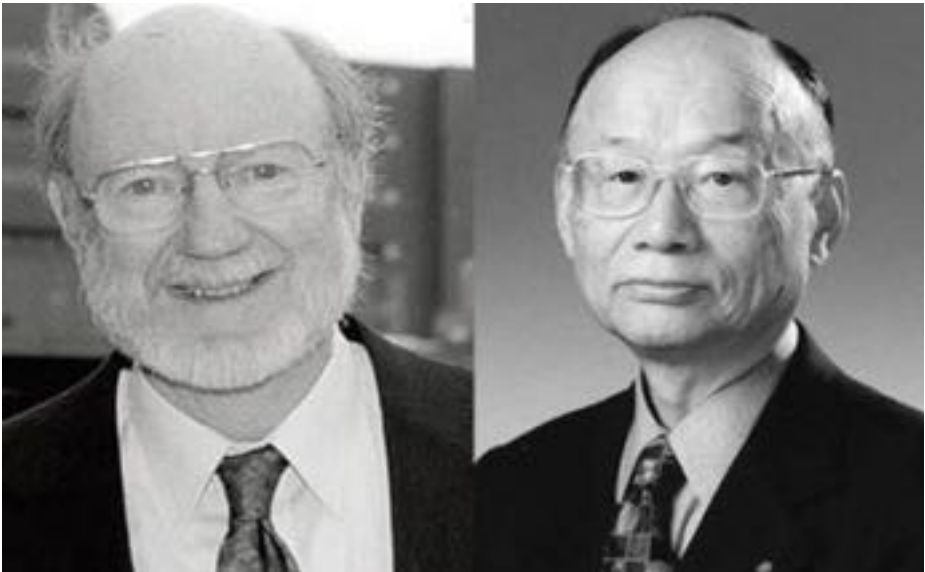
**INTERVENCIÓN DEL EXCMO. SR. DR. D.
ANTONIO RAMÓN MARTÍNEZ FERNÁNDEZ**
Académico de Número de la RACVE

**WILLIAM C. CAMPBELL: LAUDATIO, IVERMECTINA EN
MEDICINA HUMANA**

Con la venia.

Gracias Excmo. Sr. Presidente por darme la ocasión de dirigirme a la Academia en esta mesa haciendo una brevísima laudatio del parasitólogo W. C. Campbell al que conozco personalmente por sus trabajos sobre *Trichinella* y *Trichinellosis*, objeto también de algunos de los que he realizado durante mi vida académica.

El 5 de octubre de 2015, el Instituto Karolinska de la Academia Sueca anunció la concesión del Premio Nobel 2015 de Fisiología o Medicina, dividido en dos partes iguales, en su primera parte a los Doctores William Cecil Campbell y Satoshi Omuraa por el descubrimiento de las avermectinas, cuyos derivados han contribuido radicalmente a disminuir la incidencia de la ceguera de los ríos y la filariasis linfática, así como frente a un amplio y creciente número de otras enfermedades parasitarias.



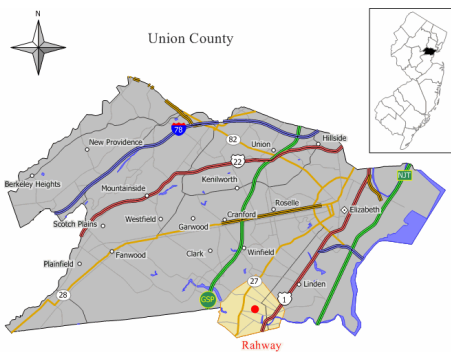
Adolescencias y adulto de *F. hepática* (Tomada de I. Haro, UNAM., 2004)

William C. Campbell: Derry, 1930; crece en Ramilton. Estudia 2ª enseñanza, en el Colegio Campbell (Belfast). Universidad de Dublín, Trinity College, grado en Zoología (suma cum laude), 1952 es alumno del Profesor Desmond Smyth en el Departamento de Biología experimental (J. D. Smyth es autor del manual Introducción a la Parasitología animal por el que muchos de nosotros estudiamos parasitología). Beca de la Fundación Fulbright, USA.



Realiza su tesis doctoral en la Universidad de Wisconsin, sobre *fasciolosis* ovina. El mismo año de terminar su PhD, ingresa en el Instituto Merck de Investigación terapéutica, donde va a permanecer los siguientes 33 años realizando trabajos de parasitología. En 1984 alcanza el grado de Científico Jefe (Senior) y es nombrado Director de Ensayos de investigación y desarrollo del MSDRI.





**En su domicilio, en la mañana del 5 de octubre de 2015
en la que se le concedió el Nobel**

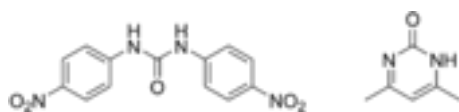
- Instituto Merck de Terapéutica Experimental, 33 años:
 - ✓ Prof. de parasitología NY Medical College
 - ✓ 1990. Profesor de Parasitología (Fellow) Universidad Drow, Madison, New Jersey
 - ✓ 2010. Fellow programa RISE de méritos.
- Académico de la US Academia Nacional de Ciencias, 2002.
- Premio S A de Parasitología, 2008.
- Dr. *honoris causa* en Ciencias, U. Dublin, 2012.



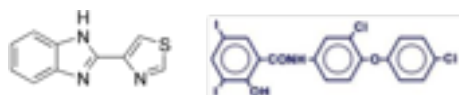
2012: “Awarding of an Honorary D.Sc. degree from Trinity College, University of Dublin (being presented to me by Chancellor Mary Robinson, former UN High-Commissioner for Refugees”

DESCUBRIMIENTO Y DESARROLLO DE LAS AVERMECTINAS ANTIBIÓTICOS MACRÓLIDOS ENDECTOCIDAS

- **DESCUBRIDOR:** William Cecil CAMPBELL, 1975.
 - MSDRL Departamento: Descubrimiento de nuevos fármacos.
- **CAUSAS:** Búsqueda de antibióticos con actividad antiparasitaria destinados a medicina veterinaria.
- **HERRAMIENTAS:** modelos experimentales de cribado antihelmínico y anticoccidiano:
 - **ANTECEDENTES** propios:



- ✓ Coccidiostáticos: sulfaquinosalina; nicarbacina; amprolium, etopabato.
- ✓ Antihelmínticos: tiabendazol, cambendazol, raxofanida.



- ANTECEDENTES extraños: antibióticos ionóforos coccidiostáticos, coccidiocidas; promotores de crecimiento.

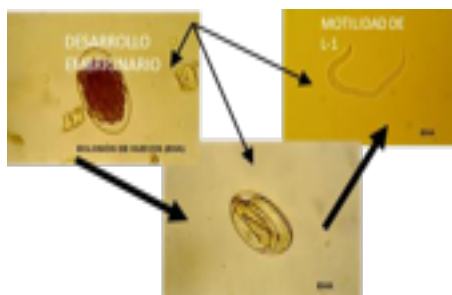


- Proyectos conjuntos con:
 - ✓ Instituto Kitasato, (Kitasato Institut for Life Sciences) (edificio 2002)

“Discovery of Anti-infectious Drugs Natural Resources, and its Basic Studies”.

1975, 50 muestras – cultivos y tierra –
 - ✓ Centro Merck de Tres Cantos, Madrid. Otros varios aislamiento.

HELIGMOSOMOIDES POLYGYRUS



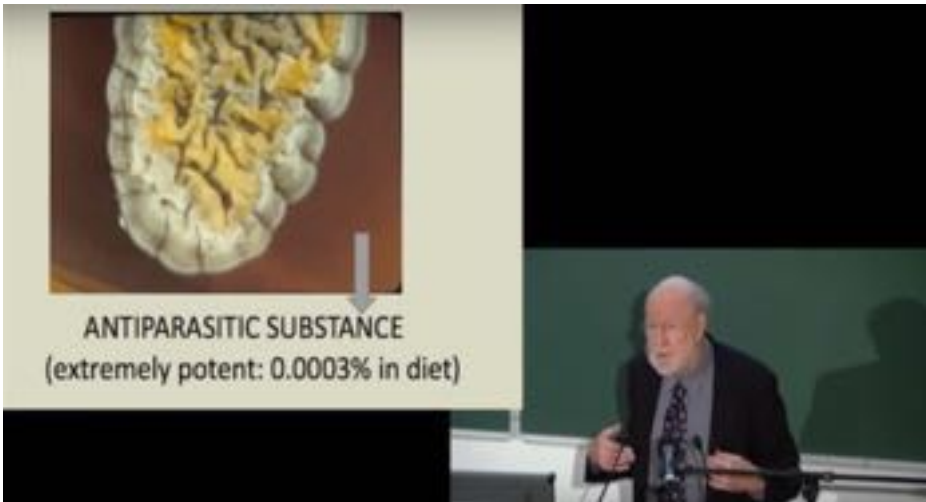
FASES	TRATAMIENTO	
	sonda buco-gástrica	administración en dieta
Preadultos	↓ día 5 p.i. (dosis única)	↓ día 12 a 16 p.i.
Adultos	→ día 13 p.i. (dosis única) → día 12-13-14 p.i. (dosis repetidas)	



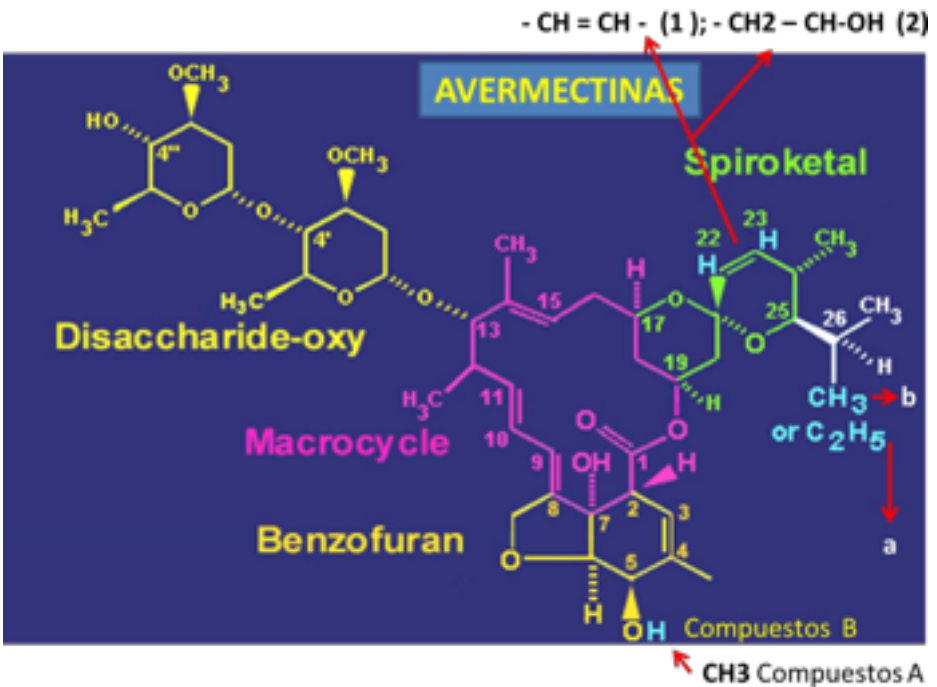
Campo de Golf Kawana, Ito, Shizuoka

Cepa OS-3153; medio líquido de cultivo, droga C-076

100% activa frente a *H. polygyrus*



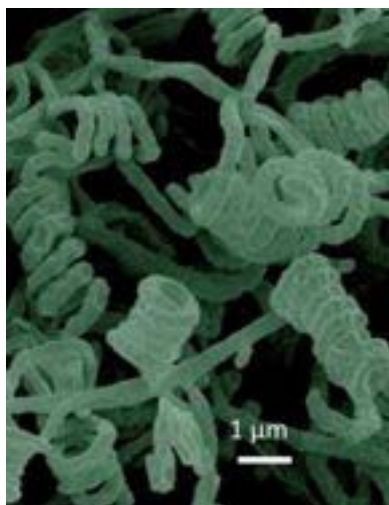
En el ensayo experimental frente a *Heligmosomoides polygyrus*, en el caldo de cultivo de la cepa OS-3153, había sustancias extraordinariamente potentes, eliminaban *H.polygyrus* al 0,0003%.



ABAMECTINA: un 80% de B1a 20% B1b;

IVERMECTINA: 80% de 22-23 dihidro B1a, 20% dihidro B1b.

***STREPTOMYCES AVERMITILIS*, CEPA MA 6941, REGISTRO ATCC 55292, CULTIVO EN YME (EXTRACTO DE LEVADURA/MALTA)**

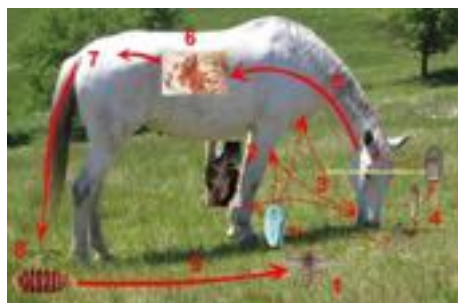


Micelio aéreo con cadenas en espiral de esporas

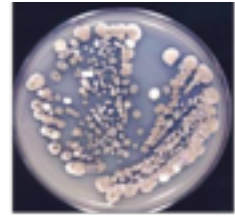
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS: número 2 152 947.



Descubrimiento casual de su actividad frente a ácaros e insectos



Streptomyces avermitilis



AVERMECTINAS:

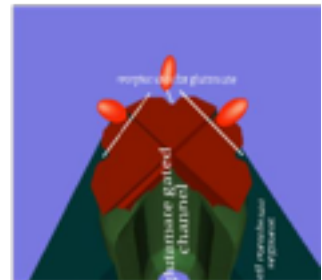
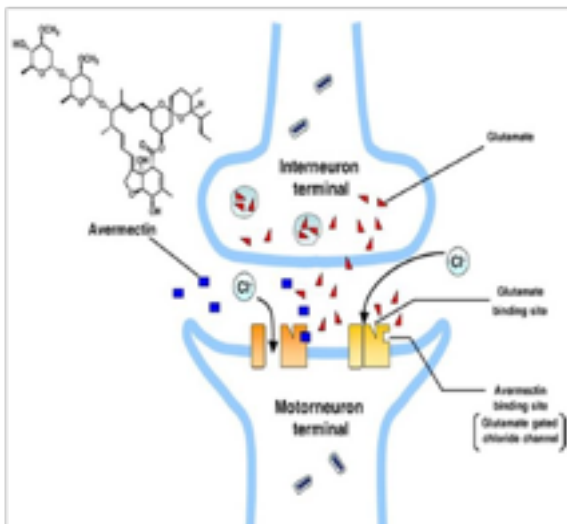
(a, sin -anti ; verm de la raíz latina vermis-is, vermes; más ect de ecto, externo, diminutivo de ectoparásito y el subfijo in, sustancia

ABAMECTINA: (abba, padre)
un 80% de B1a 20% B1b

IVERMECTINA: licencia por eufonia de las 22,23- dihidroavermectinas, en vez de Hyvermectina

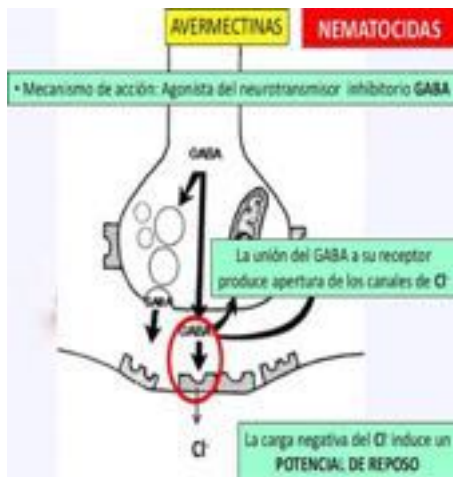
ENDECTOCIDAS: primer fármaco ecdisocida

Canales aniónicos activados por glutamato de ecdisosos

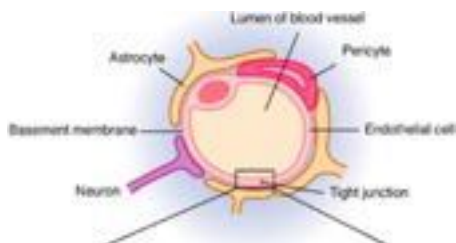


Esquema de la inactivación / activación de los canales iónico de Cl dependientes de glutamato. La unión del glutamato o de la ivermectina provoca la apertura del canal permitiendo la entrada de iones de cloro, provocando hiperpolarización. Tomado de:

<http://www.bioanim.com/CellTissueHumanBody6/O3channels/kanalGlutam1lgwa.html>



En el SNC y médula de vertebrados, canales GABA-érgicos; la IVM es agonista de GABA. La barrera y la bomba de glycoproteína P impiden el paso de IVM al SNC.



Esquema de la barrera hematoencefálica. Los vasos están tapizados con una monocapa de epitelio plano de endoteliositos estrechamente unidos unos a otros, sobre una membrana basal. A su vez externamente los capilares están abrazados por las digitaciones citoplasmáticas de los astrocitos (células gliales) y pericitos (células contráctiles, reguladoras del flujo sanguíneo). Los patógenos y macromoléculas no pasan.

IVERMECTINA EN MEDICINA HUMANA

La IDEA nació del comportamiento de abamectina frente a *Onchocerca cervicalis*: eliminaba microfilarias sin respuesta inflamatoria → CONTROL DE CEGUERA DE LOS RÍOS, ELEFANTIASIS / *Ascaris*, *Ancylostoma* / *Trichuris* / *Strongyloides*.



- ONCOCERCOSIS : 18 millones de personas infectadas (99% vive en África).
- 1 millón de casos de oncocercosis ocular.
- Población expuesta: 120 millones de personas; 1,5 millones DALYs / año.

EPIDEMIOLOGÍA



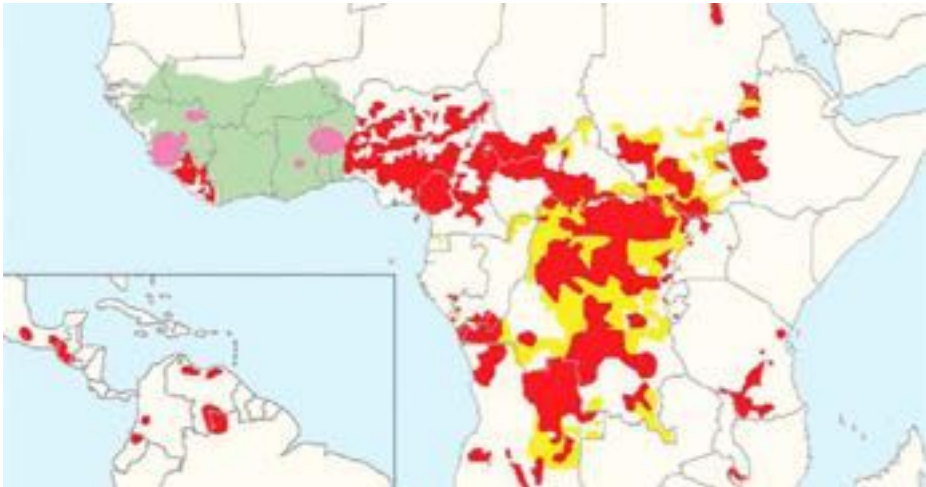
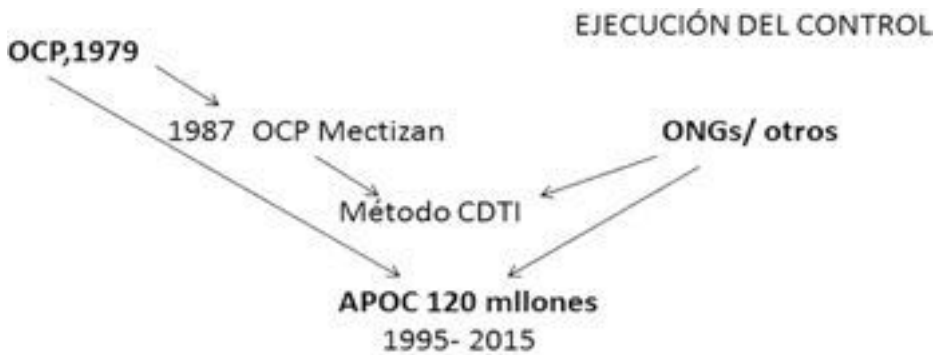
Hace 40 años, en algunas áreas de la sabana africana, la ceguera afectaba hasta al 50% de los adultos y las personas abandonaban los fértiles valles de los ríos, huyendo de la enfermedad.

IVERMECTINA EN MEDICINA HUMANA

INICIATIVAS MERCK

1. Financiar ensayos clínicos Fase I, II y III: M.A.Aziz 1982/87.
2. Convenio OMS / Merck 1982 → registro de MECTIZAN®, 1987.
3. Búsqueda de financiación → decisión de P.R.VAGELOS, 1987.
4. MDP (Mectizan donation program).
5. Office of Contribution: Fabricación y logística (desde la fábrica al paciente, gratis).
6. MERCK/GSK 2008 Filariosis linfática.

Ivermectina a 0.15 mg/kg vía oral cada 12 meses.



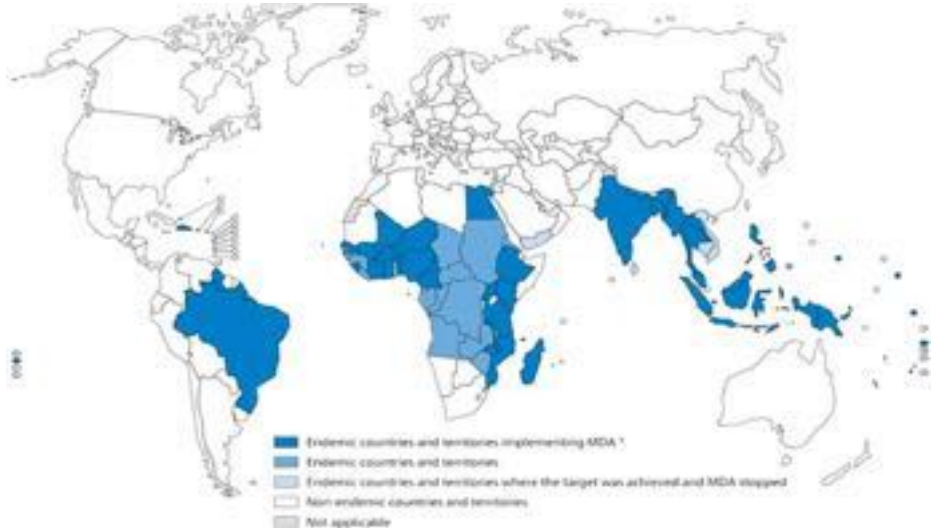
- INICIAL
 - 42 M de infecciones.
 - 385.000 ciegos.
 - 944.000 visión limitada.
 - 29,7 prurito grave.
- ACTUAL
 - 1.000 millones de tratamientos.
 - 0% ciegos.

La filariasis linfática es endémica en 72 países. Población de riesgo: 1.200 millones.

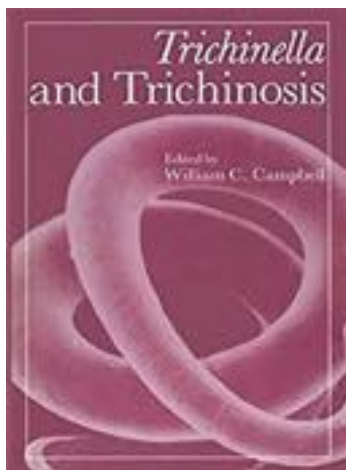
- 120 millones de personas infectadas:
 - 40 millones con manifestaciones clínicas.

- 25 millones de varones enfermedad genital.
- 15 millones de personas con linfedema o elefantiasis en la pierna.

Aproximadamente el 66% de las personas en riesgo de infección por el VIH se encuentran en la Región de Asia Sudoriental y el 33% en la Región de África.



- En 1998 MDP se extendió a la filariasis linfática.
- MERCK + SKF (Mectizan + Albendazol).
- Más de 350 millones de tratamientos.



- Wrocklaw, 1968
- Miami 1972
- Poznan, 1976
- Noordwijk aan Zee, 1980
- Val Morin, 1984
- Alicante, 1988
- Orvieto, 1993
- México, 1996
- Fontainebleu, 2000
- San Diego, 2004
- Plitvice Lakes, 2007
- Pekin, 2010
- Berlín, 2015



**William C. Campbell y P. Roy Vagelos,
el gran filántropo de Merck**



Wroklow, Polonia (1968)

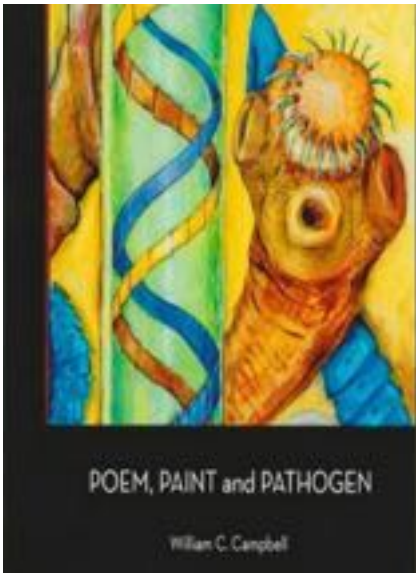


Órvieto (1993)



París (2000)





TRICHINELLA	TRIQUINELA
<p>Coiled inner spring, in protoplasmic bower</p>	<p>Espiral cerrada en la glorieta protoplásmica</p>
<p>Action potential hushed indifferently, a still life with central figures, a study in white potential action. Cry the acid hour!</p>	<p>Potencia callada, indiferente, como naturaleza muerta con figura como estudio en blanco, vacío ¡gritando por las horas ácidas!</p>
<p>In red darkness I sleep on indefinitely with neurons cocked for signal, waiting for some creature to devour.</p>	<p>Oscuridad en rojo sigilosa Indefinidamente, con neuronas listas a señales esperando por una criatura que devore a alguna criatura que devore</p>

Gracias por su atención.

**INTERVENCIÓN DEL EXCMO. SR. DR. D.
FRANCISCO ANTONIO ROJO VÁZQUEZ**
Académico de Número y Vicepresidente de la RACVE

USOS CLÍNICOS E IMPLICACIONES SOBRE LA SANIDAD ANIMAL DE LAS LACTONAS MACROCÍCLICAS







Nematodosis digestivas y pulmonares

Ostertagiosis tipo I – 1ª temporada. Esquema clásico (pp: 23-27 d)

Ostertagiosis tipo II – desinhibición sincrónica de larvas hipobioticas 2ª temporada
Consecuencias epidemiológicas, clínicas y terapéuticas

IVM inyectable (s.c.) sol 1% peso/volumen

Tratamiento y control de NGI por tricostrongídeos (tb L4 hipobioticas de *O. ostertagi*)

IV Dv y otras nematodosis

Ectoparásitos

Piojos picadores

Ácaros (sarnas sarcóptica y psoróptica)

Miasis e hipodermosis

Dosis recomendada 200 µm/kg p.a.

Adultos 100-200 µm/kg p.a.

C. aurantiaca, *C. punctata*

T. colubriformis

N. helveticus

14-200 µm 95-99%



Reinfecciones posibles

Ostertagia y Cooperia – control hasta 7 d p.t.

Dicrocoelium – control hasta 14 d p.t.

Tratamiento estratégico en la 1ª temporada

Abuso evita exposición/ingestión de L3 – susceptibles; vacunación

Farmacodinamia – diseño de programas

IVM iny 3, 8 y 13 wks de comenzar pastoreo (primavera)

Si infección entre tratamientos – estímulo inmunifario evita clínica 2ª temporada



Ectoparásitos (misma dosis y formulación-inyectable)

Garrapatas

Mayor número de Ixodes - *Ixodes ricinus* y *I. decoloratus*
parcialmente "libres" – suelo y <producción de huevos
"ayuda al control"

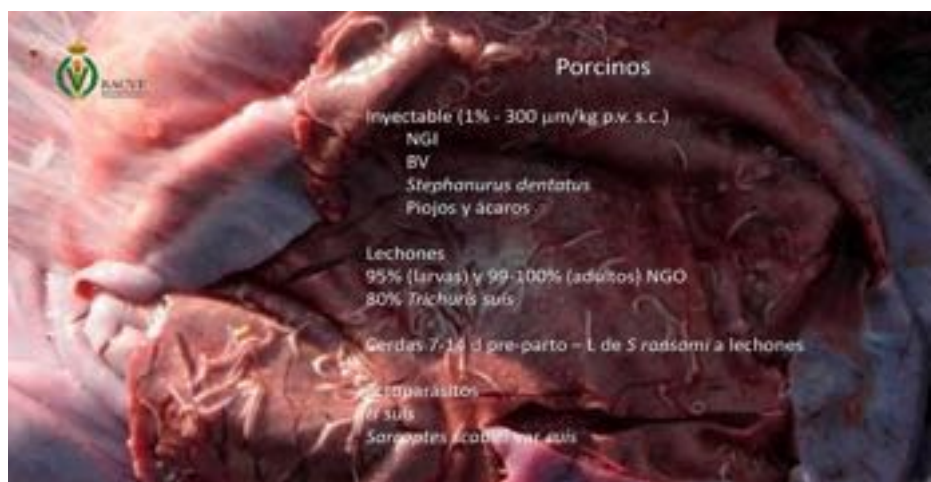
Piojos chupadores (*H. eurystylus*, *L. lignosus*, *S. capillaris*)

200 µm/kg p.a. – eficacia elevada

adultos, larvas recién nacidas y ninfas (supervivencia 1 wks)
ojo contacto (invierno)

Piojos chupadores (*D. bovis*) – alimentación no facilita la acción de la IVM; sólo "ayuda al control"







Control de sarna

Tratar a todos

Cerdas antes de la cubrición y 7-14 d pre-parto (transmisión mínima a lechones)

Ver raras dos veces/año (según riesgos)

IVM inyectable persiste y actúa frente a los ácaros durante todas las fases del CB (no inmediatamente; evitar riesgos 1 wk pt)

Finalización cebo – tratamiento antes de entrar en corrales (cuidar la higiene en suelo, etc. y volver a desparasitar)

Piojos

¡Huevos “sobreviven” – Repetir tratamiento



Équidos

Presentaciones: pasta (v.o.); líquida (sonda); e inyectable (I.m.) Eficacia casi idéntica

Problemas a controlar

P. equorum

Estróngilos migratorios (g. e.)

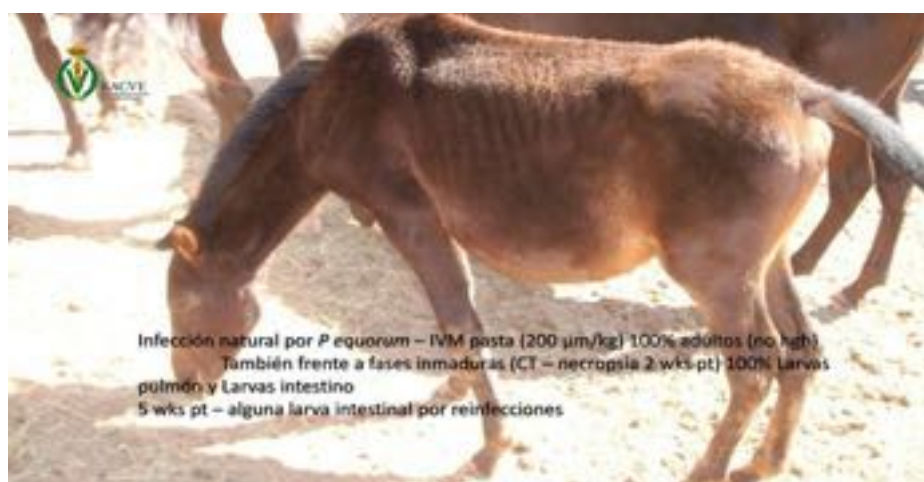
Estróngilos NO migratorios (p. e.)

D. arnfieldi

Espiruridos, habronemas, oncocercas y otros

Gastrófilos (*Gasterophilus* spp)

Sarnas (*Sarcoptes scabiei*)



Infección natural por *P. equorum* – IVM pasta (200 µm/kg) 100% adultos (no hgb)

También frente a fases inmaduras (CT – necrosis 2 wks pt) 100% Larvas pulmón y Larvas intestino

5 wks pt – alguna larva intestinal por reinfecciones



SEPE

Estróngilos migratorios

IVM pasta (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 100% frente adultos de *S. vulgaris*
IVM inyectable muy eficaz 14 emigrantes: importancia patogénica y terapéutica
Intervalo tratamiento/necropsia para evaluar

Tanto pasta como inyectable 99% frente a larvas de 8 wks

Profilaxis frente a L3 (vía i.m.) – inyección 2 wks antes de infección no lesiones arteriales

Estróngilos no migratorios

Nº de ciatostominos complica estudios

Escasa diversidad biológica – consideración “uniespecífica”

IVM pasta 100% eficaz (FEC) a los 14 d pt; 90% durante 2 meses

CT 99% frente a adultos de *Cyathostomum* spp; frente *Poteriostomum*, la formulación inyectable es baja (63%) y la IVM en pasta, del 100%.



Gastrofilosis

IVM oral e inyectable (s.c. e i.m.) eficaces frente a *G. intestinales* y *G. nasalis*
Dosis bajas (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$) vs. pero mejor 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ – 99-100%

Sarna sarcóptica

Muy eficaz frente a *S. scabiei* (asno)

Tratamiento sintomático con IVM + acaricida tópico – acción curativa



SEPE

Perros y gatos

Dirofilariosis

Prevención de la dirofilariosis canina

IVM en tabletas y tabletas masticables (según peso distintas presentaciones: dosis de 6 μg a 272 μg , proporcionando una dosis mínima de 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

Administración mensual – inicio temporada de riesgo teórico

Final un mes después de que no haya riesgos

No usar en animales <6 wks ni en algunas razas (Collie)



Actividad frente a formas inmaduras de *D. immitis*
50 µg/kg 1d pi evita el desarrollo de adultos en el corazón
Acción sobre L3 (muda a los 2 d pi)
30 d pi previene adultos en corazón (acción frente a L4)

Adultos refractarios a IVM, incluso a dosis cercanas a la máxima tolerable
Produce cierta acción sobre la reproducción del verme

Microfilarias muy susceptibles

Supresión microfilaremia por parálisis o sustrucción de mfs
1 dosis (250 o 500 µg/kg) por vía oral: a las 4 horas casi no hay microfilarias; a las 8 y 18, no hay
Antes o después de IVM – adulticia porque la supresión de la microfilaremia es temporal



Toxocara canis

(200 ó 400 µg/kg s.c.) reduce WB 91-97% según dosis

Fases inmaduras importantes en dos contextos: intestinal y extraintestinal

L4 intestinales dosis de 200 ó 400 µg/kg s.c. (dosis menores [50 ó 100 µg/kg] no)

L2 extraintestinales – transmisión trasuterina y transmamária a cachorros

Es difícil evitar esta transmisión pero es posible afectar a las larvas tisulares de manera que los cachorros estén libres de la infección

A. caninum muy susceptible a las avermectinas

98% abamectina (5 µg/kg)

100% ivermectina (3 µg/kg)

Adultos y L4 (24 µg/kg s.c.)

Permanecen algunos adultos pero afecta a los huevos in utero

También buena eficacia en *U. stenocephala* y otros [*S. stercoralis*, *F. osleri*, *Capillaria* spp, *T. vulpis*].

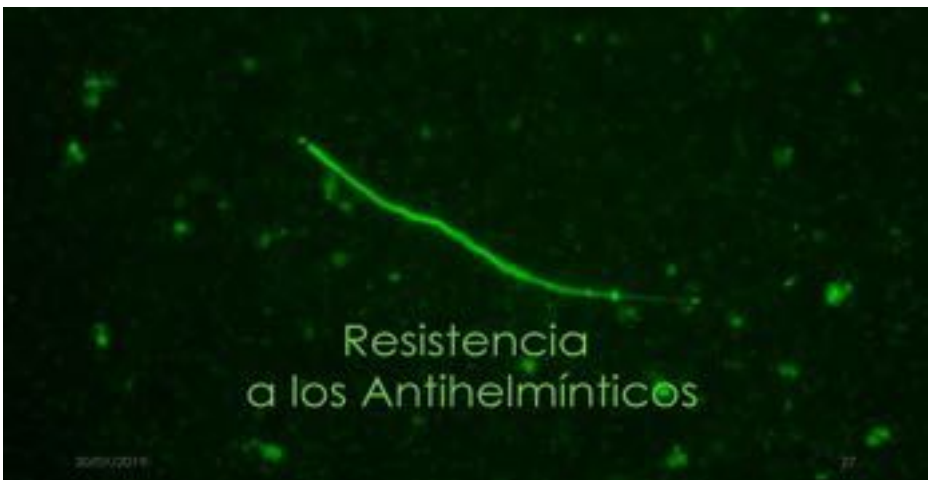
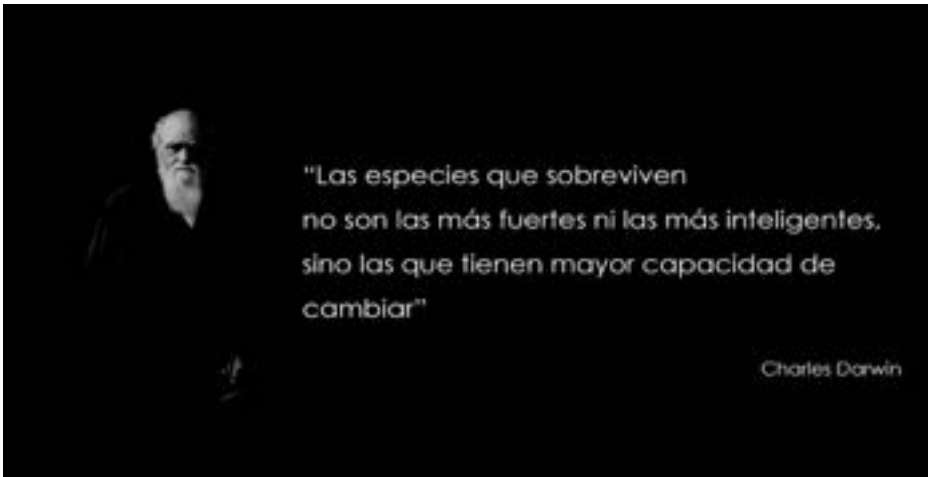


Sarnas y otras ectoparasitosis

Sarna sarcóptica – IVM s.c. (≥200 µg/kg) curan la infestación a 100% si pi
50 µg/kg también pero necesitan 2-3 wks para curar

Los estudios de eficacia frente a *Demodex canis* no son definitivos ni se pueden extraer conclusiones por la dispersión de los resultados

Tampoco han sido buenos los resultados para conocer la eficacia de la IVM frente pulgas (*Ctenocephalides canis*)





WAAVP August 1963 in Hannover – The heading was "The Evaluation of Anthelmintics"

Professor K.I. Skrjabin (USSR) keynote speaker – lecture on



KI Skrjabin

"Problems in the control of helminthoses"

concluded his talk with the following statement:

"Ladies and gentlemen, my scientific "credo" consists that mankind inevitably sooner or later will reach a helminth-free existence and that the highly pathogenic helminthes will be objects of the paleontological science..."

The helminth-free existence of mankind envisaged by Skrjabin remain an illusion up to date



Evolución de la RA en NGI ovinos (1999 - 2011)

1999-2003

LEV 38.5%

IVM 23.5%

BZ 34.2%

2006-2011*

LEV 59.0%

IVM 27.3%

BZ 13.9%

Mult-RR

7% (a 2 Antelminticos)
27.2% (1 rebaño de 2011)

04% rebaños RR (PECRT)

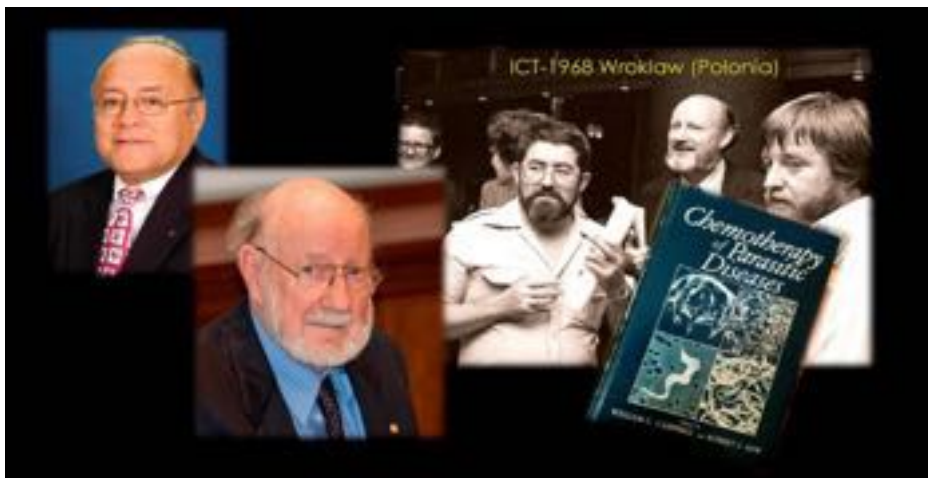
Resistencia de *F hepatica* en España - ovinos

50% de rebaños estudiados (LE, P) hay LF-RR

3 rebaños RR a 2AHs

1 rebaño RR a los 3AHs

- ✓ Clima
- ✓ Infecciones continuas
- ✓ Coinfecciones con GIN
- ✓ AHs incorrectos





¡Ya es hora de que tengamos un poco
de respeto a los pobres parásitos!

Muchas gracias

© 2011/2012

36

DESARROLLOS EN VACUNOLOGÍA VETERINARIA

EXCMO. SR. DR. D. ELÍAS FERNANDO RODRÍGUEZ FERRI

*Académico de Número de la RACVE y Presidente de la Academia de
Ciencias Veterinarias de Castilla y León*

7 de marzo de 2016

Pocos dudan, en la actualidad, de la importancia de las vacunas en la historia reciente de la humanidad, cualquiera que sea el campo de medida que se utilice para ello, el hombre (Medicina Humana) o los animales (Medicina Veterinaria); no en vano han sido definidas como el instrumento que ha permitido en el siglo pasado mayores cotas de bienestar, por encima del descubrimiento de los antibióticos o a la altura de la disponibilidad de agua potable. En el campo de los animales, las vacunas han sido responsables del desarrollo de la ganadería moderna y son uno de los instrumentos en los que se confía permitan el abastecimiento de alimentos para la población humana en constante incremento, a la vez que representa una herramienta única en la lucha contra las enfermedades infecciosas producidas por virus, que no deja residuos, que permite luchar con eficacia contra el cambio climático y otras muchas utilidades.

Las Ciencias Veterinarias han estado presentes desde su nacimiento en el mundo de las vacunas, que hoy denominamos Vacunología. No en vano sería suficiente recordar que “vacuna” alude a “vaca” pues fueron estos animales el origen de la materia utilizada por E. Jenner en 1798 para inmunizar al niño James Phipps frente a la viruela y

más tarde reconocida la práctica como “vacunación” en 1881 por L. Pasteur en su honor. Precisamente el trabajo de Pasteur giró en torno a enfermedades animales o que tenían su origen en los mismos: el cólera aviar, el carbunco bacteridiano, el mal rojo porcino y la rabia. Otro veterinario, el americano D.E. Salmón y su discípulo médico T. Smith en 1881 descubrieron un método original de inactivación de los agentes patógenos, mediante el calor, que permitía obtener productos inmunizantes frente al cólera de las palomas, que después permitiría las primeras vacunas contra diversas enfermedades en el hombre.

El siglo XX fue pródigo en descubrimientos tanto en vacunas frente a enfermedades humanas como animales, particularmente en relación con productos inactivados por calor o diferentes productos químicos, o combinaciones de ambos (toxoides), además de la obtención de productos atenuados o de virulencia reducida en diferentes niveles, logrados por una amplia variedad de procedimientos (cultivo en condiciones disgenésicas, pases por medios de cultivo, por animales, por embriones, etc.) capaces de inducir buenas respuestas protectoras en individuos sanos. No obstante la mayoría de estos productos, que han rendido un extraordinario beneficio a la humanidad en la prevención frente a las enfermedades infecciosas, resultaban invenciones empíricas, cuyo mecanismo de funcionamiento por el que lograban inducir una respuesta protectora, se desconocía parcial o totalmente. Han sido los descubrimientos de los últimos años (a partir de la segunda mitad del siglo XX) derivados de aportaciones de la Microbiología, Parasitología, Biología Molecular, Inmunología y, todavía más recientemente, de la coincidencia de la Bioinformática y las denominadas Ciencias “Ómicas”, que se han ido aclarando muchos de tales aspectos y han permitido una auténtica revolución de esta Ciencia, que escapa de su campo de trabajo en la prevención de las enfermedades infecciosas, adentrándose en otros territorios, cuyo final no se vislumbra, incluyendo enfermedades no infecciosas, tumores malignos, hipersensibilidad, enfermedades degenerativas, incluso alcoholismo.

En el campo de las Ciencias Veterinarias, como en el de la Medicina Humana, confluyen intereses comunes, pues al final los objetivos de la primera desembocan en la segunda desde todos los ángulos, y muchos de los descubrimientos recientes en Vacunología Humana comienzan en la Vacunología Veterinaria (y también al contrario). Dos hitos han permitido alguno de los éxitos más notables que se disfrutaban en la actualidad, por una parte cuanto tiene que ver con la Ingeniería Genética o tecnología del ADN recombinante, derivada de los grandes

descubrimientos de mediados de siglo pasado y más cercano en el tiempo, de la secuenciación del genoma (primero humano y después de las especies animales y de los microorganismos) que han permitido conocer métodos capaces de modificar la virulencia de los agentes patógenos, atenuándolos de forma científica, precisa, desentrañando las bases que diferencian patógenos de no patógenos. Por otro, los grandes descubrimientos realizados en relación con los mecanismos de la respuesta inmunitaria, el papel que desempeña la denominada respuesta innata celular, inespecífica, sobre todo en su íntima relación con la inmunidad adaptativa, específica, dotada de memoria inmunológica, y el papel central en la misma de los linfocitos T, auténticos “directores” de la orquesta inmunológica que a través de las subpoblaciones derivadas de los linfocitos T CD4+ modulan la respuesta de anticuerpos y de los linfocitos T CD8+ lo hacen de la respuesta citotóxica, crítica en el caso de los patógenos intracelulares (bacterias intracelulares y virus), igual que en la respuesta a células transformadas.

El amplio espectro de las Ciencias Veterinarias, que ofrece un inmenso abanico de productos que según algunos autores alcanza a nivel internacional una oferta que supera los 400 productos inmunizantes diferentes (frente a los de alrededor de 15 productos de este tipo que se ofrecen en el caso de la Vacunología Humana), abarcan inmunógenos clásicos (vacunas inactivadas y vacunas vivas atenuadas, que siguen representando más del 70% de la oferta) y cada vez con mayor fuerza productos de nueva generación entre los que se incluyen vacunas atenuadas por ingeniería genética, vacunas de subunidades recombinantes y de vectores recombinantes (vacunas vectorizadas y de replicones), de plataformas a base de bacterias, virus o levaduras y partículas VLP (para virus y antígenos de otras procedencias), vacunas genéticas, de ADN desnudo, vacunas inversas, estructurales y de vesículas de membrana. Se ofrecen también vacunas para el control de enfermedades alérgicas, de tumores y de problemas de la reproducción, principalmente.

Al lado de todo esto, precisamente con la purificación no ya de antígenos inmunizantes, sino más bien de determinantes o epitopes concretos, ha surgido la necesidad de investigar su potenciación tanto para mejorar su inmunogenicidad como para dirigir la respuesta, principalmente buscando el componente celular tradicionalmente reducido en el caso de los productos inactivados o las subunidades purificadas o semipurificadas. Ha surgido así una potente industria de los adyuvantes de inmunidad, que con una historia de casi cien años, surgida de las primeras observaciones de otro gran veterinario, Gastón Ramón en re-

lación con las inmunizaciones para producir suero antidiftérico o tetánico, están derivando con los últimos descubrimientos, por ejemplo en relación con el papel de los agonistas de los receptores (TLR y otros) dispuestos en la membrana de las células de la defensa innata (principalmente células dendríticas) o en su interior, en adyuvantes menos tóxicos que las sales minerales tradicionales y mucho más potentes, además de otros descubrimientos en relación con nuevas formulaciones (ISCOMs y otros).

Pero el camino no ha hecho más que empezar y quedan por delante muchos problemas que resolver en relación con enfermedades para las que todavía no existen vacunas o en las que las existentes no resuelven el problema, enfermedades crónicas, enfermedades emergentes y reemergentes, enfermedades de los animales salvajes, muchas enfermedades de los peces de agua dulce y salada, y todas aquellas en las que la experimentación animal (en especies grandes y pequeñas) constituye un campo imprescindible para el avance en Medicina Humana, haciendo bueno ese propósito tan de moda en la actualidad, de “*One Health*”, que define la necesaria colaboración en la interfaz entre el hombre, los animales y el ambiente.

DESARROLLO DE NUEVOS ALIMENTOS: MI EXPERIENCIA EN PRODUCTOS PESQUEROS

DR. D. ANTONIO JAVIER BORDERÍAS JUÁREZ

*Investigador del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CESIC)
Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición
(ICTAN), Madrid*

14 de marzo de 2016

IMPORTANCIA DEL DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS

La actividad de desarrollo de nuevos productos pesqueros es muy importante para los consumidores e indispensable para la empresa. Así, para el consumidor representa la manera en que un producto pesquero genera un producto satisfactorio para las necesidades o deseos de dicho consumidor. En lo referente a la empresa, la utilidad del desarrollo de productos radica en que la permite sobrevivir, le da opciones para incrementar las utilidades, le permite conservar su participación de mercado y promover la imagen de empresa innovadora. Entre los mecanismos de incremento de las utilidades relacionados con el desarrollo de productos se pueden mencionar: la adaptación de productos con el fin de reducir costos, aprovechamiento de mercados globalizados, aprovechar las oportunidades generadas por cambios de gustos y costumbres de los consumidores o la detección de necesidades insatisfechas, adaptarse a las nuevas condiciones de la demanda producidas por la dinámica demográfica, etc.

Cada vez es más importante desarrollar nuevos productos alimenticios debido a:

- Las preferencias de los consumidores cambian rápidamente.
- Las nuevas tecnologías posibilitan la aparición de nuevos productos.
- Globalización: Competitividad a nivel internacional.

Los nuevos productos se pueden clasificar en:

- Productos totalmente innovadores que crean nuevos mercados. Innovaciones radicales como el sucedáneo de cangrejo o de angula a partir de músculo picado, que no poseen al momento de su ingreso competencia directa.
- Nuevas líneas de productos y servicios que van a nuevos mercados. Por ejemplo, para responder a estrategias de diversificación, tanto para crecer o bien para no decrecer y atomizar riesgos.
- Extensión de líneas de productos y servicios. Generalmente para captar clientes de la competencia, nuevos segmentos o bien para impulsar la demanda.
- Mejora de productos sustitutivos de los existentes. Se ofrecen nuevos beneficios y soluciones más avanzadas, como la nueva anilla de calamar con textura mejorada creada por nosotros a partir de surimi.
- Reposicionamientos. Cuando se instalan en la mente de los clientes nuevas prestaciones que satisfacen nuevas necesidades.

Los principales pasos que hay que dar para el desarrollo de un producto son:



DEFINICIÓN ESTRATÉGICA

En este punto hay que hacer un buen análisis del medio, de la competitividad, fortalezas, debilidades, oportunidades, amenazas, posicionamiento, objetivos, estrategias y todo lo que suponen un plan estratégico. La idea de hacer nuevos productos igualmente debe estar contemplada en el plan estratégico de la empresa.

GENERACIÓN DE LA IDEA

El desarrollo de nuevos productos empieza con la generación de ideas, es decir, con la búsqueda sistemática de ideas para nuevos productos. Lo más normal es que una compañía genere muchas ideas para dar con la buena. Generalmente se utiliza “brainstorming” grupal, lo que suele ser muy efectivo.

Es necesario determinar qué producto/s, su target/s, intermediarios y mercados. Y también qué objetivos se quieren conseguir con el nuevo desarrollo.

Para que fluyan nuevas ideas la compañía debe utilizar diversas fuentes. Entre las principales se incluyen las siguientes: Fuentes internas, clientes, competencia, distribuidores, proveedores, otras fuentes varias (publicaciones, exposiciones y seminarios, agencias de publicidad, empresas de investigación de mercados, etc.).

FILTRADO DE IDEAS

La meta es detectar las buenas y desechar las que no lo son, tan pronto como sea posible, puesto que a la compañía le interesa conservar sólo las que puedan convertirse en productos generadores de ingresos.

En el caso de los productos desarrollados por nosotros en el Instituto del Frío /ICTAN cuyo desarrollo ha sido financiado por empresas, en la mayoría de los casos, las ideas han sido nuestras y una vez que han sido expuestas en conferencias o mesas redondas, las ideas fueron captadas por los empresarios y después de conversaciones y el correspondiente contrato, nosotros las hemos desarrollado “a medida”. Muchas veces, he observado, sobre todo en PIMEs que a las empresas les gustaba la idea y por ello nos contrataban (casi siempre aprovechando financiación estatal, comunitaria o regional) para desarrollarla, pero no hacían lo suficiente para que el producto llegase al mercado, aun cuando el departamento de marketing aseguraba que se trataba de un

buen producto, ya que la carga de trabajo regular diaria impedía que el concepto-prototipo llegase a la categoría de producto.

INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO

Previamente a su comercialización cualquier producto debe haber sido completamente desarrollado, tarea sustancial para la operación de cualquier institución. La empresa que no desarrolle y comercialice de manera paulatina nuevos productos, necesariamente desaparecerá del mercado, ya que se debe tener muy en cuenta que cualquier producto tiene un ciclo de vida y que tarde o temprano tendrá que declinar y dejar de ser rentable. Por lo tanto si la organización no introduce al mercado nuevos productos, desaparecerá cuando los antiguos dejen de tener demanda y pierdan rentabilidad los productos que manejen. Esto que es una regla en muchos tipos de productos, en los productos alimenticios el problema es mayor, a no ser en productos muy asentados, ya que el consumidor se “cansa” pronto de las innovaciones y hay que sacar otras nuevas.

DESARROLLO DEL CONCEPTO Y DEL PROTOTIPO

Posteriormente, las ideas que sobreviven se convierten en concepto de productos. El concepto es una versión modificada de la idea expuesta de forma que el consumidor sea capaz de entenderla.

Si el concepto del producto pasa la prueba, debe avanzar hacia la etapa de desarrollo del producto, durante la cual, el departamento de investigación y desarrollo transforma dicho concepto en algo físico. Este “algo” físico es el prototipo.

En el desarrollo de productos alimentarios, una vez realizado el prototipo del núcleo del producto (el alimento desarrollado), necesita de detalles adicionales, siendo uno de los más importantes, el envase. A partir del conjunto de envase y prototipo alimentario hay que hacer estudios de conservación. De aquí surgirá el prototipo de alimento-envase con el que es necesario realizar pruebas sensoriales de consumidores por segmentos de población, ya que cada producto tiene un tipo de consumidores al que va dirigido.

El prototipo es la etapa en la que yo, durante mi vida profesional desarrollando productos, me he quedado. Todo el resto de etapas que faltan, mercadotecnia y comercialización, han sido desarrolladas por la empresa que me ha contratado, con algún asesoramiento puntual de nuestra parte.

DESARROLLO DE LA ESTRATEGIA DE MERCADOTECNIA (MARKETING)

En esta etapa se describe el target/s, la participación del mercado, el precio probable del producto, el posicionamiento del producto, los objetivos de ventas, la distribución y las previsiones de ventas para el primer año, la comunicación y posibles promociones. Todo esto debe quedar detallado en un Plan de Marketing inicial, con posterior revisión del mismo.

ANÁLISIS DE VIABILIDAD COMERCIAL

Una vez se ha tomado una decisión sobre el prototipo del producto y la estrategia de Marketing, se puede evaluar el atractivo comercial de la propuesta. El análisis comercial implica la revisión de las proyecciones de ventas, costes y beneficios para determinar si satisfacen los objetivos de la compañía. Si este análisis resulta positivo, se avanza a la etapa de fabricación del producto.

Para estimar las ventas, la compañía debe examinar la historia de las ventas de productos similares y hacer una encuesta de opinión en el mercado. Después de preparar el pronóstico de ventas, los responsables de productos (product manager, brand managers o directores de Marketing) junto con departamento de costes -si lo hay- tienen que estimar los costes y beneficios esperados del producto. Los departamentos de investigación y desarrollo, producción, contabilidad y finanzas estiman los costes, que incluyen los de Marketing. A continuación, la compañía utiliza las cifras de ventas y costes para analizar el atractivo financiero del nuevo producto.

PRUEBAS DE MERCADO

Si el producto pasa las pruebas de funcionalidad y del consumidor, el siguiente paso es probarlo en el mercado. Las pruebas de mercado constituyen la etapa en que el producto se introduce a un ambiente de mercado más realista.

La cantidad de pruebas de mercadotecnia necesarias varían con cada nuevo producto y el tipo de empresa. Dentro de las empresas del sector de productos pesqueros hay muchas empresas de pequeño tamaño que difícilmente se pueden enfrentar a costosas campañas para introducir productos nuevos. Es más fácil cuando estos productos pueden acompañar a los tradicionales de las compañías y tienen las mismas vías de distribución que estos.

COMERCIALIZACIÓN

Las pruebas de mercado proporcionan a los responsables de producto la información necesaria para tomar la decisión final sobre el lanzamiento de un nuevo producto.

Para lanzar un nuevo producto, además, la empresa debe tener claro:

- **¿Cuándo?:** Lo primero es decidir si es el momento de introducirlo al mercado si puede mejorarse aún más podría ser lanzado el año siguiente. Si la economía no pasa por un buen momento, quizá la empresa decida esperar. Hay que fijar fechas y planificar.
- **¿Dónde?:** La compañía debe decidir si lanza su nuevo producto en un solo lugar, en una región o varias, en el mercado nacional o el internacional.

PRODUCTOS DE ÉXITO EN CUYO DESARROLLO HE INTERVENIDO EN EL INSTITUTO DEL FRÍO/ICTAN

SUCEDÁNEO DE ANGULAS

- **Idea:** Nuestra.
- **Definición Estratégica:** Producto diferente a otros. Elaborado debido a la desaparición de la angula.
- **Investigación:** Análisis de laboratorio y desarrollo en planta piloto. Análisis de consumidores a nivel del instituto y con el personal de la empresa.
- **Desarrollo del Prototipo:** Comunicación con personal de la empresa (cocedero).
- **Marketing y Comercialización:** Llevada a cabo por la empresa.



CAPRICO DE CALAMAR

- **Idea:** Existía anteriormente. Nuestro trabajo fue para mejorar la textura.
- **Definición Estratégica:** No se necesitaba cambio.
- **Investigación:** Se llevó a cabo en laboratorios y planta piloto del instituto y por medio de visitas a la empresa.
- **Desarrollo del Prototipo:** Comunicación con director de I+D.
- **Marketing y Comercialización:** Llevada a cabo por la empresa.



SURIMI DE CALAMAR GIGANTE

- **Idea:** Nuestra. Surimi a partir de *Dosidicus gigas* mediante una tecnología específica.
- **Definición Estratégica:** Completo cambio. Anteriormente era una empresa importadora.
- **Investigación:** El I+D se llevó íntegramente en Instituto del Frío.
- **Desarrollo del Prototipo:** Nuestro. Relación frecuente con el director de la empresa.
- **Marketing y Comercialización:** Llevado a cabo por la empresa. La empresa original tuvo dificultades. Varias otras empresas copiaron la tecnología.



SUCEDÁNEO DE CHANQUETES

- **Idea:** Nuestra. Pequeñas porciones a partir de surimi con aspecto de chanquete
- **Definición Estratégica:** No requirió cambio al ser comercializado por una gran empresa.
- **Investigación:** Se llevó a cabo en planta piloto y laboratorios del Instituto del Frío.
- **Desarrollo del Prototipo:** Comunicación frecuente con departamento de I+D de una gran empresa.
- **Marketing y Comercialización:** Llevado a cabo por la empresa. Se comercializa actualmente.



SUCEDÁNEO DE TXANGURRO

- **Idea:** Conversaciones con empresa con la que hicimos el análogo a Angula.
- **Definición Estratégica:** No cambió.
- **Investigación:** En laboratorio y planta piloto del IF Conversaciones con cocineros.
- **Desarrollo del Prototipo:** Comunicación con personal de la empresa y cocineros.
- **Marketing y Comercialización:** Llevada a cabo por la empresa. Cambio tres veces del formato.



1^{er} formato



2º formato



3^{er} formato

PRODUCTOS CONSIDERADOS BUENOS QUE NO TUVIERON ÉXITO

SUCEDÁNEO DE ANCHOA

- **Idea:** Nuestra.
- **Definición Estratégica:** Se formó una nueva compañía a partir de varios socios con empresa propia.
- **Investigación:** En laboratorios y planta piloto del IF. Pruebas sensoriales con empresarios.
- **Desarrollo del Prototipo:** Comunicación con empresarios después de pruebas sensoriales en las que contribuyeron personal del IF.
- **Marketing y Comercialización:** No se llegó a la producción. Hubo una muy pobre Coordinación entre los empresarios. Entrada en el mercado de Filetes anchoados de otras especies procedentes de Perú y Argentina.



LOMOS REESTRUCTURADOS DE BACALAO

- **Idea:** Nuestra. Bloque de trozos pequeños de bacalao desalado unidos mediante alginato o transglutaminasa.
- **Definición Estratégica:** No cambió. Era un producto más en una gran empresa.
- **Investigación:** En IF. Viajes frecuentes a la empresa para chequear el producto.
- **Desarrollo del Prototipo:** Comunicación con propietarios y jefe de producción.



- **Marketing y Comercialización:** No se comercializó debido a que la empresa encontró mercado para los trozos pequeños.

SUCEDÁNEO DE FILETES (FORMACIÓN DE MIOTOMO / MIO-SEPTO)

- **Idea:** Nuestra. Se patentó. Obtuvo premio de CAM.
- **Investigación:** En IF con soporte de las empresas.
- **Definición del Prototipo:** Tres diversos conceptos para tres empresas.
- **Comercialización:** No han sido comercializados.



PRODUCTOS ENRIQUECIDOS DERIVADOS DE SURIMI

- **Idea:** Nuestra.
- **Conceptos:** Nuestros.
- **Estrategia:** Diseminar la idea.



**VETERINARIA EN ESPAÑA.
VISIÓN GLOBAL DE LA PROFESIÓN**

DISCURSO DE INGRESO ACADÉMICO DE HONOR

EXCMO. SR. DR. D. FELIPE VILAS HERRANZ

4 de abril de 2016

PRESENTACIÓN

Señor Presidente de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España; Señores Académicos, Señor Presidente de la Organización Colegial Veterinaria Española, Señor Consejero de Sanidad de la Comunidad de Madrid, Altos Cargos, Señoras y Señores; amigos todos.

El reconocimiento profesional que la Real Academia de Ciencias Veterinarias me ha otorgado supone para este veterinario que les habla, un motivo de orgullo y agradecimiento a esta Institución depositaria del mayor acervo académico y científico en nuestra profesión. También extensivo a sus miembros que son un referente y gozan del reconocimiento del conjunto de los veterinarios.

Desde esta tribuna se dirige a ustedes un veterinario que ha ejercido su vocación y su profesión en la mayor parte de las disciplinas:

- Clínico de vacuno en la Sierra de Madrid, especialmente en reproducción animal; en distintos cargos en producciones animales, sanidad animal e industrias agroalimentarias en la Diputación de Ma-

drid y en la Comunidad de Madrid; veterinario con distintos niveles de responsabilidad en áreas de seguridad alimentaria, sanidad ambiental y salud pública, y como Presidente del Colegio de Veterinarios de Madrid.

Quizá este abanico tan amplio me ha permitido desde una privilegiada atalaya, analizar situaciones que pudieran propiciar Y mejorar la presencia e imagen de esta profesión ante nuestros propios compañeros, ante las Instituciones y ante la sociedad, destacando los valores de los que somos depositarios:

- Rigor Científico, Ética Profesional, Correcta Praxis Veterinaria, la Conservación del Medio Ambiente y el Bienestar Animal. Estamos hablando de los campos en los que somos útiles a la sociedad. Es decir, la producción de alimentos de origen animal a precios razonables, sin riesgos sanitarios, y en cantidad suficiente; la prevención de zoonosis; la seguridad alimentaria en todas las fases de la cadena; la medicina veterinaria y el bienestar animal.

JUSTIFICACIÓN Y AGRADECIMIENTOS

Todas estas razones expuestas nos llevaron a elegir como título de este discurso de ingreso en la Academia el de “Visión Global”.

Quiero dejar constancia que las responsabilidades asumidas y las actividades ejercidas no se hubieran realizado sin el aprendizaje de valores, que desgraciadamente no sobran en esta sociedad, y que me inculcaron mis padres: la honradez, el esfuerzo y el afán de superación. Si tuviera que buscar y señalar al responsable de orientar mi vocación no dudaría en apuntar a mi padre. Ganadero de vacuno de leche, en Zarzalejo, precioso pueblo del Guadarrama, fue avanzado en su época y buscando siempre la mejora de la ganadería. Sufrió mucho con las carencias en los conocimientos y en la escasa capacidad de resolución de los problemas que el modelo de veterinarios rurales de entonces, los “titulares” tenían.

Eran tiempos difíciles y aquellos profesionales “para todo” estaban lejos de la especialización que se empezaba a vislumbrar con nuevas herramientas de manejo, alimentación, reproducción y sanidad que mejoraran la rentabilidad de la explotación. Estoy seguro que esta precaria situación condujo a una rebeldía personal, al ver que los problemas se enquistaban y que muchas patologías no resueltas, al final, que-

daban en hallazgos de matadero. En ese duro quehacer juvenil se definió mi futuro: ser veterinario.

Aquí me presento como aspirante a esta Academia después de haber dedicado lo más importante de mi vida a esta profesión. Para ello siempre necesité de la comprensión y el apoyo de mi familia, hoy representada por mi hijo Eduardo, mi hermana Emilia y mi compañera Maite, a todos ellos mi cariño y agradecimiento.

También quiero extender mi gratitud a mis amigos, muchos presentes aquí, que “mucho me aguantaron” pero sin sus orientaciones y apoyo hoy no estaría aquí.

LA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS

Quiero dejar constancia en este acto, de la magnífica relación de esta Academia con el Colegio Profesional que justifica que la Sede y las sesiones académicas se celebren en esta su casa. Desde que ostento la Presidencia de este Colegio la relación es más estrecha y cercana. Compartimos con el actual Presidente, Dr. Anadón, muchos puntos de encuentro y colaboración. Debo destacar la buena relación con los anteriores Presidentes, Doctores Yllera, Cuenca y Pérez García, este con el que me unía una gran amistad, no en vano su hija Ana es Vicepresidenta del Colegio y Académica.

La Academia está empeñada en buenos proyectos y necesita la mayor notoriedad y proyección. Proyectos y mesas redondas sobre temas sectoriales piden esta proyección, sin que el Colegio le merme ningún protagonismo. Un Colegio fuerte es aquel en torno al cual se aúnan las instituciones y los profesionales y quién mejor que la Academia y los Académicos.

VISIÓN GLOBAL

El ejercicio de la Presidencia del Colegio, en los últimos diez años, y la ilusión en el trabajo desarrollado con las Juntas Directivas, me lleva a elegir este título para contarles lo que realmente pienso y me preocupa de nuestra situación.

Para ello haremos un breve recorrido por la historia de la profesión y de los últimos acontecimientos que marcaron significativamente su desarrollo. Nos detendremos en algún hito importante y analizaremos el momento actual, sus puntos fuertes y sus debilidades, para reflexionar de cara al futuro.

La mayoría de los presentes conoce perfectamente esta sucesión de hechos, los hemos vivido, pero también conviene recordar a las nuevas generaciones nuestro camino y que no se cumpla esa cita de “Una Profesión que no conoce su historia está condenada a repetirla”. Me he permitido parafrasearla cambiando pueblo por profesión y como ha sido atribuida, desde Confucio a casi todos los pensadores, no espero de ellos ningún reproche.

1. **En 1943** se produce la transformación de las escuelas de veterinaria creándose las cuatro Facultades Universitarias “clásicas” de Madrid, León, Córdoba y Zaragoza, iniciándose el desarrollo científico y administrativo de la profesión. Se vertebran los cuerpos de funcionarios en Gobernación (después Sanidad) y los adscritos a Agricultura que son piezas fundamentales en el desarrollo rural y de las producciones ganaderas. Se comenzó con la implantación de la inseminación artificial ganadera que actuó como motor de este subsector creando numerosos puestos de trabajo en campo y en laboratorio, propiciando una investigación propia.

Se pasó de 8.226 vacas inseminadas (la mayoría lechera) en 1952 a 531.698 en 1970. La actuación de 5.000 compañeros en estas tareas contribuyó también a crear un primer censo ganadero real y fiable en nuestro país.

2. **En los años 60 y 70** comienza tímidamente el desarrollo de clínicas de pequeños animales, sobre todo en grandes poblaciones, al igual que la clínica de équidos. Lo frecuente era atender a varias especies animales de forma individualizada, mientras que en porcino, ovino, vacuno y aves eran patologías de colectividades que necesitaban profesionales con otra formación. El comienzo de las especialidades contrasta con el modelo de veterinario titular que obligadamente tiene que aunar las tres ramas profesionales: sanidad animal, higiene y clínica. Todo ello en un marco rural y funcional (el 80% son empleados públicos) en el que ya se veía un futuro incierto.
3. **En los 80** el cambio es notable hacia una veterinaria de carácter urbano, clínicas de animales de compañía, équidos y animales de renta. Las Facultades forman a veterinarios especialistas y con presencia muy competente en Foros Internacionales. Signos característicos de esta década son la saturación de las facultades y la incorporación de las mujeres a la profesión.

Hubo una gran expansión de las clínicas de pequeños animales debido a múltiples factores: nivel de renta de la población, necesidad y moda de contar con animales de compañía, tendencia a viviendas unifamiliares y el incremento de nuevos licenciados que tenían esa vocación tan definida por las mascotas.

El aumento de la competencia en la oferta y una demanda más selectiva de los clientes, hizo que los centros se dotaran de modernos equipamientos y nuevas tecnologías en diagnósticos y tratamientos que llevaron a la creación de los primeros hospitales veterinarios privados.

Esta situación fue muy favorable para nuestro ejercicio profesional elevándose la calidad técnica y científica y permitiendo el acceso al mundo laboral de un gran número de compañeros, equilibrándose el mercado de trabajo, cubriendo la oferta del número de Facultades, de 4 a 9 con más de 1.000 licenciados al año.

4. **De los 90 a la actualidad** se produce la incorporación masiva de la mujer en las aulas y en el ejercicio profesional. Según datos de nuestro Colegio en septiembre de 2009 contaba con 3.205 colegiados (51% de mujeres y 49% de hombres). Hoy día el 56% son y en el resto de España y en Europa representan el 50%. En 2013 La Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense, licenció un 75% de mujeres. Es la expresión de la Dra. María Castaño “El futuro de la profesión se escribirá en femenino”.

Por otra parte, empieza a aparecer con fuerza el empleo en precario y hay una cierta dispersión de la profesión que la resta peso específico en la sociedad.

La España de las autonomías provoca una gran cercanía y preocupación de las Administraciones por los problemas de los ciudadanos, entre ellos los de Salud Pública con el desarrollo de estructuras profesionales impensables hasta entonces.

Hay una gran capacidad de respuesta veterinaria en las crisis alimentarias y de salud pública que siempre generan alarma en la sociedad y en los estamentos políticos: la crisis de las vacas locas, las dioxinas en Bélgica, la gripe aviar, algún caso de rabia importada, el fraude de etiquetado en carne de caballo, etc. son algunos ejemplos.

5. **Reflexión en la doble dependencia administrativa Sanidad-Agricultura.**

Los hechos expuestos nos llevan a una reflexión histórica entre nosotros, y es, si la doble dependencia institucional del Ministerio de Agricultura (en materia de producciones, alimentación, sanidad animal y pesca) y en el Ministerio de Sanidad (veterinarios de salud pública en mataderos e industrias) garantizando la seguridad alimentaria, era un acierto o un error que condicionaba el desarrollo y el prestigio, en la sociedad de la profesión veterinaria. Hemos hecho bien el trabajo, resuelto problemas, somos una profesión seria y con un importante acervo científico.

¿Qué nos falta para dar el salto y alcanzar las cotas de prestigio, que no de preparación, que el veterinario tiene en otros países de nuestro entorno? En mi opinión hay muchas razones pero deberíamos analizar esa dicotomía en la dependencia, ya que, en ocasiones, la Salud Pública integral se ve arrastrada por el tsunami que supone la Medicina Asistencia y que gozando nosotros de una gran valoración tenemos la sensación de salir velados en la foto.

Con las crisis alimentarias el Ministerio de Agricultura y los compañeros que las gestionaron, entendieron enseguida que el objetivo a lograr era la Salud Pública, pasando a un segundo lugar la competitividad en las producciones ganaderas.

El cambio de una doble dependencia a una sola, que sería Agricultura, parece razonable, por el peso específico de la profesión en ese ámbito. En todo caso la especialidad de Salud Pública Veterinaria necesitaría el reconocimiento en ambos Ministerios. Ha sido pedido varias veces por el Consejo General de Veterinarios de España al Ministerio de Sanidad sin resultados.

6. **El desmesurado crecimiento del número de facultades y su incidencia en el empleo.**

Este es el problema capital de la profesión. Hemos pasado de 4 a 13 centros con 1.200 nuevos graduados al año, estando la demanda cifrada en 600.

En la parte positiva, el graduado veterinario está regulado por la directiva 2.005/36 CE, actualizada en 2013 que permite la libre circulación dentro de la Unión Europea. Por otro lado por mandato del

Parlamento Europeo se crea la Asociación Europea de Establecimientos Veterinarios de Educación (AEVE), que junto con la Federación de Veterinarios Europeos (FVE), aseguran la armonización de los estándares mínimos de formación. El sistema de homologación y acreditación, tiene carácter voluntario, siendo muy exigente y costoso. 8 de las Facultades Españolas están evaluadas positivamente.

Se ha considerado que, para mantener unos estándares de calidad en la formación, son suficientes con una Facultad por cada 10 millones de habitantes. En España serían suficientes de 4 a un máximo de 7 centros. El número actual desborda todos los rankings de los países de la Comunidad, colocándonos en una situación preocupante. Hay que tener en cuenta que la instalación y funcionamiento de una Facultad requiere cuantiosas inversiones en profesorado y en infraestructuras (Hospital Clínico Veterinario, operativo todos los días del año; Granja Docente Veterinaria y una planta piloto de Tecnología de Alimentos).

Nuestra profesión todavía es “joven” y, en pocos años, hemos pasado de un escaso paro, realmente sería paro técnico (menos del 6%) a una situación de un ligero aumento pero con un acusado nivel de precarización del empleo, con salarios bajos y trabajos poco dignos.

Datos de la EPA 2015 señalan a nuestra profesión entre las de menor paro real (10%). Estamos ante una cifra engañosa. El sector de clínicas de animales de compañía pasó la crisis pero está saturado, el aumento de los escalafones de funcionarios en las Administraciones Públicas (Central, Autonómica y Local) es muy limitado, el sector tradicional ganadero en España se encuentra en recesión y el número de veterinarios licenciados del país es tan alto como el de Reino Unido, Alemania y Francia juntos.

No quiero ser agorero pero la situación es, cuando menos, preocupante.

7. Razones que justifican que no estemos en plétora.

La demanda creciente de clínicas especialistas en animales de compañía y la precariedad laboral como mecanismo de absorción.

La necesidad de las industrias de cumplir con el denominado “paquete de higiene” y mantener la seguridad alimentaria en la puesta

en el mercado de cualquier alimento de origen animal. En este sentido, el Colegio con la colaboración de AECOSAN, Facultad de Veterinaria de la UCM y la Conserjería de Sanidad han desarrollado un Master de Seguridad Alimentaria, actualmente en su duodécima edición, consiguiendo un puesto de trabajo para 400compañeros.

Como ultima razón principal, muy desazonadora para nosotros, el hecho de que no encontrar trabajo en los dos años siguientes a la obtención del título, conduce al abandono de la profesión. Quizá estas razones expliquen la cifra de paro real tan baja que nos adjudican.

8. Valoración Social de nuestra profesión.

En 2007 Colegio y Consejo General elaboraron un estudio-respuesta respecto a los problemas profesionales que expusieron nuestros compañeros: el más importante es el elevado número de nuevos licenciados; al cual siguen la escasa relevancia social de los servicios prestados; la falta de un adecuado marco legal; la escasa presencia de veterinarios en órganos consultivos y de decisión; la escasa especialización; el intrusismo de otras profesiones y la competencia desleal entre nosotros mismos. Estas notas coinciden casi exactamente con lo que opinábamos los veterinarios en 1989 en el estudio que publicó el Consejo General.

Tenemos que indicar que la encuesta de 2007 acertó plenamente en el número de licenciados pero no en el reconocimiento, no en la falta del marco administrativo, no en la proyección en órganos consultivos, y sí detectó un serio problema en la falta de regulación de especialidades.

Respecto al escaso reconocimiento social, el estudio indica que mientras la valoración del veterinario es negativa, la de la sociedad es muy positiva para nuestra labor. Quizá sea por los bajos honorarios percibidos en tareas de alta complejidad técnica. La valoración positiva sí se corresponde con la capacidad de resolución de problemas, del mayor bagaje científico y la eficaz gestión de las grandes crisis sanitarias y alimentarias.

Nuestro país es una potencia en la producción de alimentos y con un marcado carácter exportador; para lo cual se hace imprescindible la competitividad basada en una impecable sanidad animal y técnicas avanzadas de producción en las que el veterinario juega un papel con mucha solvencia.

Muchos compañeros ocupan puestos directivos de gran nivel en las administraciones públicas, en Órganos de Investigación y desarrollan un magnífico trabajo en embajadas, en Órganos Comunitarios e Internacionales.

Hay investigadores reconocidos internacionalmente en el estudio de zoonosis, epidemiología, ocupando puestos claves como la Presidencia del Comité Científico de la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), así como la presidencia de la Federación Veterinaria Europea, que agrupa a 24 países y 243.000 asociados, es un veterinario español. Aquí aparece la paradoja, “Estar más valorados por la sociedad que por nosotros mismos”.

En el estudio de 2007 mencionado, la valoración social es alta, pero no destaca del conjunto sanitario. Superados por bioquímicos, farmacéuticos y por supuesto, médicos. Sin embargo, para la población que utilizó nuestros servicios, la valoración se sitúa al nivel de los médicos, con mención a la mejor preparación que otras profesiones.

Por supuesto que estas notas se refieren a la percepción del ciudadano, casi en exclusiva a la medicina veterinaria, siendo las tareas de salud pública, seguridad alimentaria y producciones, muy poco conocidas por la sociedad.

¿Qué piensan nuestros colegas europeos sobre la profesión? Según una encuesta realizada en 2015 por la Federación Veterinaria Europea, entre todos los veterinarios europeos, piensan de una manera similar a los españoles, excepto en el número de veterinarios necesarios: la mitad de los encuestados opina que se requieren más profesionales y más cualificados en la práctica veterinaria y en bienestar animal; que las áreas de mayor demanda serán en animales compañía y exóticos siendo necesarias las especializaciones en infecciosas, medio ambiente y formación en gestión de negocios.

Entre los españoles el 63% de los encuestados pide la limitación del acceso a la profesión, así como la regulación de las especialidades y un mayor peso de la Organización Colegial como reguladora y defensora de sus intereses.

CAMINANDO HACIA EL FUTURO: MI VISIÓN PERSONAL

Compartiendo las opiniones detectadas me permito enumerar unos puntos que considero claves para seguir nuestra andadura con éxito.

- El primero es una manifiesta obviedad: seguir con lo que hacemos bien.
- Prioritaria es la limitación de nuevos licenciados e impedir la apertura de Facultades de Veterinaria.
- Reivindico un mayor protagonismo de la Organización Colegial Veterinaria.

La sociedad tiene que conocer las aportaciones que hacemos y esto sólo se logra con “Dar visibilidad en nuestras tareas”. Debemos incrementar nuestra presencia en los medios de comunicación, más allá de la medicina veterinaria. Esto es tarea de todos: el Colegio, la Academia, el Consejo General, las Facultades, en definitiva aunar esfuerzos para hacer presencia.

Los animales están de moda e irá incrementándose a medida que la sociedad se haga más compleja, porque transmiten emociones y los humanos necesitamos canalizar las nuestras.

Personas que están en esta mesa conocen bien los medios de comunicación, han trabajado mucho y bien con ellos y de su mano somos más conocidos. Hay que continuar por ese camino!!!

- Poner en velocidad de crucero el tímido proyecto de desarrollo de especialidades veterinarias iniciado por el Consejo General.
- Teniendo en cuenta que muchos profesionales son dueños de clínicas, crearon sociedades para ejercer la clínica de animales de renta, o tienen consultorías alimentarias, se hace imprescindible formarles en gestión empresarial y marketing.
- En un mundo globalizado, y conociendo la competitividad del sector agroalimentario español, donde no es ajeno el buen hacer de nuestros compañeros, estos deben mirar a otros mercados en vías de desarrollo donde su experiencia sería muy valorada. Para los clínicos no hay fronteras en los Pirineos.
- La sociedad demanda un nuevo modelo productivo sin tanta dependencia energética, sin abonos y fertilizantes intensivos, basado en producciones ecológicas con modos de vida más naturales y menos consumistas. Si la sociedad crece en esa dirección, nosotros debemos mirar de cara a este modelo ya que generará puestos de trabajo. La investigación genética, la lucha biológica contra patógenos y plagas, producciones respetuosas con el bienestar animal, la adaptación al cambio climático, son nichos profesionales que nos están esperando.

- La demanda creciente del bienestar animal y la presión de los movimientos animalistas pudiera ser una buena oportunidad al haber mayor demanda de servicios veterinarios. Ahora bien, considero que, como profesión, nuestra posición debe ser clara y diferenciada respecto al movimiento animalista o a un bienestar animal mal entendido, ya que corremos el riesgo de confundir la ciencia con los afectos y el amor a los animales, que siendo un sentimiento positivo, no puede suplantar a la ciencia y a la correcta praxis profesional. Aquí la formación en las facultades tiene un gran trabajo a desarrollar.

DESPEDIDA Y UNA PROPUESTA

Doy las gracias a todos por abusar de su paciencia y por escuchar este relato y “mis” ideas profesionales.

Aprovecho para reclamar que, entre todos, debemos crear un foro de debate y análisis de nuestra situación para poder extraer las conclusiones que nos permitan situar la aguja de marear en posición para poder vislumbrar el rumbo más adecuado al futuro que ya está aquí.

Debemos caminar juntos para reconocernos y que otros nos conozcan.

Y acabo. Tenemos la suerte de pertenecer a una gran profesión digna, científica, vocacional y con un objetivo honroso:

“Sanar al animal y proteger la salud del hombre”

Los animales nos han acompañado desde las primeras civilizaciones; fue necesario domesticarlos, como ayuda y como compañía. Esta noble función la reconoce el inmortal Cervantes que ya en el primer párrafo del Quijote nos describe a su protagonista como poseedor de un “...rocín flaco y galgo corredor”. En el último capítulo todos los amigos le rodean en el lecho de muerte y el bachiller, Sansón Carrasco, le intenta consolar diciendo “...que ya tenía comprados de su propio dinero, los famosos perros para guardar el ganado, el uno llamado Barcino y el otro Butrón”.

¡Gran homenaje literario a los animales en el principio y en el fin de nuestra novela más universal!

Muchas gracias.

**MESA REDONDA SOBRE LA FARMACOVIGILANCIA
COMO HERRAMIENTA DE MEJORA PARA LA
SANIDAD ANIMAL**

11 de abril de 2016

**INTERVENCIÓN DEL COORDINADOR EXCMO. SR. DR. D.
ARTURO RAMÓN ANADÓN NAVARRO**
Académico de Número y Presidente de la RACVE



Real Academia de Ciencias Veterinarias de España

“La Farmacovigilancia como herramienta de mejora para la Sanidad Animal”

Presentación:
Prof. Dr. Arturo Anadón Académico de Número y Presidente de la RACVE

Madrid, 11 abril 2016

Presentación Mesa Redonda

- *¿En qué consiste la Farmacovigilancia y qué enseñanzas podemos sacar de ella?* **D. Ramiro Casimiro Elena**
Departamento de Medicamentos Veterinarios de la AEMPS.
- *El papel de la industria en la Farmacovigilancia.*
Dña. Isabel Marzo Lázaro, Directora de ADIPREM.
- *La FV en la clínica de animales de producción.*
D. Luis Miguel Jiménez Galán, Director Técnico de SERVET Talavera S.L.
- *La FV en la clínica de animales de compañía.*
D. Alfredo Fernández Álvarez, Director de la Clínica Veterinaria Peñagrande, Madrid.



“Reacciones Adversas de los Medicamentos”

Reacciones Adversa

Yatrogenia: - Son las *reacciones adversas producidas como consecuencia del* - uso de los medicamentos y - un determinado tratamiento veterinario.

Reacción adversa grave o severa (ADR) es una de las principales razones para el:

- *fracaso del desarrollo de nuevos medicamentos y*
- *la retirada de los medicamentos aprobados en el mercado.*

1) **Aceptable:** • Cuando el *riesgo es pequeño* en comparación con el *beneficio*.

2) **Inaceptable:** • Cuando el *riesgo es amplio*.

Reacciones Adversas (ADR)

La clasificación ADR por *Rawlins y Thompson (1997)*:

1) **Reacciones tipo A (aumentada):**

- Son dosis-dependiente y predecible (sobre la base de acciones farmacológicas conocidas del fármaco).
- Son relativamente comunes:
 - *hipoglucemia* inducida por antidiabéticos, y
 - *hemorragia* inducida por warfarina (anti-coagulación oral).

Reacciones Adversas (ADR)

2) **Reacciones tipo B (extraña):** • Son *Idiosincrásicas*, - no es predecible la acción farmacológica del fármaco, y - *no son necesariamente dosis-dependiente*.

• Representan \approx el 10-15% de todas las reacciones adversas (ADR) e incluyen:

- *lesión hepática* inducida por fármacos (DILI).

3) **Reacciones tipo C (crónica):** por una larga administración del medicamento => cambio adaptativos (*tolerancia a fármacos*) o nefropatía por analgésicos, insuficiencia cortico-suprarrenal al dejar los corticoides.

4) **Reacciones tipo D (retardada):** reacciones diferidas en el tiempo (carcinogénesis y teratogénesis).

Reacciones Adversas de los Medicamentos

1) Efectos secundarios o colaterales (“secondary effects” o “side-effects”):

- Acompañan a los *efectos principales* y se observan a la *posología normal* y en *condiciones regulares de empleo* del medicamento.
- Son *previsibles, benignos y aceptables* para el paciente.
- Moniliasis: - **tetraciclina**
- Somnolencia: - **antihistamínicos**
- Trastornos visión: - **anticolinérgicos**
- Polidipsia y poliuria: - **corticoides** (carnívoros)

Reacciones Adversas de los Medicamentos

2) Efectos adversos o indeseables (“adverse effects”):

- Observados a la *posología normal* y en las *condiciones regulares de empleo* del medicamento.
- *Inesperados.*
- A menudo *severos e inaceptables* para el paciente.
- Reacciones de *hipersensibilidad* a las => **penicilinas.**

Reacciones Adversas de los Medicamentos

3) Efectos tóxicos:

- Observados en *sobredosificación* o en las *condiciones anormales de empleo* de los medicamentos (“overdose”, “misuse” “off-label”, “extra-label”).
- *Previsibles.*
- A menudo *muy graves y mortales.*
- Pueden implicar *responsabilidad civil profesional del clínico o práctico.*

Reacciones Adversas de los Medicamentos

4) Intolerancia:

- Ocurre en los *extremos biológicos* de la variación biológica en la *absorción, excreción y metabolismo*.
- Se manifiesta con una *efectividad elevada* del medicamento.
- Es *función del organismo* y *no del medicamento*.
- Están *reguladas genéticamente* y se relacionan con => alteraciones en el metabolismo.

Reacciones Adversas de los Medicamentos

5) Idiosincrasia:

- Implica que existen respuestas anormales ante un medicamento.
- Podrían ser debidas a:
 - a) Mecanismos inmunitarios.
 - b) Vías bioquímicas aberrantes.
- *Cloranfenicol*: - puede originar 1 caso en 20000 personas tratadas *anemia aplásica mortal* => constituye un riesgo => base prohibición en animales de consumo.

Reacciones Adversas de los Medicamentos (I)

- Reacciones adversas: cualquier reacción a un **medicamento veterinario** que sea *nociva e involuntaria*, y que tenga lugar en respuesta *a dosis que se apliquen normalmente en los animales para* - la *profilaxis, el diagnóstico o el tratamiento de enfermedades, o* - *restablecer, corregir o modificar funciones fisiológicas*.
- Reacción adversa en personas: cualquier reacción que sea *nociva e involuntaria* y que tenga lugar en un ser humano tras la exposición a un **medicamento veterinario**.

Reacciones Adversas de los Medicamentos (II)

- **Reacción adversa grave:** - cualquier reacción adversa que ocasione - la *muerte*, - pueda *poner en peligro la vida*, - ocasione *una discapacidad o invalidez significativa* o constituya *una anomalía congénita o defecto de nacimiento*, - ocasione *síntomas permanentes o prolongados en los animales tratados*.
- **Reacción adversa inesperada:** - cualquier *reacción adversa* cuya naturaleza, gravedad o consecuencias *no sean coherentes* con el **resumen de las características del producto** (SPC) => Ficha Técnica + Prospecto.

“Farmacovigilancia Veterinaria”

Farmacovigilancia Veterinaria

- Conjunto de actividades encaminadas a conocer y evaluar de manera continuada la *eficacia* y la *seguridad* de los medicamentos veterinarios
- Para ello, se *identifica y cuantifica la eficacia* y los *riesgos conocidos o no*, => para garantizar un adecuado balance beneficio/riesgo y conseguir minimizar o evitar los riesgos.
- El objetivo es garantizar de manera continuada la *inocuidad de los medicamentos* una vez que han sido autorizados.

Farmacovigilancia Veterinaria

- El sistema busca confirmar si el “**Balance Beneficio/Riesgo**” del uso de los MV se mantiene dentro de los márgenes conocidos cuando se autorizó su comercialización, identificando:
 - *si hay nuevos riesgos que son desconocidos, o*
 - *si la gravedad y/o frecuencia de los riesgos ya conocidos ha variado significativamente y,*
 - *en instaurar medidas para minimizar las consecuencias y poder así gestionar adecuadamente los riesgos para la salud pública, la sanidad animal y el medio ambiente.*

Sospechas Efectos Adversos (SEAs)

- a) *Cualquier respuesta en un animal a un medicamento de uso humano o veterinario => que sea nociva y no intencionada.*
- b) *Cualquier observación de falta de eficacia de un MV tras la administración a un animal [de conformidad con el resumen de las características del producto (SPC)].*
- c) *Cualquier incidente medioambiental observado tras la administración de un MV a un animal.*

Sospechas Efectos Adversos (SEAs)

- d) *Cualquier incumplimiento del periodo de espera tras la administración a un animal de un medicamento de uso humano o veterinario.*
- e) *Cualquier respuesta nociva en personas a un MV.*
- f) *Cualquier constatación de un principio activo en un producto de un animal destinado a la producción de alimentos que supere los LMR establecidos con arreglo al R (CE) n° 470/2009.*

Farmacovigilancia (acciones)

- Supervisar y evaluar los datos sobre sospechas de efectos adversos (SEAs) de un MV y también de los grupos similares de MV.
- Armonización internacional de las definiciones, la *terminología* y el desarrollo tecnológico en el ámbito de la farmacovigilancia.
- Aclarar bien la Responsabilidad del profesional sanitario, ganadero, propietario del animal y usuario en general

Dudas y Cuestiones para Debate

Mesa Redonda de Farmacovigilancia:

- ¿Qué beneficios aporta la comunicación de Sospecha de Efectos Adversos (SEA)?
- ¿Por qué se comunican pocas SEA en veterinaria?
- ¿Cuál es la responsabilidad del profesional que comunica?
- ¿Qué responsabilidad tiene el titular /laboratorio de la especialidad?
- ¿Cómo puede mejorarse el sistema de comunicación y gestión de información en beneficio de la sanidad animal?



Real Academia de Ciencias Veterinarias de España

**INTERVENCIÓN DEL SR. D.
RAMIRO CASIMIRO ELENA**

*Consejero Técnico del Departamento de
Medicamentos Veterinarios de la AEMPS*

 DEPARTAMENTO MEDICAMENTOS VETERINARIOS

**FARMACOVIGILANCIA VETERINARIA:
¿EN QUE CONSISTE?
¿QUE ENSEÑANZAS PODEMOS
EXTRAER DE ELLA?**



RAMIRO CASIMIRO ELENA
Consejero Técnico del DMV

REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS DE ESPAÑA Abril 2016

 DEPARTAMENTO MEDICAMENTOS VETERINARIOS

¿Qué es la Farmacovigilancia Veterinaria?

Conjunto de actividades dirigidas a evaluar de manera **continuada** la **EFICACIA** y la **SEGURIDAD** de los medicamentos veterinarios después de su autorización. Identificar y cuantificar su Eficacia y sus Riesgos para garantizar un adecuado balance **BENEFICIO / RIESGO**.



REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS DE ESPAÑA Abril 2016

Seguridad de los MV en:

- Animal de destino.
- Alimentos de origen animal: Residuos y Resistencias (antimicrobianos y antihelmínticos preferentemente).
- Personas: Por contacto con el medicamento durante su administración o por el contacto con los animales tratados.
- Seguridad en el medio ambiente.



¿Por qué es necesaria la FV?

A pesar los ensayos preclínicos y clínicos a que se someten los medicamentos para su registro, no es posible conocer todas sus particularidades, que sí se dan en la clínica, debidas: al animal (pe. edad, patologías asociadas, sensibilidad racial), al tratamiento (pe. interacción entre medicamentos, aditivos alimentarios), al manejo, a la incidencia de los **Efectos Adversos** (que suele ser baja).

¿Qué podemos esperar de la FV?

- Completar la información previa al registro con datos reales derivados del uso: bien descubriendo **nuevos** datos de Eficacia y Seguridad, bien conociendo mejor la **incidencia y gravedad** de los datos ya conocidos.
- Poder informar al veterinario, ganaderos y propietarios de los animales de los riesgos y de la mejor manera de gestionarlos.



Fuentes de Información:

- **Profesionales Sanitarios:** Veterinarios, Farmacéuticos, Médicos, etc.
- Ganaderos y Propietarios de los animales.
- Titulares de los registros.
- Literatura científica.



Obligaciones de los Profesionales Sanitarios

- Real Decreto Legislativo 1 / 2015 que aprueba el texto refundido de la Ley de Garantías y Uso Racional de los Medicamentos y Productos Sanitarios (art. 41.3).
- Real Decreto 1246 / 2008 de autorización, registro y farmacovigilancia de medicamentos veterinarios (art. 65)



Real Decreto 1246/2008 (art. 65):

Los Profesionales Sanitarios están obligados a :

- Colaborar en el SEFVET, especialmente cuando se trate de SARs graves o inesperadas o cuando la comunicación sea un condición de la autorización.
- **Notificar toda SAR** de la que tengan conocimiento y enviarla a la AEMPS o al Titular, utilizando el formulario establecido a los efectos ("Tarjeta Verde").
- Conservar la documentación clínica de las SAR, para realizar los seguimientos de dichas SAR.

ESTADO DE LA ACTIVIDAD		PERÍODO DE EJECUCIÓN DE LA ACTIVIDAD		INDICADORES DE ACTIVIDAD	
<p>ESTADO DE LA ACTIVIDAD: Se refiere al estado de la actividad en el momento de la notificación. Se puede encontrar en el apartado de "ESTADO DE LA ACTIVIDAD" del formulario de notificación.</p>					
<p>PERÍODO DE EJECUCIÓN DE LA ACTIVIDAD: Se refiere al periodo de tiempo en el que se ha ejecutado la actividad. Se puede encontrar en el apartado de "PERÍODO DE EJECUCIÓN DE LA ACTIVIDAD" del formulario de notificación.</p>					
<p>INDICADORES DE ACTIVIDAD: Se refiere a los indicadores de actividad que se han utilizado para evaluar la actividad. Se pueden encontrar en el apartado de "INDICADORES DE ACTIVIDAD" del formulario de notificación.</p>					
1. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	2. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	3. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	4. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	5. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	6. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN
7. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	8. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	9. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	10. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	11. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	12. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN
13. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	14. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	15. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	16. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	17. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	18. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN
19. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	20. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	21. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	22. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	23. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	24. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN
25. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	26. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	27. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	28. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	29. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	30. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN
31. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	32. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	33. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	34. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	35. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	36. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN
37. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	38. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	39. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	40. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	41. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	42. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN
43. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	44. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	45. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	46. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	47. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	48. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN
49. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	50. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	51. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	52. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	53. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	54. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN
55. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	56. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	57. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	58. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	59. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN	60. ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN





DEPARTAMENTO MEDICAMENTOS VETERINARIOS

2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	ESPECIE
15	5	5	4	4	1	3	Aves
183	568	38	75	54	49	52	Bovino
894	263	70	68	141	150	181	Ovino/Caprino
33	7	17	40	63	66	55	Porcino
422	288	265	442	578	759	843	Perro
6	3	-	7	2	-	-	Equino

REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS DE ESPAÑA

Abril 2016

DEPARTAMENTO MEDICAMENTOS VETERINARIOS

BALANCE BENEFICIO / RIESGO

SEGURIDAD Y EFICACIA DE LOS MV

REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS DE ESPAÑA

Abril 2016

INTERVENCIÓN DE LA SRA. D^a.

ISABEL MARZO LÁZARO

Directora de ADIPREM (Federación Española Empresarial de Aditivos y Premezclas para la Salud y Nutrición Animal)



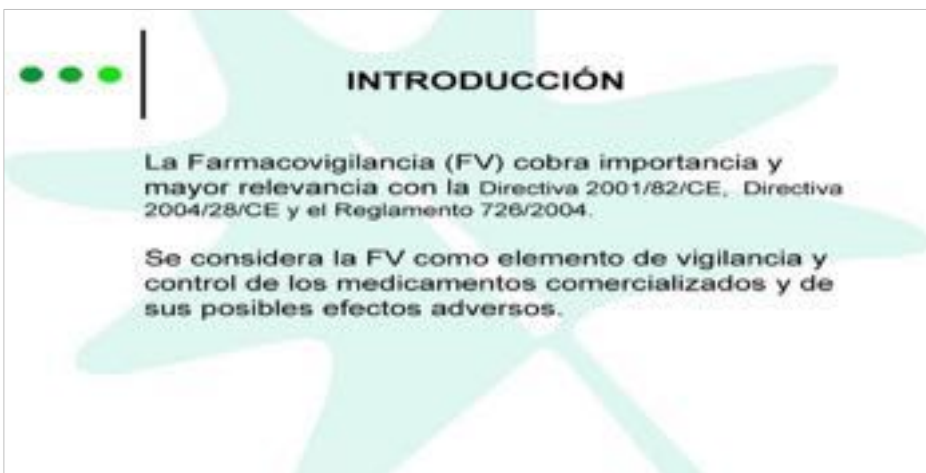
● ● ● | *La farmacovigilancia como herramienta de mejora para la Sanidad Animal*

MESA REDONDA

El papel de la industria en la Farmacovigilancia
Isabel Marzo Lázaro, Directora ADIPREM

adiprem 

RACVE, 11 de abril de 2016



● ● ● | **INTRODUCCIÓN**

La Farmacovigilancia (FV) cobra importancia y mayor relevancia con la Directiva 2001/82/CE, Directiva 2004/28/CE y el Reglamento 726/2004.

Se considera la FV como elemento de vigilancia y control de los medicamentos comercializados y de sus posibles efectos adversos.



OBJETIVO

Objetivo de la Farmacovigilancia Veterinaria (FV):


- Cuantificación, evaluación, prevención y minimización de los riesgos derivados del uso del medicamentos veterinarios.
- Mantener en el mercado MVs con una relación beneficio-riesgo adecuada.
- Tomar decisiones correctas para suspender o modificar el uso del medicamento cuando no sea posible un equilibrio B/R adecuado.



RESPONSABILIDADES

Responsabilidad FV:

- Compartida entre todos los agentes que utilizan el medicamento veterinario:
 - Autoridades sanitarias (AEMPS, EMA...)
 - **Titular de la Autorización de Comercialización (TAC) "laboratorio"**
 - Profesionales sanitarios (veterinarios, etc.)
- Compartir máxima información sobre los efectos adversos en general y las reacciones adversas graves o inesperadas.



Titular de Autorización de Comercialización – TAC: ¿Quién es?

Definición:

- Toda persona física o jurídica que haya recibido la preceptiva autorización sanitaria de la Administración del Estado para comercializar un Medicamento Veterinario.
- El TAC, sea o no el fabricante, es el responsable de calidad, eficacia, seguridad, identificación correcta e información apropiada y actualizada del Medicamento Veterinario
- Coloquialmente solemos referirnos al "laboratorio"



Documentación - Guías

Profesionales veterinarios:

- Buenas Prácticas de Farmacovigilancia Veterinaria (BPPFV-VET) del Sistema Español de Farmacovigilancia de Medicamentos Veterinarios (SEFV-VET).

TAC's (laboratorios):

- Volume 9B – Guidelines on Pharmacovigilance for Medicinal Products for Veterinary Use



TAC: Responsabilidades

- ✓ Asegurar que toda la información relevante sobre el balance Beneficio/Riesgo de sus medicamentos se comunica a las Autoridades Competentes de forma completa y rápida.
- ✓ Disponer de un Sistema de Farmacovigilancia actualizado para trabajar sobre todos los Medicamentos Veterinarios comercializados.
- ✓ Apoyar y dotar de recursos a la persona responsable de farmacovigilancia (QQVP).
- ✓ Asegurar que el QQVP reciba y pueda acceder a toda la información relevante para la seguridad del Medicamento Veterinario




QPPV: Funciones y responsabilidades

- ✓ **El laboratorio (TAC) debe contar con un Responsable de Farmacovigilancia:**
Qualified Person Responsible for Pharmacovigilance (QPPV), con formación y experiencia acreditados.

Sus funciones:

- Establecer y mantener Sistema de FV
- Notificar a las CAs las SAEs e IPSs
- Evaluación continua de la FV
- Asegurar la respuesta adecuada a cualquier petición de información de las CAs



¿Por qué es importante que el TAC reciba información detallada de la SAE?





TAC: Informes de Seguridad

- ❖ El informe debe recoger una revisión global de datos:
 - ❖ SAEs en Especies de destino (incluyendo los Off-label y las Falta de Eficacia)
 - ❖ SAEs en personas
 - ❖ Uso en otras especies No destino
 - ❖ Problemas medioambientales,
 - ❖ Tiempos de Espera
 - ❖ Transmisión de agentes infecciosos
- ❖ Deberán tenerse en cuenta estudios post-autorización, experiencias obtenidas tras el uso, etc.
- ❖ Esta información debe ser analizada y discutida como parte de la evaluación del Balance B/R



Evaluación general de FV

- El TAC debe:
- Asegurarse que todas las fuentes de información son revisadas regularmente para identificar posibles Señales.
 - Asegurarse que se adoptan las medidas apropiadas en respuesta a una nueva evidencia que afecte al Balance B/R
 - Mantener debidamente informados a los Profesionales Sanitarios, ganaderos y a los propietarios de los animales sobre los cambios en los Medicamentos Veterinarios.



**INTERVENCIÓN DEL SR. D.
LUIS MIGUEL JIMÉNEZ GALÁN**
Director Técnico de SERVET Talavera, S.L.)



OBLIGACIONES DE LOS CLÍNICOS

Real Decreto 1246/2008 por el que se regula el procedimiento de autorización, registro y farmacovigilancia de los medicamentos veterinarios

Art. 65. Obligaciones de los profesionales sanitarios. Los veterinarios, médicos, farmacéuticos y demás profesionales sanitarios tienen la obligación de:

a) Colaborar en el Sistema Español de Farmacovigilancia de medicamentos veterinarios, especialmente cuando se trate de reacciones adversas graves o inesperadas o cuando tal comunicación sea una condición que figure en la autorización de comercialización.

OBLIGACIONES DE LOS CLÍNICOS

b) Notificar toda sospecha de reacción adversa de la que tengan conocimiento durante su práctica habitual y enviarla lo más rápidamente posible a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios o al titular de la autorización de comercialización del producto, mediante el formulario que se establecida.

c) Conservar la documentación clínica de las presuntas reacciones adversas a medicamentos, con el fin de completar o realizar el seguimiento, en caso necesario.

d) Cooperar con los técnicos del Sistema Español de Farmacovigilancia de medicamentos veterinarios, proporcionando la información necesaria que éstos les soliciten para ampliar o completar la información sobre la presunta reacción adversa.

OBLIGACIONES DE LOS CLÍNICOS

e) Mantenerse informados sobre los datos de eficacia y seguridad de los medicamentos que habitualmente prescriban, dispensen o administren, según los casos.

f) Colaborar con los responsables de farmacovigilancia de los titulares de autorizaciones de comercialización, aportándoles la información que le soliciten, para su posterior notificación al Sistema Español de Farmacovigilancia de medicamentos veterinarios.

g) Colaborar con la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, en calidad de expertos, en la evaluación de los problemas de eficacia y seguridad de los medicamentos.

QUÉ ES LO QUE ESTÁ OCURRIENDO

- Falta de notificaciones a la AEMP
- Desconocimiento de nuestras obligaciones
- Falta de tiempo en la práctica diaria
- Rechazo o aversión a la burocracia
- Evitar posibles problemas (represalias)
- Pérdida de tiempo
- Pensar que no sirve de nada

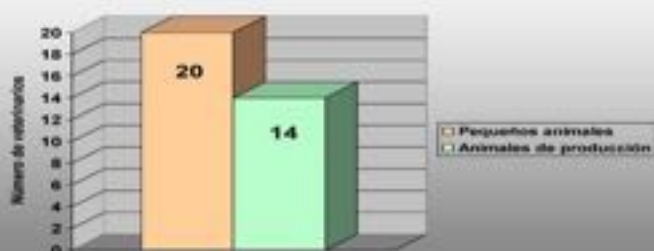
QUÉ ES LO QUE ESTÁ OCURRIENDO

- A veces el veterinario desconoce si ha habido algún problema
- A veces es el productor el que realiza los tratamientos sin consultoría
- Notificación al laboratorio
- Se deja en manos del laboratorio y no se va más allá
- En casos muy graves (muertes) se notifica muchas veces persiguiendo indemnizaciones

EJEMPLO: MASTITIS

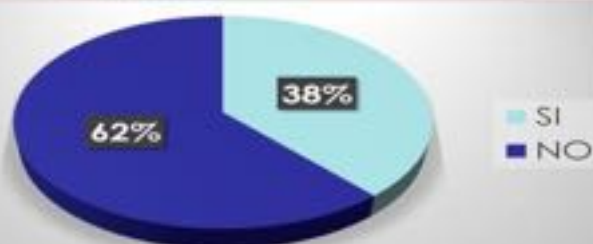
- En muchos casos no hay un diagnóstico preciso y el productor trata sin saber qué tipo de microorganismo es el agente causal
- No tiene conocimientos precisos
- La falta de eficacia es relativa ya que ni siquiera se sabe si el medicamento era o no el indicado

ENCUESTA A VETERINARIOS CLÍNICOS



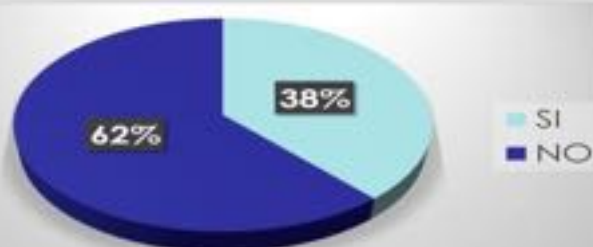
ENCUESTA A VETERINARIOS CLÍNICOS

- ¿Ha tenido en los últimos dos años algún problema que sospechara que pudiera deberse al uso de algún medicamento veterinario?



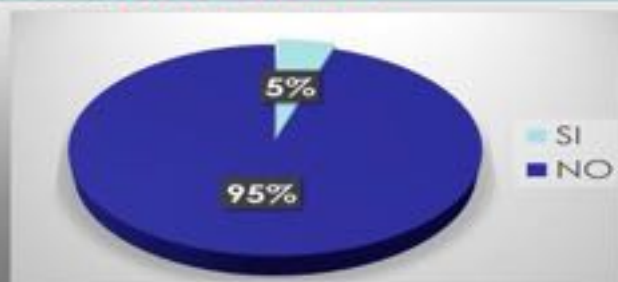
ENCUESTA A VETERINARIOS CLÍNICOS

- ¿Ha puesto en conocimiento del laboratorio alguno de estos casos? **35 de los 79 casos**



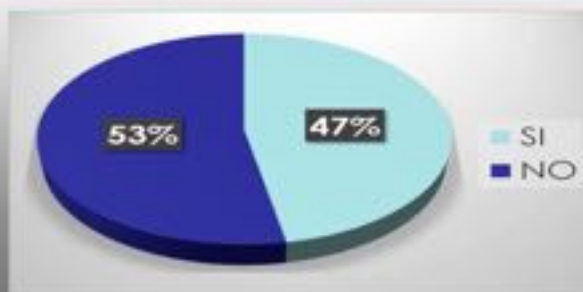
ENCUESTA A VETERINARIOS CLÍNICOS

- ¿Ha puesto en conocimiento de la administración alguno de estos casos? **SOLO UN VETERINARIO**



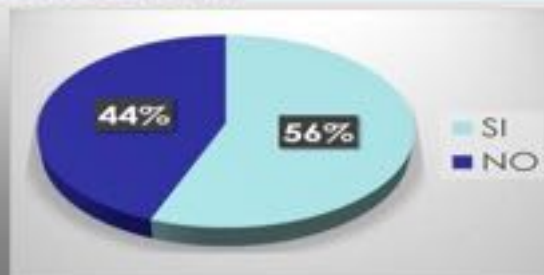
ENCUESTA A VETERINARIOS CLÍNICOS

- ¿Y problemas de falta de eficacia?



ENCUESTA A VETERINARIOS CLÍNICOS

- ¿Ha puesto en conocimiento del laboratorio alguno de estos casos de falta de eficacia?

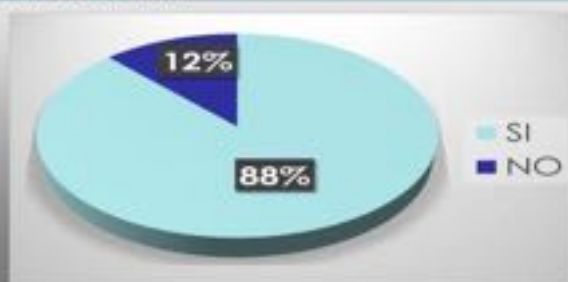


ENCUESTA A VETERINARIOS CLÍNICOS

- 116 incidencias en 2 años
- 34 veterinarios
- 58 casos notificados (50%)
- 48 al laboratorio (83%)
- 10 a la AEMPS (17%)

ENCUESTA A VETERINARIOS CLÍNICOS

- ¿Cree usted que tiene obligación legal de comunicar las reacciones adversas?



POSIBLES SOLUCIONES

- Concienciación del veterinario
- Campañas por parte de los colegios
- Notificación al laboratorio
- El laboratorio debe ayudar al veterinario a iniciar el trámite de la notificación
- Concienciación de productores
- Consultar al veterinario en caso de cualquier sospecha



INTERVENCIÓN DEL SR. D.
ALFREDO FERNÁNDEZ ÁLVAREZ
Director de Clínica Veterinaria Peñagrande

FARMACOVIGILANCIA DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS EN MEDICINA Y CIRUGÍA DE ANIMALES DE COMPAÑÍA

BASES LEGALES Y MARCO NORMATIVO

En la actualidad existe un marco normativo que regula la relación del veterinario especializado en medicina y cirugía de animales de compañía con el medicamento veterinario en su práctica profesional. Este marco está constituido por normas de distinto rango como leyes, reales decretos y órdenes. En relación con la Farmacovigilancia Veterinaria destacan algunas de ellas, como la Ley de 29/2006, de 26 de julio, el Real Decreto 1246/2008, de 18 de julio y el Real Decreto 1132/2010, de 10 de septiembre.

La Ley de 29/2006, 26 de julio de Garantías y Uso Racional de los Medicamentos y Productos Sanitarios, normaliza los procedi-

mientos necesarios para que en España se comercialicen medicamentos veterinarios de calidad, eficaces y seguros, correctamente identificados y que dispongan de la información apropiada para su correcta utilización. Recogemos esta ley porque en ella, se definen los sistemas de control del medicamento veterinario, en la cual se establece toda la reglamentación en materia de medicamentos, no sólo en relación a la autorización sanitaria y registro previo a la comercialización de los mismo, sino también en relación a su control y seguimiento posterior, a través de los sistemas de farmacovigilancia.

En este mismo sentido, en el **DR 1246/2008, de 18 de julio, Regula el Procedimiento de Autorización, Registro y Farmacovigilancia de los Medicamentos Veterinarios Fabricados Industrialmente**, constituye un real decreto en el que se establece la normativa necesaria para la actualización de los procedimientos de registro y la farmacovigilancia de los medicamentos veterinarios en España armonizados en el ámbito europeo. Destacamos también, el **RD 1132/2010, de 10 de septiembre, que modifica el RD 109/1995, de 27 de enero, sobre Medicamentos Veterinarios**, en el cual se adecua nuestro marco legislativo a diversas directivas europeas en materia de medicamentos veterinarios, definiendo cual es el marco normativo que regula la relación global entre el veterinario en su ejercicio profesional y el medicamento de uso veterinario, incluyendo los aspectos actualizados en materia de farmacovigilancia.

RELACIONES DEL VETERINARIO ESPECIALISTA EN MEDICINA Y CIRUGÍA DE ANIMALES DE COMPAÑÍA CON EL MEDICAMENTO DE USO VETERINARIO

El veterinario en el desarrollo de su actividad profesional mantiene una constante relación con el medicamento de uso veterinario. La relación más frecuente en la práctica habitual se produce a través de la cumplimentación de la receta veterinaria, documento de naturaleza legal que recoge las distintas relaciones de los facultativos con los medicamentos, representadas por su prescripción, su administración, su aplicación y/o su cesión.

Sin embargo, la relación del veterinario con los medicamentos no sólo se concreta en las actuaciones anteriormente indicadas, sino que continúa después de su indicación y/o utilización por parte del clínico. Existe otra función esencial del veterinario en relación a la respuesta de los medicamentos en sus pacientes determinada por el control y segui-

miento de los posibles efectos adversos e indeseados que pueden derivarse de su uso. Esta labor es particularmente importante pues de los efectos adversos e indeseados de los medicamentos veterinarios pueden generarse daños a distintos niveles como por ejemplo la salud pública o de las personas, la sanidad animal y la protección del medio ambiente. Para identificar y controlar estos efectos adversos es necesario que el facultativo participe en una actividad que conocemos como **Farmacovigilancia Veterinaria**.

La farmacovigilancia veterinaria, en el área de la sanidad de los animales de compañía, consistiría en el seguimiento de los posibles efectos adversos e indeseados de los medicamentos empleados en el curso de las terapias de animales de compañía, principalmente representados por perros y gatos.

FUNCIONES DEL VETERINARIO EN MATERIA DE FARMACOVIGILANCIA

El veterinario tiene la obligación profesional de realizar las prácticas necesarias de farmacovigilancia. Dentro de esta función global la labor del facultativo debe estructurarse en una serie de pasos o procesos que comienzan con la **identificación** de las posibles reacciones adversas e indeseadas, considerándolas desde una perspectiva técnica, como especialistas en esta área de la sanidad. La presencia de un fármaco en el mercado, va precedida de ensayos clínicos que dan información sobre su seguridad y eficacia de forma limitada, ya que no pueden ensayarse en un número de pacientes tan grande, ni en las condiciones reales que se darán con su consumo generalizado. Por ello pueden presentarse reacciones adversas que pueden resultar eventualmente graves.

La función del veterinario clínico dentro de la farmacovigilancia no sólo se concreta en la identificación de las reacciones adversas, sino también tienen por objeto un análisis más preciso y detallado de las mismas, que requiere la incorporación de aspectos como su **cuantificación y su evaluación** técnica. Se trata de un proceso en el que se registran los síntomas clínicos derivados de la reacción adversa o indeseada. El veterinario definirá con el mayor detalle científico posible toda la situación observada incorporando todas aquellas consideraciones que permitan conocer con el mayor detalle posible dichas reacciones.

La **prevención y la minimización de los riesgos** derivados del uso de los medicamentos veterinarios una vez comercializados, es otra

de las importantes funciones que desempeña el veterinario en su ejercicio cotidiano, a través de la mejora del conocimiento de los efectos de los fármacos. Se trata de una función particularmente importante pues tiene un efecto inmediato y práctico en el uso de los medicamentos veterinarios implicados en este tipo de reacciones adversas.

Para que los sistemas nacionales de farmacovigilancia sean realmente efectivos, junto con la identificación de las reacciones adversas medicamentosas como su evaluación y cuantificación, es preciso que el veterinario participe activamente en la **comunicación** de las mismas.

MODELO DE COMUNICACIÓN DE LAS REACCIONES ADVERSAS E INDESEADAS EN LA PRÁCTICA VETERINARIA

El veterinario especialista en medicina y cirugía de animales de compañía, una vez ha pautado un medicamento en el que se ha observado el desarrollo de una reacción adversa e indeseada debe implementar su función de identificación, cuantificación y evaluación de la misma, recogiendo la mayor información posible al respecto. Todo este examen realizado por el veterinario clínicos deberá ser adecuadamente comunicado a la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios.

Para ello se pone a disposición del facultativo la denominada **“Tarjeta Verde” (TV)**, que se podrá enviar por distintos canales al Sistema Español de Farmacovigilancia del Medicamento Veterinario (SEFV-VET). Este sistema de control se integra en una base de datos global, participada por todas las comunidades autónomas de nuestro país, con el fin de generar un registro de todas las comunicaciones recibidas que recibe el nombre de **“VIGIA-VET”**. En él quedarán registradas dichas reacciones adversas, constituyéndose como una base de datos activa y dinámica para la toma de decisiones en materia de propiedades de los medicamentos veterinarios.

La dimensión de este sistema de control de medicamentos adquiere una mayor importancia, en tanto en cuanto, dicha información se integrará en un sistema europeo en el cual se valoran y cruzan todos los datos recibidos de los países participados. Gracias a este modelo, el sistema de farmacovigilancia veterinaria, puede identificar la presentación de posibles reacciones adversas de los medicamentos para la toma de decisiones de su uso en función de su intensidad, de forma que su

identificación permita mantener en el mercado los medicamentos veterinarios con una **relación riesgo-beneficio** adecuada, o bien suspenderlos de su uso cuando, esto no sea posible.

OBLIGACIÓN DEL ESPECIALISTA EN MEDICINA Y CIRUGÍA DE ANIMALES DE COMPAÑÍA EN EL SISTEMA DE FARMACOVIGILANCIA

El clínico especializado en animales de compañía ejerce su función en el control de los medicamentos en nuestro país al formar parte **integrada del sistema de farmacovigilancia del medicamento veterinario**. El sistema se nutre de toda la información recibida a partir de su ejercicio profesional, constituyéndose como la base del modelo sobre la cual se desarrolla todo el sistema de control y seguimiento de las posibles reacciones adversas medicamentosas.

El clínico tiene la obligación profesional de participar en los sistemas de control de los medicamentos que emplea en su ejercicio cotidiano, identificando los signos o síntomas que le hagan sospechar de una posible “Reacción Adversa de un Medicamento Veterinario” (SAE), en un paciente determinado, en el curso de un tratamiento médico de una patología específica. Igualmente tendrá la obligación profesional de la comunicación de dicha situación a la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) o al titular de la autorización comercial (TAC).

La identificación de los síntomas o signos clínicos requerirá su definición a partir de un análisis profesional emitido por los veterinarios en cuestión como especialistas en dicha materia con el fin de cuantificar adecuadamente dicha situación. Por tanto, el veterinario en su conjunto, y el especialista en medicina y cirugía de animales de compañía en particular, tiene un papel fundamental en el desarrollo de los **sistemas de control de los medicamentos que se comercializan en España**. De su participación pueden derivarse modificaciones sustanciales en las fichas técnicas de los mismos o, incluso, la retirada de un medicamento.

Esta labor de vigilancia es una actividad compartida entre todos los agentes que utilizan el medicamento veterinario: el titular de la autorización comercial que debe comunicar dichas reacciones a la autoridad sanitaria correspondiente, las autoridades sanitarias que deben registrar dichas comunicaciones en la base de datos VIG IA-VET y, como ya hemos señalado, los propios profesionales sanitarios representados

en nuestro caso particular por los veterinarios especialistas en medicina y cirugía de animales de compañía.

En este mismo sentido, el resto de profesionales incluidos dentro de los especialistas en sanidad, como médicos, enfermeros, dentistas o, entre otros, farmacéuticos, también comparten esta responsabilidad profesional en cada una de sus áreas de actuación profesional.

Igualmente, el veterinario debe interactuar con los propietarios de los animales que atiende en base a la identificación de posibles reacciones adversas derivadas del uso de medicamentos veterinarios, ampliando de esta manera su capacidad para reconocer estas reacciones y establecer los mecanismos de seguridad necesarios para evitar sus consecuencias sobre la salud de los animales, la salud pública y el medio ambiente.

RESPONSABILIDAD PROFESIONAL VETERINARIA EN MATERIA DE FARMACOVIGILANCIA

La **responsabilidad profesional sanitaria veterinaria** es la que se atribuye a aquellas personas que, en el ejercicio de su práctica profesional, y precisamente por eso, incurren en un ilícito o infringen un precepto y eso produce consecuencias perjudiciales para una persona. En este tipo de responsabilidad la actuación del facultativo es analizada doblemente con el objeto de determinar la posible responsabilidad derivada de sus actos profesionales:

- **Titulación en Veterinaria.** En primer lugar, porque está dotado de unos conocimientos, pericias o saberes que, por lo habitual, están respaldados por la posesión del título de veterinario acreditativo de la idoneidad para el desempeño de sus funciones sanitarias, médicas y quirúrgicas.
- **Ejercicio Profesional.** En segundo lugar, porque su actuación causante del ilícito está delimitada y dentro de su ejercicio profesional. Por tanto, el veterinario especialista en medicina y cirugía de animales de compañía incurriría en responsabilidad porque ha efectuado su profesión con algún error, tanto por acción como por omisión, y la correspondiente transgresión normativa y la génesis de un daño en un tercero que deberá ser reparada.

Concretando se entendería por responsabilidad profesional veterinaria la obligación que tiene el sanitario de reparar un daño que haya

podido originar a otras personas derivado de sus actos profesionales, errores voluntarios o involuntarios u omisiones. En el caso particular de la farmacovigilancia veterinaria el análisis de la actividad y responsabilidad profesional se concretaría a las obligaciones que se derivan específicamente del **control de los posibles efectos adversos e indeseados de los medicamentos veterinarios** empleados en su práctica profesional.

Esta responsabilidad profesional puede adquirir un nivel importante, cuando de la falta de atención de las obligaciones profesionales en materia de farmacovigilancia, se pudiesen derivar daños **sobre los animales, las personas y/o el medio ambiente**. En este tipo de actuación, el veterinario adquiere un papel relevante al constituirse como una parte de un sistema global de control y prevención de efectos adversos derivados del uso de medicamentos veterinarios.

Todos los agentes implicados en la identificación y gestión de las reacciones adversas de los medicamentos veterinarios deben colaborar de una forma integrada, de tal modo que se pueda compartir la máxima información sobre los medicamentos veterinarios para alcanzar una utilización óptima de los recursos sanitarios y poder identificar lo más rápido posible los efectos adversos en general de los medicamentos y las reacciones adversas graves o inesperadas que no hayan sido conocidas hasta el momento de su presentación con el objeto de prevenirlas, reducir su frecuencia y gravedad.

La información agregada permitirá contemplar un panorama más global y generar información suficiente para **garantizar la seguridad y eficacia de los medicamentos veterinarios**. El correcto funcionamiento del sistema de control y vigilancia de los medicamentos, integrando a todos los profesionales, permitirá una mayor eficiencia al incorporar la máxima información posible. La responsabilidad profesional del veterinario en materia de farmacovigilancia adquiere una relevancia especial en la que supera su práctica habitual, formando parte de una estructura global más compleja.

BASES PARA UNA CORRECTA PRÁCTICA PROFESIONAL: “MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS EN FARMACOVIGILAN- CIA VETERINARIA”

El objetivo es establecer unos criterios de **“Buenas Prácticas de Farmacovigilancia Veterinaria”** dentro del sistema que ponga a dis-

posición de los veterinarios especialistas en medicina y cirugía de animales de compañía medicamentos con la calidad y seguridad necesaria. Es necesario definir un **modelo de garantía de calidad** en las actividades del Sistema Español de Farmacovigilancia de Medicamentos Veterinarios. Por tanto, el veterinario debe ser consciente de su responsabilidad profesional en el ejercicio de su actividad sanitaria constituyéndose como la base fundamental para el desarrollo de sus funciones en materia de farmacovigilancia. Para ello se proponen las bases de las “Buenas Prácticas de Farmacovigilancia Veterinaria”:

- **Colaborar con el Sistema Español de Farmacovigilancia Veterinaria** especialmente en la identificación de reacciones adversas medicamentosas graves o inesperadas.
- **Comunicar todas las reacciones adversas** al Sistema Español de Farmacovigilancia Veterinaria (SEFV-VET) de que tenga conocimiento en su práctica clínica habitual enviándola a la AEMPS o al titular propietario de la comercialización del medicamento.
- **Emplear la Tarjeta Verde como soporte de comunicación** de las reacciones adversas observadas en la práctica habitual tanto a la AEMPS como a los titulares de la comercialización del medicamento veterinario.
- La Tarjeta Verde puede enviarse por **correo postal, FAX o correo electrónico**, aunque es preferible la notificación electrónica directa a través de VIGIA-VET o EUDRAVIGILANCE.
- **Conservar la documentación clínica de las reacciones adversas** con el fin de completar o realizar el seguimiento, en archivos específicos y registrándolas en los historiales sanitarios.
- **Cooperar con los técnicos del Sistema Español de Farmacovigilancia Veterinario**, proporcionándoles toda la información que les soliciten para ampliar o completar la información de las reacciones.
- **Mantenerse informados sobre los datos de eficacia y seguridad de los medicamentos veterinarios** que habitualmente prescriban, dispensen o administren.
- **Colaborar con los responsables de los departamentos de farmacovigilancia** de los titulares de la comercialización de medicamen-

tos aportándoles la información que soliciten para su remisión a los SEFV_VET.

- **Colaborar con la AEMPS**, en calidad de experto, en la evaluación de los problemas de eficacia y seguridad de los medicamentos veterinarios en materia de farmacovigilancia.

PROBLEMÁTICA ACTUAL EN EL SISTEMA DE FARMACOVIGILANCIA VETERINARIA EN EL ÁREA DE LOS ESPECIALISTAS EN MEDICINA Y CIRUGÍA DE ANIMALES DE COMPAÑÍA

Aunque en los estudios recientes de la AEMPS muestran que el veterinario cada día es más activo en la comunicación de efectos adversos e indeseados de los medicamentos empleados en su práctica profesional, podemos afirmar que aún hoy se constata una baja implicación y participación de los especialistas en medicina y cirugía de animales de compañía en el Sistema Español de Farmacovigilancia de Medicamentos Veterinarios. Esta situación está determinada por una serie de elementos o factores que a continuación detallamos:

- **Insuficiente conocimiento en materia de responsabilidad profesional sanitaria veterinaria** y, particularmente, en el área del medicamento veterinario, concretamente en las funciones que se demandan de los especialistas.
- **Inadecuada formación del especialista en materia de farmacovigilancia** de medicamentos veterinarios lo que lleva a un insuficiente conocimiento de las implicaciones profesionales del veterinario en dicha materia.
- **Necesidad de establecimiento de modelos o sistemas de actualización profesional** en el ámbito de la farmacovigilancia veterinaria que permitan concretar los principios de participación del veterinario en el control de las reacciones adversas e indeseadas de los medicamentos veterinarios.
- **Desinterés por parte del especialista en medicina y cirugía de animales de compañía en relación a la farmacovigilancia** de medicamentos veterinarios al no percibir de forma inmediata los resultados de su participación en el sistema de identificación de reacciones adversas. Probablemente el veterinario no advierte al SEFV-VET como una fuente que mejora el conocimiento de los efectos medicamentosos.

- **Desconocimiento de los sistemas de comunicación de las reacciones adversas** observadas e identificadas en el ejercicio cotidiano de su práctica profesional sanitaria.
- **Dispersión y dilución de los niveles de responsabilidad profesional veterinaria** en el incumplimiento de sus obligaciones dentro del Sistema Español de Farmacovigilancia de Medicamentos Veterinario.
- **Inexistencia de modelos de control de la actividad del veterinario en materia de farmacovigilancia** en los que se pudiesen visualizar directa y periódicamente por parte de los veterinarios, los resultados derivados de dichas prácticas de control.
- **Falta de percepción por parte del clínico de los resultados de su actividad en materia de farmacovigilancia**, siendo necesario un canal de comunicación más directo que mantenga informados a los especialistas de las evoluciones en materia de farmacovigilancia.



BASES LEGALES

- Cuerpo Normativo que regula las “Bases De La Farmacovigilancia Veterinaria”.
- Destacamos:
 - Ley 29/2006, 26 de Julio, de Garantías y Uso Racional de los Medicamentos y Productos Sanitarios
 - Real Decreto 1246/2008, 18 de Julio, Regula el Procedimiento de Autorización, Registro y Farmacovigilancia
 - Real Decreto 1132/2010, 10 de Septiembre, sobre el Medicamento Veterinario.

MEDICAMENTO VETERINARIO

- USO DE LOS MEDICAMENTOS VETERINARIOS:
 - Utilizar, ceder, aplicar, administrar y prescribir los medicamentos.
 - Documentos: La “Receta Veterinaria” y los “Historiales Veterinarios”.
- SEGUIMIENTO DE LOS EFECTOS DE LOS MEDICAMENTOS:
 - Sistema de Farmacovigilancia Veterinaria.
 - Documento de interés legal: La Tarjeta Verde.

EL VETERINARIO Y LA FARMACOVIGILANCIA

- Identificar posibles reacciones adversas y efectos indeseados.
- Registrar posibles reacciones adversas informadas por propietarios.
- Comunicación y cumplimentación de la “Tarjeta Verde”.
- Colaboración con los técnicos de la AEMPS.
- Conservar la información relativa a las reacciones adversas.

RESPONSABILIDAD PROFESIONAL VETERINARIA EN MATERIA DE FARMACOVIGILANCIA


- La participación es un imperativo legal, disciplinario y ético.
- La omisión de la responsabilidad puede derivarse en daños a terceros:
 - Salud Pública,
 - Sanidad Animal,
 - Medio Ambiente.
- Cumplimiento de las obligaciones en FV contribuye a la actualización de los conocimientos en materia de farmacología.

MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS EN FARMACOVIGILANCIA

- Colaborar con el SEFV-VET
- Identificar reacciones adversas medicamentosas.
- Comunicar las reacciones adversas a la AEMPS, mediante la cumplimentación y remisión de la TV.
- Conservar la documentación.
- Cooperar con los técnicos del SEFV-VET.
- Mantenerse informados sobre la eficacia y seguridad de los medicamentos veterinarios.
- Aportar información solicitada por los departamentos de farmacovigilancia
- Colaborar con AEMPS en calidad de experto en problemas de eficacia y seguridad medicamentosa.

PRINCIPALES PROBLEMAS

- Desconocimiento general en materia de RPS-VET.
- Escaso nivel de formación en materia de FV-VET.
- Existencia de una insuficiente información y comunicación.
- Deficiencias en los canales de comunicación con el veterinario.
- Desinterés en el ejercicio cotidiano por parte del veterinario.
- Dispersión derivada de las múltiples funciones del veterinario.
- No percibe la utilidad de su actividad en el SEFV-VET.



MUCHAS GRACIAS

RESUMEN DE LA MESA REDONDA: LA FARMACOVIGILANCIA COMO HERRAMIENTA DE MEJORA PARA LA SANIDAD ANIMAL

El pasado 11 de Abril se celebró en la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España (RACVE) una Mesa Redonda bajo el título “**La Farmacovigilancia como herramienta de mejora para la Sanidad Animal**”, en la que se abordó la importancia del sistema de farmacovigilancia. El objetivo de la sesión fue establecer un debate entre las distintas partes responsables para localizar los principales factores que conducen a una baja notificación de las reacciones adversas y lógicamente intentar un coloquio positivo para buscar soluciones.

El Presidente de la RACVE, Dr. **Arturo Anadón**, realizó la presentación inicial con una descripción detallada de los distintos tipos de reacciones adversas que el profesional veterinario puede detectar y debería notificar, citando ejemplos prácticos de reacciones adversas conocidas de algunos fármacos. Hizo alusión a la farmacovigilancia como una de las responsabilidades principales que conlleva el desarrollo del ejercicio como profesional sanitario. A continuación presentó a los participantes de la Mesa Redonda.

Ramiro Casimiro, Consejero Técnico del Departamento de Medicamentos Veterinarios de la AEMPS desarrolló su exposición bajo el título “¿En qué consiste la farmacovigilancia y qué enseñanzas podemos sacar de ella?”. Destacó la necesidad de establecer un correcto

equilibrio entre Beneficio y Riesgo en el uso de los medicamentos. Si bien el titular del medicamento debe presentar gran cantidad de ensayos previos a la autorización, es imposible llegar a tener datos de todas las posibilidades de uso, por lo que la farmacovigilancia es la herramienta que aporta toda esta información una vez que el medicamento se está comercializando. Destacó que la evolución de las notificaciones es positiva, pues aumenta año tras año, pero aún hay recorrido y debe mantenerse el esfuerzo de todas las partes responsables para seguir comunicando más y mejor las sospechas de efectos adversos que se puedan detectar.

A continuación, **Isabel Marzo**, Directora de ADIPREM (Asociación Española para la Salud y la Nutrición Animal) centró su exposición en “El papel de la industria en la Farmacovigilancia”, destacando las responsabilidades de los Titulares de Autorización de Comercialización. Es responsabilidad del laboratorio disponer de un Sistema de Farmacovigilancia actualizado, informar a las correspondientes Agencias de Medicamentos, apoyar y dotar de recursos al responsable de Farmacovigilancia del laboratorio y en general, asegurar la recepción y comunicación de cualquier información relevante para la seguridad del Medicamento. El laboratorio invierte recursos y es el primer interesado en recibir información detallada de reacciones adversas para mejorar sus medicamentos y ampliar la información para un uso correcto de los mismos.

La siguiente intervención fue a cargo de **Luis Miguel Jiménez**, Director Técnico de SERVET Talavera S.L, como veterinario clínico especializado en bovino de leche quien realizó una interesante exposición partiendo de las obligaciones de los veterinarios para colaborar en el Sistema Español de Farmacovigilancia. Apuntó las posibles causas de la falta de notificaciones por parte de los veterinarios, que en algunos casos podría ser debido al desconocimiento de sus obligaciones, la percepción de que no sirven para mejorar, la falta de tiempo y el desconocimiento de lo que realmente ha ocurrido en la granja para poder ofrecer una información detallada. Fueron muy interesantes las posibles soluciones, tales como mayor concienciación del veterinario, la realización de campañas informativas por parte de los colegios profesionales, buscar el apoyo del laboratorio y concienciar a los productores de que consulten al veterinario en caso de cualquier sospecha.

Finalmente, **Alfredo Fernández**, director de la Clínica Veterinaria Peñagrande, remarcó la importancia de algunos aspectos relaciona-

dos con la clínica de animales de compañía en la que se ha especializado. Destacó la obligación legal del veterinario de comunicar las sospechas de reacciones adversas, la publicación de Guías de Buenas Prácticas que deberían seguirse y la necesidad del clínico de estar informado para un buen desarrollo de la profesión. Entre las funciones del veterinario se encontrarían la identificación de las posibles reacciones adversas, su cuantificación y evaluación, la comunicación y la prevención y minimización de los riesgos derivados del uso de medicamentos. Insistió en la responsabilidad profesional sanitaria que en el caso del veterinario se concretaría en el control de los posibles efectos adversos e indeseados de los medicamentos veterinarios empleados en su práctica profesional.

En el tiempo de coloquio, hubo numerosas intervenciones por parte del público asistente. Se comentó que existe comunicación a nivel europeo de las bases de datos de farmacovigilancia, la importancia en cuanto a los períodos de supresión para evitar residuos superiores a los LMR en los animales de producción de alimentos, la importancia de la formación y de la concienciación del colectivo veterinario. La discusión fue muy positiva y se puso de relieve que el sistema de farmacovigilancia debe servir para mejorar el medicamento y las advertencias relacionadas con su uso.

El Presidente de la RACVE cerró la sesión con algunas conclusiones y destacó que es importante que desde el sector académico, las autoridades sanitarias, laboratorios y profesionales sanitarios, se de una máxima difusión para la concienciación de la importancia de la Farmacovigilancia Veterinaria como herramienta de mejora para la sanidad animal.

**MESA REDONDA SOBRE LOS RETOS DE LA
INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS VETERINARIAS**

18 abril de 2016

**COORDINADOR EXCMO. SR. DR. D.
ARTURO RAMÓN ANADÓN NAVARRO**
Académico de Número y Presidente de la RACVE

**INTERVENCIÓN DEL EXCMO. SR. D.
JUAN MARÍA VÁZQUEZ ROJAS**
*Diputado del Congreso por el Grupo Popular
Académico de Número de la Academia de Veterinaria de la
Región de Murcia
Catedrático de Medicina y Cirugía Animal de la Universidad de Murcia*

Texto no disponible

**INTERVENCIÓN DEL EXCMO. SR. D.
JOSÉ JULIÁN GARDE LÓPEZ-BREA**
Académico de Número de la RACVE
Vicerrector de Investigación y Política Científica de la Universidad de
Castilla – La Mancha

Texto no disponible

ARTEMISININA

EXCMO. SR. DR. D. ANTONIO RAMÓN MARTÍNEZ FERNÁNDEZ

Académico de Número de la RACVE

25 de abril de 2016

Texto no disponible

**ALIMENTOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE.
LA BIOTECNOLOGÍA EN LA IDUSTRIA ALIMENTARIA**

SRA. D.^a LIGIA MARÍA GUERRA BONE

Licenciada en Bioquímica y Master en Biotecnología por la Universidad Autónoma de Madrid. Grupo Merck, Biotecnología, Tres Cantos (Madrid)

9 de mayo de 2016

Texto no disponible

RIESGOS BIOLÓGICOS EMERGENTES PARA LA SANIDAD ANIMAL, SALUD PÚBLICA Y SEGURIDAD DE LOS ALIMENTOS

DISCURSO DE INGRESO

EXCMO. SR. DR. D. JUAN JOSÉ BADIOLA DÍEZ

Académico de Honor de la RACVE

23 de mayo de 2016

Sr. Presidente de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España, Señores Académicos, Autoridades y Presidentes de Colegios Veterinarios que habéis tenido la amabilidad de acompañarme en este acto, Señoras y Señores, amigos todos.

El reconocimiento que La Academia de Ciencias Veterinarias de España me ha otorgado supone para mí un gran orgullo y satisfacción, por ser esta en institución donde se cultivan los altos valores académicos y científicos de la veterinaria. Es por ello por lo que deseo expresarles mi más sincero agradecimiento por su generosidad para con mi persona y por lo que represento en la actualidad.

Los riesgos biológicos son responsables de las conocidas como enfermedades emergentes que se definen como enfermedades desconocidas hasta el momento, que aparecen de forma súbita y por vez primera en una población determinada o bien a enfermedades ya conocidas que aparecen en nuevos territorios o en nuevos hospedadores.

También se consideran emergentes las enfermedades que incrementan su gravedad o manifiestan nuevos tipos de transmisión, cuando se reconoce por primera vez el carácter infeccioso o si se describen dificultades añadidas en su lucha. Y se entiende como una enfermedad reemergente cuando una enfermedad ya conocida reaparece de nuevo o experimenta un incremento en su incidencia.

Estos términos comenzaron a utilizarse a principios de los años ochenta, tras la descripción de nuevas enfermedades transmisibles en humanos, siendo el ejemplo más relevante el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

Fue el Instituto de Medicina de los Estados Unidos, en 1992, el que definió por vez primera como enfermedades emergentes aquellas cuya incidencia se ha incrementado desde las pasadas dos décadas o amenaza incrementarse en un futuro. Desde entonces, el número de enfermedades emergentes en personas ha seguido aumentando, aunque a un ritmo comparativamente menor que lo ha hecho en los animales.

Se puede considerar que nos hallamos en el comienzo de una nueva era de enfermedades emergentes y reemergentes producidas por agentes biológicos cuyas consecuencias potenciales en la salud animal y en la salud pública, han de ser tenidas muy en cuenta.

De hecho según datos proporcionados por la OIE, el 60% de los patógenos humanos son de origen animal y el 75% de las enfermedades animales emergentes pueden transmitirse a los humanos y además asegura que cada ocho meses surge una nueva.

En los últimos 30 años han aparecido más de 40 nuevos agentes patógenos, algunos de ellos causantes de enfermedades emergentes y reemergentes en humanos, animales o transmitidas entre ambos.

Algunas de las enfermedades animales afectan a una especie, pero otras pueden afectar a varias, incluso a la especie humana. De hecho en el caso de los animales más de tres cuartas partes (el 77%) son capaces de afectar a varias especies y aproximadamente el 39% incluye a la especie humana entre sus hospedadores potenciales.

Cerca del 75% de los patógenos emergentes tienen un carácter multihospedador, de los que menos del 10% afectan sólo al hombre o a los animales, en torno al 20% lo hacen al hombre y a los animales salvajes y más del 40% son comunes tanto al hombre como a los animales

domésticos y silvestres. Sólo el 25% de los patógenos son exclusivos de los humanos (o probablemente sin reservorio animal conocido actualmente).

Entre los agentes biológicos que causan enfermedades se incluyen los virus, bacterias, parásitos, hongos o priones. En el caso de los animales el 25% se atribuyen a bacterias, el 35% a helmintos, el 18% a virus, el 13% a protozoos y el 9% a hongos. En lo que se refiere a los humanos el 32% son bacterias, el 26% helmintos, el 17% hongos, el 16% virus y el 9% protozoos.

Si se toman como referencia las tres últimas década, las enfermedades emergentes y reemergentes más conocidas han sido la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), la encefalopatía espongiforme bovina, el síndrome respiratorio agudo y grave (SARS), las infecciones por el virus Nipah y el virus Ébola, la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo o las recientes infecciones por el virus de Schmallenberg de los rumiantes y el Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (MERS) causado por un coronavirus cuyo hospedador animal es el dromedario. Y entre las enfermedades reemergentes pueden citarse las infecciones por los virus influenza, la tuberculosis, la lengua azul, la fiebre del Valle del Rift, la peste porcina africana, la peste equina africana, la enfermedad del Nilo Occidental o la enfermedad vesicular porcina.

Las amenazas de origen biológico componen un amplio espectro que comprende la aparición de enfermedades infecciosas nuevas, el resurgimiento de enfermedades endémicas, la aparición de nuevas formas de patógenos adaptados, entre los que se incluyen los resistentes a los antibióticos, así como el uso intencionado de agentes biológicos para causar daños en la poblaciones animales y humanas.

Por ello, la emergencia y reemergencia de patógenos ha hecho reconsiderar los fundamentos de la aplicación de las políticas a seguir y han supuesto un gran impacto para la salud y la economía globales y un serio desafío para la medicina humana y la veterinaria.

Aunque no hay razón para la alarma, la emergencia frecuente de nuevas enfermedades, es una realidad que requiere una particular atención. Por ello, en la actualidad se están revisando los criterios de abordaje de esta nueva realidad y se están realizando considerables esfuerzos y aportando recursos desde las organizaciones, instituciones y ad-

ministraciones públicas implicadas para estudiar el comportamiento de estas enfermedades, con el objetivo de conocer mejor los factores que afectan a la emergencia y de fortalecer los sistemas de vigilancia y control de las mismas.

FACTORES DETERMINANTES DE LA EMERGENCIA

Se han identificado varios factores que condicionan la aparición de las enfermedades transmisibles emergentes, pero se puede afirmar que los más relevantes son la **globalización**, con el consiguiente incremento de la movilidad humana y animal y el comercio internacional de productos, los **cambios climáticos y medioambientales**, la **interacción de la fauna silvestre con los animales domésticos y las personas**, la **adaptación de los patógenos a los nuevos hospedadores** y su **capacidad de atravesar las barreras de especie**, el **incremento demográfico humano** y la **intensificación de la producción animal**.

Estos factores están interrelacionados entre sí y todos ellos contribuyen de forma directa o indirecta, y en mayor o menor medida, a que se produzca una mayor interacción entre agentes patógenos, vectores, animales domésticos y silvestres y poblaciones humanas, que en conjunto serían los responsables del incremento numérico de enfermedades emergentes y reemergentes registrado en los últimos años.

LA GLOBALIZACIÓN

La globalización ha actuado como una fuerza que ha tenido un profundo impacto en el comercio y la economía. Esto se ha traducido en un incremento sin precedentes de la movilidad humana y animal y el comercio internacional y por tanto en la frecuencia, rapidez y distancia de los movimientos de personas, animales y productos, que han tenido una influencia decisiva en la rápida difusión de enfermedades a nivel mundial.

Ello ha dado lugar a una mayor frecuencia e intensidad de los patrones de contacto entre los hospedadores y los patógenos y por tanto una mayor facilidad para su transmisión. De hecho, se puede afirmar que las personas, animales y mercancías pueden dar la vuelta al mundo más rápidamente de lo que tardan en incubarse muchos agentes patógenos conocidos.

La movilidad de las personas ha aumentado por término medio más de mil veces desde 1800. Al empezar este siglo, casi setecientos

millones de personas efectuaban viajes internacionales y se supone que esta cifra habrá superado sobradamente los mil millones en la actualidad.

El incremento espectacular del turismo ha provocado desplazamientos temporales masivos a las más alejadas zonas del planeta y el fenómeno de la emigración, ha traído consigo el desplazamiento de personas procedentes de países con niveles sanitarios bajos y que incorporan a las sociedades de los países avanzados a los que emigran, patógenos prácticamente inexistentes en estos últimos.

Ello determina que cada vez con más frecuencia se diagnostiquen enfermedades, clásicamente conocidas como tropicales, algunas de las cuales son zoonóticas.

En el año 2003, se registraron al mismo tiempo en Estados Unidos casos de SARS, del virus del Nilo Occidental y de la Viruela de los simios. Ninguno de estos agentes patógenos zoonóticos se había encontrado nunca antes en territorio estadounidense.

La propagación de los virus influenza es también un fenómeno generalizado que afecta tanto a las poblaciones humanas, como de aves y de otros animales, a veces sólo a una de éstas y otras veces como resultado del contacto de unas con otras.

No cabe duda que los movimientos de personas y animales es un factor que desempeña un papel esencial en la expansión de las enfermedades de un territorio a otros. De ello se cuenta con señalados ejemplos en el pasado cuando se producían invasiones o colonización de áreas geográficas del mundo por ejércitos y población civil procedentes de los países que las llevaban a cabo.

Es conocido que los ejércitos invasores de Genghis Khan, Atila y Napoleón Bonaparte llevaron la perineumonía bovina y la peste bovina a los territorios que conquistaron y que los colonizadores europeos llevaron a América nuevas enfermedades humanas y animales, entre las que se cuentan la viruela, el tifus, la difteria, la peste bubónica, la fiebre amarilla, el sarampión, la gripe y otras, así como enfermedades transmisibles animales.

La propagación de la peste bovina por toda Europa después de la primera guerra mundial hizo necesaria la creación de una organización (la OIE, creada en 1924) que se responsabilizase de facilitar a los dis-

tintos países una correcta y fiable información sobre las distintas enfermedades, de manera que los países vecinos pudieran mantenerse libres de ellas, siempre y cuando se garantizara la seguridad de las fronteras. Por ello se pensaba que el mejor sistema de controlar la expansión de las llamadas “enfermedades transfronterizas” eran los controles fronterizos.

Pero en la actualidad la expansión del comercio internacional ha alcanzado un nivel tal que el concepto de fronteras infranqueables ya no es tan fiable como lo era anteriormente. El número de animales y productos de origen animal que cruzan las fronteras, ha alcanzado máximos históricos y la instauración del libre comercio por casi todo el planeta hace cada vez más difícil impedir la entrada de las enfermedades transfronterizas.

Las enfermedades transmitidas por los alimentos siguen siendo un factor importante para la epidemiología de las enfermedades emergentes. En la actualidad, se conocen más de doscientas enfermedades de este tipo. El comercio alimentario complejo y global, brinda una oportunidad más para que los patógenos circulen entre nuevos hospedadores y poblaciones.

La expansión del comercio mundial de alimentos en las últimas décadas ha desembocado en un aumento significativo del alcance y la gama de estas enfermedades. Se estima que las exportaciones cárnicas (de vacuno, porcino y ave) en el mundo entero se elevan a un total de 17,7 millones de toneladas, con un crecimiento de aproximadamente el 5% desde 2003.

Los casos de rabia importada a Europa por perros o gatos de turistas procedentes de zonas endémicas, La Enfermedad de Congo---Crimea, asociada a los avestruces, la Fiebre amarilla causada por Flavivirus asociada a primates; distintas Fiebres hemorrágicas por Arenavirus asociadas a roedores, y algunas infecciones contraídas por viajeros fuera de su país (se estima que el 90% de las Salmonelosis en Suecia son importadas) constituyen buenos ejemplos de enfermedades emergentes relacionadas con la movilidad.

La existencia de fallos en las medidas de control y vigilancia sanitaria o la falta de recursos para llevarlas a cabo, como ha sucedido en los primeros casos de infecciones por el Virus del Nilo Occidental o de la gripe aviar, favorece la emergencia de enfermedades. Ejemplos de estas actuaciones defectuosas son el establecimiento de cuarentenas

inadecuadas en la importación de animales por falta de instalaciones o inadecuación de las mismas, la falta de personal debidamente formado, de técnicas o criterios de diagnóstico frente a los patógenos no bien conocidos, o la aplicación de políticas y normativas adaptadas a situaciones distintas desde el punto de vista social, sanitario o científico, etc..., explican algunos casos de fracasos rotundos en el control de algunas enfermedades.

ALTERACIONES DEL MEDIO AMBIENTE

Otro factor determinante de la emergencia de nuevas enfermedades animales y humanas está relacionado con las alteraciones del medio ambiente.

Es de destacar en este ámbito las acciones humanas llevadas a cabo por muy diversos medios, como la deforestación de amplios territorios en ciertas zonas del mundo o la construcción de grandes presas hidráulicas y otras actuaciones similares que tienen un impacto muy desfavorable al proporcionar nuevos o más duraderos nichos a los vectores transmisores de patógenos responsables de enfermedades humanas o animales.

La destrucción de los hábitats naturales ha obligado a poblaciones animales a hacinarse en zonas donde sus posibilidades evolutivas son limitadas o donde se hallan patógenos nuevos para esos animales, lo que ha facilitado la emergencia de nuevas enfermedades.

La aparición de caballos infectados con el virus Hendra y de cerdos afectados por los virus Menangle y Nipah se atribuirían a los cambios de hábitat que han hecho que los murciélagos frugívoros vivan más cerca de los humanos y animales domésticos.

La modificación del medio ambiente causada por los vertidos antrópicos sería la causa de la emergencia de *Pfiesteria piscicida*, un dinoflagelado causante de una elevada mortalidad en peces y que afecta también a los humanos.

Cambios medioambientales provocados por los nuevos usos de la tierra y el desarrollo agrícola han sido frecuentemente responsables de brotes de enfermedades previamente no conocidas, con frecuencia de origen zoonótico, ya que pueden actuar aumentando el contacto de las personas con los reservorios de la enfermedad o la proliferación de los microbios en su hospedador natural.

Así la emergencia de la enfermedad de Lyme en EEUU y Europa se vio favorecida por la reforestación que hizo aumentar la población de ciervos que se infectaron a partir de las garrapatas portadoras del patógeno, el vector de la enfermedad. El traslado de la población hasta estas áreas aumentó el contacto con el vector.

De forma similar la extensión de los cultivos de arroz en Asia ha incrementado el contacto de la personas con el ratón de campo, el reservorio de los hantavirus, y ha aumentado la frecuencia de la fiebre hemorrágica producida por este virus.

Las infecciones transmitidas por mosquitos y otros artrópodos se favorecen por la extensión de la superficie de aguas estancadas, donde se multiplican estos vectores. De hecho los brotes de fiebre de la enfermedad del Valle del Rift en Egipto se asociaron a la construcción de presas, y coincidió además con periodos de lluvias intensas,

Asimismo, la implantación de asentamientos en torno a las grandes ciudades en países de limitado desarrollo socioeconómico, permite la creación de zonas de alta densidad de población en las que las condiciones de higiene, abastecimiento de agua potable, alcantarillado, etc., son muy deficientes. En estas condiciones se favorece la aparición de enfermedades como la Leishmaniosis, asociada a roedores y a vectores invertebrados que determinan un incremento muy notable de su prevalencia estimada a escala mundial en 12 millones de casos y con una incidencia anual en torno a 2 a 2,5 millones de nuevos casos, 1,5---2 de Leishmaniosis cutáneas y 500.000 de Leishmaniosis visceral.

También la continua expansión de núcleos urbanos hacia la periferia, o la creación de nuevos asentamientos humanos, en países de todo tipo crea desequilibrios poblacionales entre las especies animales que los ocupaban y una mayor proporción de animales “sinantrópicos” (peridomésticos) como palomas, gorriones, cigüeñas, ratas o ratones, y particularmente las primeras, trae consigo el establecimiento de colonias de estos animales y como consecuencia la emergencia de casos de zoonosis asociadas a ellos como la histoplasmosis, criptococosis o incluso la tuberculosis.

Y en relación con ello, constituye un motivo de creciente preocupación la formación en las ciudades españolas de colonias de aves exóticas (cotorras, loros, periquitos...) escapadas o liberadas de su cautividad, que podrían dar lugar a la transmisión de enfermedades aviarias a otras aves o a las personas como la ornitosis, tuberculosis, salmonelosis y otras enfermedades.

La práctica de actividades cinegéticas implica un riesgo sanitario. Así, está descrito el contagio con tularemia en el curso del desarrollo de liebres o conejos de caza, como también el de triquinosis, toxoplasmosis, sarcosporidiosis, por consumo de carne de piezas de caza contaminada, o la Enfermedad de Lyme, por contacto con reservorios medioambientales.

Últimamente constituye un motivo de preocupación la elevada prevalencia de la tuberculosis en jabalíes y ciervos de algunas zonas del sur de nuestro país, como lo es también en el Reino Unido la presencia en tejones.

En zonas tropicales de África, América o Asia, se conoce la emergencia de algunas enfermedades animales, particularmente de simios o murciélagos, que se transmiten a personas, como es el caso del Ébola y otras.

CAMBIOS CLIMÁTICOS

De forma habitual se producen periódicamente cambios de las condiciones climáticas en la mayoría de los territorios del mundo y ello tiene consecuencias más o menos destacadas.

Pero resulta preocupante que la mayoría de los estudios realizados sobre la evolución del clima coinciden en predecir un cambio climático de larga duración con un aumento de la temperatura. Este incremento parece deberse, en gran medida, al efecto invernadero provocado por la emisión de gases producidos por la actividad humana.

El impacto del calentamiento global está provocando cambios en el comportamiento de muchas especies animales, como por ejemplo de los patrones migratorios de aves y otras especies, perturbación de los ecosistemas naturales y un favorecimiento de las condiciones ideales para la propagación de enfermedades, especialmente aquellas vinculadas a vectores, como mosquitos y garrapatas, agua y alimentos.

El cambio climático ha producido un aumento en el número de vectores, por ser las nuevas condiciones climáticas más favorables para su reproducción, provocar un incremento de su capacidad vectorial, ser más susceptibles y replicar en mayor cantidad el agente patógeno y ocupar un rango de distribución geográfica mayor, al ser capaces de ocupar nuevos territorios y latitudes.

En el caso de las enfermedades transmitidas por vectores artrópodos se explica en parte por el hecho de que éstos son poiquiloterms

y, por ello, están influidos por los cambios de las temperaturas para su desarrollo, reproducción, comportamiento y dinámica poblacional. El aumento de la temperatura y humedad facilitan su desarrollo de los insectos vectores, en tanto que un descenso en las mismas lo limita.

Así, los mosquitos tropicales tales como las especies de *Anopheles*, que transmiten varias enfermedades como la malaria, requieren temperaturas por encima de 16 °C para completar sus ciclos vitales. Cambios mínimos en una zona determinada, tienen efectos inmediatos en la dinámica de las poblaciones de artrópodos capaces de actuar como vectores de transmisión de patógenos.

Para que el patógeno progrese en un nuevo territorio y se considere emergente, tanto el vector como el patógeno han de ser capaces de multiplicarse en el nuevo ambiente. Pero no es fácil predecir los brotes de enfermedades emergentes exclusivamente con base a factores climáticos, ya que inciden otros condicionantes de gran complejidad y variabilidad.

Insectos vectores de enfermedades se han extendido hacia otras zonas geográficas, provocando un incremento de las enfermedades que difunden. Ese ha sido el caso del Paludismo, la Fiebre amarilla o el Dengue en humanos en ciertas zonas de América en las que anteriormente no se encontraban presentes o la reciente aparición de la Fiebre del Valle del Rift en África oriental determinada en parte por el fenómeno de El Niño---Oscilación Sur que provocó abundantes precipitaciones y una multiplicación de las poblaciones de mosquitos vectores.

La instalación permanente de algunos vectores eficientes transmisores de algunos patógenos víricos (Dengue, Fiebre amarilla, Chingunya, Nilo occidental) como el *Aedes albopictus* (mosquito tigre) en algunas zonas de España, supone una seria amenaza para la salud pública y un serio motivo de preocupación para las autoridades sanitarias.

La Lengua azul ha sido otro buen ejemplo de una enfermedad animal que se ha extendido desde el continente africano hacia el sur de Europa, y en particular en nuestro país, permitiendo la instalación de las especies de vectores *Culicoides* capaces de transmitir el virus causante de la enfermedad en los rumiantes.

Otro buen ejemplo es la Enfermedad del Nilo Occidental, que se describió por vez primera en Nueva York en 1999 y en el curso de diez años se extendió por todo el país. Esta fue descrita por vez primera en el sur de España en 2010 y afectó a caballos y a algunas personas en las que produce una meningoencefalitis.

En el ámbito marino también puede citarse el caso de la biotoxina Ciguatera, tradicionalmente presente en aguas de los Océano Pacífico e Índico, además de en el Mar Caribe, y que ha sido detectada en los últimos tiempos en las Islas Canarias y en Madeira, asociada a la instalación de la diatomea *Gamberdiscus excentricus*, que es incorporada por los peces y que se transmite a humanos, por el consumo de pescado en el que se ha bioacumulado y en los que provoca serias alteraciones de salud de tipo neurológico, gastrointestinal y circulatorio que obliga su hospitalización.

LA FAUNA SALVAJE Y SU INTERACCIÓN CON LOS ANIMALES DOMÉSTICOS Y PERSONAS

Los animales de vida silvestre pueden desempeñar un papel relevante en la transmisión de determinadas enfermedades a los animales domésticos y los humanos. Al expandirse las poblaciones humanas, los lugares de esparcimiento y los cambios en los ecosistemas y el hábitat de la fauna, se multiplican también los puntos de contacto entre las poblaciones humanas y animales.

La aparición de nuevas enfermedades ha ocurrido a escala mundial en una amplia gama de especies salvajes y hábitats y se ha constatado que el abanico de enfermedades infecciosas que afectan a la fauna es actualmente mucho más amplio en la actualidad de lo que era en el siglo pasado, provocando pérdidas en la fauna, por oposición a los brotes esporádicos o limitados que se observaban anteriormente.

Progresivamente se pone de manifiesto una relación mayor entre la fauna salvaje y las zoonosis emergentes, lo que tiene implicaciones serias, ya que las poblaciones de esos animales pueden ser reservorios de patógenos que constituyen una amenaza para los animales y los humanos. Por otra parte las enfermedades de la fauna silvestre amenazan la conservación de la diversidad mundial.

Los desplazamientos de animales salvajes, que tienen lugar cuando los humanos llevan a los animales de unos lugares a otros, son un medio clásico de conservación, pero también han facilitado la aparición de enfermedades emergentes en los nuevos lugares. Así en Estados Unidos cuando se desplazaron mapaches de los estados del sudeste a la zona de Atlántico Medio y Nueva Inglaterra, se produjeron brotes enzoóticos de rabia, enfermedad que apareció en nuevos lugares por desplazamientos de zorros y coyotes.

La propagación del moquillo entre los perros silvestres y los leones del Serengeti, la toxoplasmosis en las focas de la costa californiana y la tuberculosis bovina en el Parque Kruger de Suráfrica, son claros ejemplos de enfermedades emergentes cuyo agente patógeno se ha transmitido de los animales domésticos a los salvajes produciendo resultados devastadores.

En Europa, y en particular en nuestro país, también contamos con un ejemplo de emergencia y reemergencia de gran actualidad, cual el incremento de prevalencia de la tuberculosis en los tejones en el Reino Unido y en jabalíes y ciervos de la mitad sur de España, ligados estos últimos a cambios llevados a cabo en el manejo de estas poblaciones, que son confinadas en fincas junto a animales domésticos, compartiendo con frecuencia los puntos de alimentación y bebida. Esto ha determinado un incremento de prevalencia muy preocupante, que en algunos lugares llega a ser del 50 al 60 % interfiriendo las campañas de saneamiento que se realizan en los animales domésticos.

Otro ejemplo recientemente vivido en las cercanías de Madrid ha sido la elevación de la prevalencia de la leishmaniosis en liebres en los municipios de Fuenlabrada que ha provocado más de 200 casos en humanos entre 2010 y 2011.

La mayoría de las enfermedades emergentes humanas son resultado de una exposición a los patógenos zoonóticos por la transmisión natural entre los animales y los humanos. La transmisión puede provenir directamente de un reservorio primario o pasando por hospedadores intermedios secundarios o terciarios. Por ejemplo, los virus hendra, menangle y nipah utilizan murciélagos frugívoros como portadores u hospedadores para este importante grupo de enfermedades.

La aparición del SARS parece haberse debido a una fuente animal en China, habiéndose desencadenado por los contactos entre personas y animales que ocurren en las ferias de animales exóticos.

FENÓMENOS DE ADAPTACIÓN DE LOS PATÓGENOS Y LA CAPACIDAD DE ATRAVESAMIENTO DE LA BARRERA DE ESPECIE

Se conoce bien la capacidad de adaptación y variabilidad de los patógenos. Ésta depende principalmente del tipo de patógeno, siendo mucho más manifiesta en los virus, y en particular los virus ARN. Ello es debido a la singularidad de su sistema de reproducción y a su capaci-

dad de mutación y de recombinación genética. Estas características conducen a la aparición de cepas víricas altamente patógenas.

Un ejemplo muy genuino lo constituyen los virus influenza, y muy en particular los aviaries, responsables de brotes muy frecuentes, que a menudo evolucionan en forma de verdaderas epizootias y en ocasiones epidemias y pandemias humanas, como ha sido recientemente el caso de los virus influenza aviaries H5N1 y H1N1 y las anteriores, que provocaron la muerte de millones de personas, particularmente la llamada Gripe Española, de principios del siglo XX, aunque también las gripes asiática y Hong Kong.

Esas pandemias fueron causadas por virus influenza de origen animal y se produjeron como consecuencia del intercambio de segmentos de material genético entre cepas aviaries y humanas y en su caso porcinas, dando lugar a la aparición de un nuevo virus capaz de infectar a los seres humanos.

Las causas que provocaron estas epidemias se debieron a la estrecha convivencia entre personas y animales, particularmente cerdos y aves, domésticas y silvestres, especialmente acuáticas, que suelen ser portadoras de los virus y que los trasladan a largas distancias gracias a sus vuelos migratorios.

Este posible escenario sería hoy en día favorecido por la peculiar integración de los sistemas de producción aviar y porcina practicado en algunos países asiáticos.

En el caso de las bacterias en respuesta a la presión ejercida por los antimicrobianos, tanto por su utilización como tratamiento en humanos como en la animales, como cuando se han utilizado como promotores de crecimiento, lo que en la actualidad no está permitido.

Ello ha dado lugar a la generación de resistencias en los hospedadores iniciales, que pueden transferirse a otros hospedadores, incluidos los humanos, lo que en la actualidad supone una gran preocupación para las autoridades sanitarias europeas, que han puesto en marcha un plan específico para luchar contra esta problemática.

ATRAVESAMIENTO DE LA BARRERA DE ESPECIE

Otro factor que influye en la emergencia de enfermedades animales es la mayor incidencia de patógenos que han sido capaces de

atravesar la barrera entre especies. Cuantos mayores sean los contactos entre especies, mayores son las oportunidades de que agentes de una especie pueden adaptarse a otras, reproduciendo en la nueva la enfermedad de la inicial o una forma de presentación modificada.

La aparición de virus influenza en aves domésticas como consecuencia de su transmisión desde aves silvestres y su ulterior transmisión a humanos, son un buen ejemplo de emergencia de una enfermedad. También lo es la transmisión de los virus Nipah de los murciélagos frugívoros a cerdos y personas. La presencia del moquillo en leones del Parque Serengueti, en Tanzania, es otro ejemplo de interés.

La transmisión de *Mycobacterium bovis* de los bovinos o los caprinos a los ciervos y jabalíes, que con posterioridad podrán infectar de nuevo a las anteriores es un problema sobradamente conocido en EEUU y en nuestro país.

La más que probable adaptación del agente del Scrapie ovino a los bovinos provocando la Encefalopatía espongiiforme bovina es un ejemplo destacado de atravesamiento de la barrera de especie mediante la cual el patógeno ha adquirido capacidades nuevas como la de transmitirse a otras nuevas especies como los humanos, otros rumiantes y felinos domésticos y silvestres.

También resulta pertinente referir la infección por *Escherichia coli* 0157:H7 en humanos por la transmisión del agente desde los bovinos.

CAMBIOS DEMOGRÁFICOS

El incremento de las poblaciones humanas y animales, en muchas ocasiones sin un debido aumento de la bioseguridad que permita minimizar los riesgos de infección, conlleva un aumento en los contactos de riesgo y, consecuentemente, en la transmisión de agentes patógenos.

A este respecto es pertinente también hacer una referencia a los cambios demográficos que conducen a un aumento del número de individuos más susceptibles. Así la prolongación de la vida determina que muchos individuos alcancen edades avanzadas. Estos individuos, cuyo sistema inmunitario está más debilitado, son más susceptibles a sufrir infecciones, particularmente alimentarias. Las personas malnutridas también presentan una menor capacidad de respuesta inmune.

Otras enfermedades como el SIDA o el cáncer o la utilización de tratamientos médicos agresivos (trasplantes, quimioterapias o radioterapias frente a procesos oncológicos,...) producen también inmunodepresión. Estas personas son más propensas a adquirir infecciones oportunistas como la Criptosporidiosis, Leishmaniosis, Tuberculosis, Salmonelosis, Campilobacteriosis, Listeriosis, Toxoplasmosis, Ornitosis, etc.

LA INTENSIFICACIÓN DE LA PRODUCCIÓN ANIMAL

Otro factor que provoca la emergencia de enfermedades animales es la transformación que ha experimentado la ganadería. El caso de la encefalopatía espongiiforme bovina es un ejemplo de cómo cambios realizados en el tratamiento de materias primas, como las harinas de carne y hueso, fueron capaces de inducir una nueva enfermedad en el ganado bovino de extraordinaria importancia en la salud pública, la seguridad de los alimentos y en la economía.

La emergencia de cepas de bacterias resistentes a los antibióticos se está atribuyendo, a la administración de antibióticos para estimular el crecimiento de los animales. La acuicultura y la repoblación fluvial para la pesca recreativa tampoco están exentas de emergencias patógenas. *Streptococcus iniae*, un organismo bacteriano descrito recientemente, ha estado asociado con la epizootia de meningitis en ejemplares de piscifactorías en la pasada década.

La enfermedad del tambaleo, causada por *Myxobolus cerebralis*, se ha convertido en una de las principales amenazas para la trucha arco iris salvaje en muchos ríos del oeste de EEUU, ya que ha habido transmisión de un área a otra al desplazar a peces infectados de los viveros.

PREPARACIÓN FRENTE A LA EMERGENCIA

Es necesario contar con una adecuada preparación para afrontar con éxito las enfermedades emergentes y reemergentes, puesto que constituyen un serio peligro para la salud humana y animal y para la economía. Por ello, es esencial afrontarlas con suficiente anticipación.

Para ello es esencial la rapidez de su detección para poder establecer una actuación adecuada frente a estas enfermedades. De hecho, el periodo de tiempo que transcurre entre la aparición de una nueva enfermedad y el momento de su detección es determinante. Cuanto más precozmente se detecte, mayores posibilidades de éxito se tendrán en su control y en su caso erradicación.

Frecuentemente ocurre que la enfermedad se propaga durante largo tiempo antes de que sea detectada y notificada. Ello suele ser debido al incremento notable de la movilidad y la velocidad y volumen del transporte internacional de personas animales y productos. En efecto, los agentes patógenos también transitan y se propagan por todo el mundo.

La detección de las enfermedades emergentes es lenta en muchos países en desarrollo e incluso en algunos países desarrollados, porque las infraestructuras veterinarias, los laboratorios de diagnóstico y la capacidad de vigilancia global, en particular de las nuevas infecciones, son insuficientes.

Es necesario conocer bien los patógenos responsables de las enfermedades emergentes, su biología, mecanismos de transmisión y la patogenicidad, patología y sintomatología de las enfermedades que pueden provocar.

Pero además es preciso disponer de métodos diagnósticos apropiados, asegurar la existencia de suficientes laboratorios, de nivel de seguridad biológica apropiada, bien equipados, dotados con técnicas diagnósticas precisas para la realización de pruebas para confirmar o descartar las sospechas y que cuenten con personal técnico y profesional, médico o veterinario, bien entrenado.

Por otra parte, se requiere la disponibilidad de recursos profilácticos y terapéuticos para afrontar de forma eficaz éstas enfermedades. Desafortunadamente no siempre se dispone de ellos e incluso no existen vacunas para prevenir alguna de estas enfermedades.

También es esencial disponer de estrategias de control de estas enfermedades tras su detección, las cuales no siempre están disponibles o no han sido probadas previamente mediante ensayos pilotos, que permitan valorar su eficacia.

Es recomendable la creación de grupos de emergencia de reacción rápida para controlar las infecciones, proceder a la recogida de muestras adecuadas con suficientes garantías de bioseguridad y disponer de unidades físicas apropiadas destinadas prácticamente en exclusiva para afrontar esas situaciones de emergencia.

La preparación de un país para enfrentar una enfermedad emergente y su capacidad de respuesta dependen, por tanto en gran medida,

de la existencia de esos servicios. Por ello, es fácil comprender que los métodos de lucha contra las infecciones emergentes de algunos países en desarrollo sean menos eficaces.

Estos retos complejos han de ser afrontados desde una perspectiva interdisciplinar, contando con la intervención de varias perspectivas profesionales, que ahora más que nunca tienen que sumar esfuerzos y coordinar actuaciones.

La actuación de unidades internacionales de emergencia y asesoramiento en los lugares de origen de los brotes de determinadas enfermedades emergentes con fácil posibilidad de propagación aconsejan la actuación directa en los lugares donde se han generado, particularmente en los casos de que se trate de países con escasos recursos económicos, a los que es necesario ayudar.

La complejidad del escenario internacional y los factores que inciden en la emergencia de nuevas enfermedades obligan a incrementar el control fronterizo y reforzar su capacidad de control de la entrada de determinados patógenos.

Muchas de las medidas expuestas no son posibles si no se generaliza en los países del mundo un sistema internacional basado en la transparencia y la comunicación rápida de sospechas de la emergencia de nuevas enfermedades y de la realidad epidemiológica existente en cada país.

Como ya se ha indicado la mayoría de las enfermedades emergentes aparecidas en los últimos tiempos es de origen animal y casi todas ellas son potencialmente zoonóticas. Por ello, es necesario que las autoridades de sanidad animal y de salud pública de los países las afronten de manera coordinada.

No cabe duda que las enfermedades emergentes y reemergentes zoonóticas se convertirán, progresivamente, en el motivo importante de las solicitudes de actuación que deberán atender los Servicios Veterinarios y, por lo tanto, tendrán consecuencias en las alianzas profesionales, recursos y programas futuros. A ese respecto, en una encuesta reciente, los países miembros de la OIE se han manifestado claramente en favor del fortalecimiento del papel que desempeña la organización ante las dificultades que plantean esas zoonosis.

Por ello, será necesario que las tres organizaciones internacionales más implicadas en estas cuestiones, la OIE, la Organización de las

Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), lleven a cabo acciones conjuntas de cooperación y puedan seguir desempeñando su papel de vínculos de alcance internacional.

ANISAKIS Y ALERGIA

PROF^a. DRA. D.^a MARÍA DEL CARMEN CUÉLLAR DEL HOYO

Catedrática de Parasitología

Departamento de Parasitología de la Facultad de Farmacia

Universidad Complutense de Madrid

30 de mayo de 2016

1. INTRODUCCIÓN

Los anisákidos son nematodos incluidos en la Clase Chromadorea, Orden Rhabditida, Suborden Rhabditina, Infraorden Ascaridomorpha, Superfamilia Ascaridoidea, Familia Anisakidae (De Ley, 2006; Blaxter, 2009). Dentro del género *Anisakis* se admiten al menos nueve especies, estando las más estudiadas incluidas dentro del complejo *Anisakis simplex* (Tabla 1) (Mattiucci y Nascetti, 2008; Mattiucci *et al.*, 2009).

1.1. Ciclo biológico

Los anisákidos adultos viven en el estómago de los mamíferos marinos eliminando huevos que se embrionan en el medio externo. Las larvas de primer estadio mudan a larvas de segundo estadio que, tras la eclosión, serán ingeridas por los hospedadores intermediarios, que son pequeños crustáceos planctónicos, donde mudan a larvas de tercer estadio, las cuales ya son infectantes para los hospedadores definitivos. Los peces y cefalópodos que intervienen en estas cadenas alimentarias ac-

túan como hospedadores paraténicos, acumulando larvas infectantes y facilitando la llegada de éstas a los hospedadores definitivos (Figura 1).

Género <i>Anisakis</i>	Complejo <i>Anisakis simplex</i>	<i>A. simplex sensu stricto</i> <i>A. simplex C</i> <i>Anisakis pegreffii</i>
	Complejo <i>Anisakis physeteris</i>	<i>A. physeteris</i> <i>A. paggiae</i> <i>A. brevispiculata</i>
	<i>Anisakis typica</i> <i>Anisakis ziphidarum</i> <i>Anisakis schupakovi</i> <i>Anisakis nascetti</i>	
Género <i>Pseudoterranova</i>		
Género <i>Contracaecum</i>		
Género <i>Hysterothylacium</i>		

Tabla 1. Subfamilia Anisakinae (Mattiucci y Nascetti, 2008; Mattiucci *et al.*, 2009).

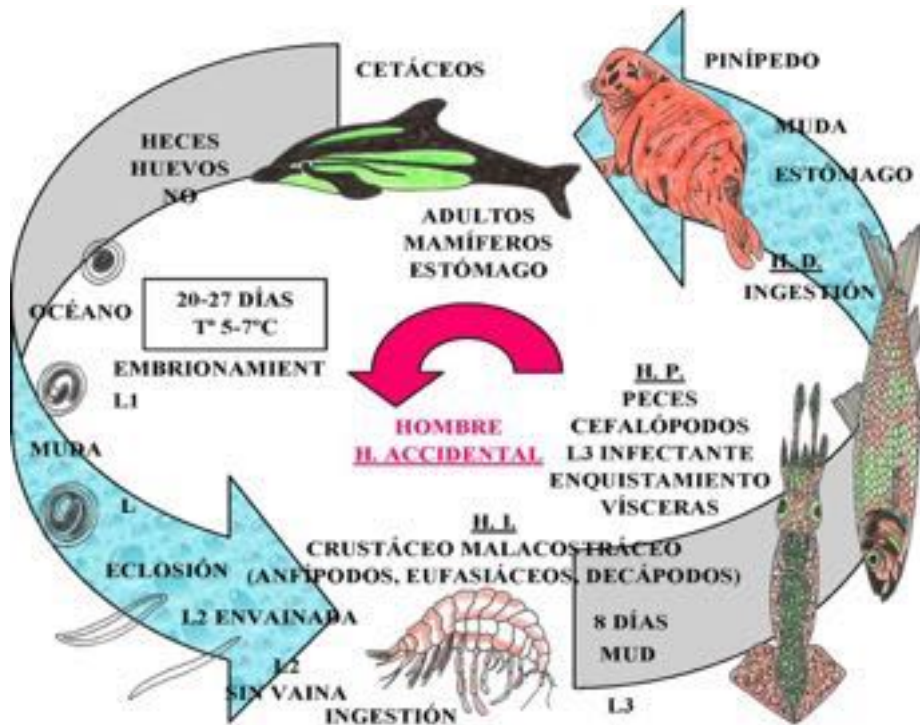


Figura 1.- Esquema del ciclo biológico de los anisákidos.

1.2. Distribución geográfica

Los anisákidos tienen distribución cosmopolita derivada de los hábitats de sus hospedadores, dándose la paradoja de que un ecosistema marino sano es aquel que presenta un alto nivel de infecciones por estos nematodos. En el caso del género *Anisakis* los hospedadores definitivos son los cetáceos como rorcuales, orcas, delfines, belugas o marsopas, mientras que peces y cefalópodos actúan como hospedadores paraténicos (Mattiucci y Nascetti, 2008).

1.3. Localización larvaria

Las larvas de tercer estadio se encuentran en la cavidad abdominal de los pescados, enrolladas en espiral y rodeadas de una cápsula y, al morir estos, comienzan una migración abdomino-muscular acumulándose en la musculatura.

Área	Especie	Número de muestras	Prevalencia; intensidad (media±SD, rango)
Mar de Barents	Bacalao	212 (océano) 207 (costa)	96%; 4,3 y 6,1 (océano y costa, respectivamente)
Norte de Noruega	Abadejo		100%; 2,6
Costa portuguesa	Jurel	58	76%; 6,2±10,2 (1-46)
	Caballa	45	96%; 12,7±14,8 (1-80)
	Merluza	3	100%; 51,3±5,7 (45-59)
	Bacaladilla	65	94%; 14,3±18,9 (1-89)
Madeira	Tonino	154	70%; 2,2±0,12 (1-6)
Costa mediterránea (España)	Bacaladilla (17-24 cm)	224	12%; 1,19
	Bacaladilla (>25 cm)	77	17%; 1,5
	Merluza		41%; 1,7
Costa mediterránea (Italia)	Chicharro	822	80-100%, 19,3-36,8
Galicia	Merluza, bacaladilla, maruca, rape, caballa, sargo y caballa		>70%; >14
Francia	Bacalao	304	1,97%; 1,5±0,8 (1-3)
	Merlán	169	3,55%; 1,14±0,5 (1-2)

Tabla 2.- Prevalencia de larvas de *A. simplex* en pescados de diferentes áreas (EFSA, 2010)

1.4. Morfología larvaria

La especie *A. simplex*, principal implicada en los procesos patológicos humanos, es de color blanquecino y mide entre 1 y 3 cm. Se caracteriza por presentar una boca típica de ascárido con un diente asimétrico. El esófago carece de apéndices ventriculares y el intestino de ciegos. El extremo posterior presenta mucro.

1.5. Riesgo por la presencia de las larvas en los productos de la pesca

Según el informe elaborado por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2010), todos los pescados destinados al consumo humano están potencialmente parasitados, alcanzando tasas cercanas al 100% en muchos casos (Tabla 2). El informe recoge, asimismo, los efectos que los diferentes tratamientos culinarios producen sobre la viabilidad de las larvas, observando que la congelación y el calentamiento son los únicos eficaces en conseguir su eliminación (Tabla 3) (EFSA, 2010).

Pescado	Tratamiento	Parámetros
Arenque	salado	5% NaCl, >17 semanas
		6-7% NaCl, 10-12 semanas
		8-9% NaCl, 6 semanas
	Salado en seco	20 días
Anchoa	Marinado	10% ácido acético + 12% sal mínimo 5 días
		2,4% ácido acético + 6% NaCl 35 días
		10% ácido acético + 12% NaCl 5 días
Sardina	Marinado	6% ácido acético + 10% NaCl 24h + 4°C 13 días
Arenque	Marinado	28 días en escabeche (6,3% NaCl+ 3,7% ácido acético)
Salmón rojo y rocote canario	Congelación	-35°C 15h + -18°C 24h
Fletán	Congelación	-15°C 96h; -20°C 60h; -30°C 20h; -40°C 9h
Larvas <i>in vitro</i>	Congelación	-15°C pocos minutos
	Calentamiento	60°C >15 min
	Calentamiento	>60° (temperatura interior) 1 min

Pescado	Tratamiento	Parámetros
	Calentamiento	74°C 15 sec
	Calentamiento	60°C 10 min (filetes 3 cm)
	Extractos de plantas	[6]-shogaol 62,4 µg/ml; [6]-gingerol 250 µg/ml
Salmón real y fletán	Altas presiones	414 MPa 30-60 sec
		276 MPa 90-180 sec
		207 MPa 180 sec
Arenque	Irradiación	6-10 kGy
Congrio	Irradiación	>1 kGy

Tabla 3.- Efecto de diferentes tratamientos sobre las larvas en los pescados (EFSA, 2010)

Respecto al posible riesgo de parasitación de pescados de acuicultura, el informe de la EFSA no es concluyente ya que solo existen datos en el caso del salmón. A pesar de ello, la agencia alerta de un posible riesgo cuando los ejemplares son alimentados con comida fresca no procesada o cuando se capturan larvas o ejemplares jóvenes para engordarlos posteriormente en cautividad (EFSA, 2010). En España concretamente no existe ningún riesgo ya que, en un estudio encargado por la Asociación Empresarial de Productores de Cultivos Marinos, se evaluaron 1000 ejemplares de dorada, lubina, rodaballo y corvina procedentes de 45 granjas y no se observó presencia de larvas de tercer estadio de *Anisakis* en ninguno de los ejemplares (APROMAR, 2012).

1.6. Co-evolución parásito-hospedador

La filogenia de los parásitos se mira al espejo de la de sus hospedadores. La especiación del género *Anisakis* se habría producido por aislamiento geográfico de sus hospedadores y adaptación de poblaciones de parásitos ligeramente genéticamente diferentes a sus progenitores. Esto pudo ocurrir en varios tiempos durante el Mioceno, Plioceno y Pleistoceno, cuando las variaciones climáticas eran más extremas. En esos momentos las poblaciones de hospedadores y sus parásitos habrían permanecido aisladas en pequeños refugios marinos sufriendo procesos de co-adaptación. Después, en los periodos interglaciares, se habrían ido expandiendo según lo hubieran hecho sus hospedadores (Mattiucci y Nascetti, 2008).

¿De dónde vienen los hospedadores? Los cetáceos evolucionaron a partir de un grupo de ungulados y están emparentados directamente con los hipopótamos. Surgieron a partir de un cetáceo anfibio extinto hace unos 45 millones de años llamado *Pakicetus*. Esto quiere decir que volvieron de la tierra al mar, llevándose los precursores de los anisákidos adquiridos previamente en las etapas terrestres (https://es.wikipedia.org/wiki/Evoluci%C3%B3n_de_los_cet%C3%A1ceos).

¿De dónde vienen los parásitos? Los nematodos están incluidos en los Ecdysozoa un grupo de invertebrados que mudan junto a los artrópodos. Actualmente existen muchos ejemplos de Ecdysozoa, además de los nematodos, como son los tardígrados y los onicóforos, existiendo numerosos registros fósiles de estos grupos afines (Edgecombe, 2009). Mediante el análisis filogenético utilizando el estudio del ARNr 18S se agrupa a los nematodos en un taxón hermano a los artrópodos que presenta gran similitud a nivel del género *Trichinella* (Aguinaldo *et al.*, 1997), habiéndose encontrado evidencias de que los nematodos parásitos ya existían hace millones de años (<http://phys.org/news/2011-04-outlines-mysterious-evolution-nematodes-.html#jCp>) (<http://tolweb.org/>).

¿De dónde vienen los anisákidos? De los ascáridos. De *Ascaris*. De hecho, éste es el único que completa el ciclo biológico en el hombre y por eso será el mejor adaptado y el que ha convivido más tiempo con él (Blaxter *et al.*, 1998). Pero además de la especie *Ascaris lumbricoides* del hombre, está la especie reconocida tradicionalmente *Ascaris suum* del cerdo. ¿De dónde han venido? ¿Qué relación hay entre ellas? Loreille y Bouchet (2003) han analizado la evolución de la ascariosis en hombres y cerdos, concluyendo que, ya que los cerdos comen heces humanas y los humanos no comen heces porcinas, los homínidos fueron los hospedadores ancestrales a partir de los que posteriormente se infectaron los cerdos. Para este análisis se basan en las siguientes premisas: Los ancestros de los cerdos domésticos datan del Mioceno. En cuevas y rocas del Oeste de Europa hay pinturas de escenas de caza de jabalí de hace 25.000. Los cerdos domésticos descienden todos de una única especie de jabalí euroasiático (*Sus scrofa*). Su domesticación probablemente ocurrió hace 9.000 años en Oriente Medio y en el Este del Mediterráneo, así como en el Sudeste Asiático. Los cerdos domesticados se expandieron a través de Asia, Europa y África. Los huevos de *Ascaris* más antiguos tienen unos 30.000 años (Paleolítico Superior, Arcy-sur-Cure, Yonne, Francia) y no se encontraron restos de cerdos en el yacimiento.

Leles *et al.* (2012) se plantearon también si se deben mantener las dos especies como válidas o es una sola, generando las siguientes cuestiones: ¿*A. lumbricoides* (hombre) y *A. suum* (cerdo) son especies válidas originadas a partir de un ancestro común? ¿*A. lumbricoides* deriva de *A. suum*? ¿*A. suum* deriva de *A. lumbricoides*? ¿*A. lumbricoides* y *A. suum* son co-específicas? Finalmente, se decantan por esta última hipótesis, afirmando que *A. lumbricoides* y *A. suum* son co-específicas, para lo que se apoyan en los siguientes hechos: Los humanos y los cerdos aparecen como especies millones de años antes de la domesticación de los cerdos. Los primates y los cerdos salvajes ocuparon los mismos ecosistemas favoreciendo el intercambio de sus parásitos. Los humanos cazaban cerdos salvajes antes de la domesticación del cerdo. La domesticación favoreció el contacto y el intercambio de *Ascaris* de origen humano y porcino adaptándose a ambos hospedadores.

Ascaris es un parásito muy bien adaptado al hombre. *A. lumbricoides* puede vivir entre uno y dos años. Su elevada prevalencia es debida a dos razones: 1) La hembra tiene una elevada capacidad reproductora. Una sola puede producir hasta 27 millones de huevos en el curso de la infección. 2) Los huevos de *A. lumbricoides* pueden sobrevivir en condiciones ambientales extremas durante largos periodos de tiempo. La mayoría de las infecciones son ligeras y asintomáticas, aunque las infecciones masivas son patógenas por su gran tamaño (15-45 cm de longitud x 2-6 mm de diámetro) (Ojha *et al.*, 2014).

Respecto a desde cuando se tiene constancia de parásitos adquiridos por consumo de pescado hay pocas fuentes documentales. Según Zugarramurdi *et al.* (1998) el primer registro del pescado como alimento de la especie *Homo sapiens* tiene 380.000 años. Respecto a *Homo erectus*, Zohar y Briton (2011), en sus investigaciones realizadas en Gesher Benot Ya'aqov, un yacimiento israelí que arroja una datación de 780.000 años, encontraron dientes de un ciprínido. Este hallazgo, por el momento, está considerado como la más antigua evidencia del consumo de pescado en la prehistoria.

Muchos investigadores se preguntan que, ya que llevamos tanto tiempo con ellos, ¿para qué nos sirven?, planteado la “Hipótesis de los Helmintos” que se basa en los siguientes hechos: La coexistencia de los helmintos parásitos en el cuerpo humano a través de la evolución humana ha producido la selección de un sistema inmunológico adaptado a los helmintos que incluye la producción de IgE (Fumagalli *et al.*, 2009). Las medidas sanitarias para reducir las infecciones helmínticas han alte-

rado nuestra inmuno-ecología y, consecuentemente, los niveles de IgE, producidos por la estimulación por los helmintos, de los humanos modernos han caído. La ausencia de estimulación de la producción de IgE por los helmintos ha aumentado la vulnerabilidad frente a enfermedades infecciosas, alergias y enfermedades autoinmunes (Yazdanbakhsh *et al.*, 2002; Rook, 2009; Allen y Maizels, 2011).

Pero otros investigadores se plantean si son realmente ciertas esas hipótesis exponiendo las siguientes cuestiones: ¿La tasa de IgE es proporcional a la carga parasitaria? ¿Hay suficientes evidencias que demuestren la co-evolución entre humanos y helmintos? ¿Fueron los helmintos responsables de esa presión selectiva para el funcionamiento del sistema inmunológico? ¿Los niveles elevados de IgE producidos por selección natural supusieron una ventaja dietética? ¿Los niveles elevados de IgE pudieron permitir a los cazadores-recolectores consumir una gran variedad de plantas que de otra manera resultarían tóxicas? (London y Hruschka, 2014). Caraballo y Acevedo (2011) al estudiar el impacto de las infecciones por *A. lumbricoides* sobre la alergia en regiones tropicales plantean nuevas dudas acerca de las posibles relaciones entre los helmintos y el sistema inmunológico: ¿Las infecciones crónicas con cargas parasitarias altas producen inmunosupresión? ¿Las infecciones intermitentes con cargas parasitarias bajas estimulan la producción de IgE? ¿La ausencia de infección significa ausencia de inmuno-regulación?

Resulta evidente que, como consecuencia de esta adaptación, los helmintos pueden modular la respuesta inmunológica de sus hospedadores actuando sobre las células de la inmunidad innata, inhibiendo la producción de mediadores inflamatorios y favoreciendo la liberación de citoquinas inmuno-reguladoras, como IL-10 o TGF- β , lo que tiene como consecuencia la generación de linfocitos T reguladores, la expansión de linfocitos Th2 y la modulación negativa de los clones de linfocitos T de fenotipo pro-inflamatorio. Esto, indirectamente, puede tener como consecuencia la mejoría de las afecciones autoinmunes, así como, la prevención del desarrollo de alergias (Figura 2). La mejor comprensión de los mecanismos inflamatorios ha dado lugar a un nuevo paradigma en la inmunidad frente a los helmintos. Se ha demostrado que los helmintos actúan sobre los epitelios, causando la liberación de unas citoquinas, denominadas “alarminas”, como IL-25, IL-33 y linfopoyetina estromal tímica, que inducen células de la inmunidad innata de tipo 2 que producen IL-4, IL-5 e IL-13 y estimulan respuestas Th2. También se generan linfocitos B reguladores que producen IL-10 además de los

linfocitos T reguladores. Estos mecanismos deprimen las células Th1 y Th17 que están implicadas en la respuesta inflamatoria inicial. Todos estos efectos se producen en el contexto de una predisposición genética, donde los helmintos pueden alterar la respuesta inmune, a través de la regulación evolutiva del “immunoma”, así como la regulación epigenética en etapas clave del desarrollo, como en el periodo intrauterino y en la primera infancia (Khan y Fallon, 2013; Wammes *et al.*, 2014).

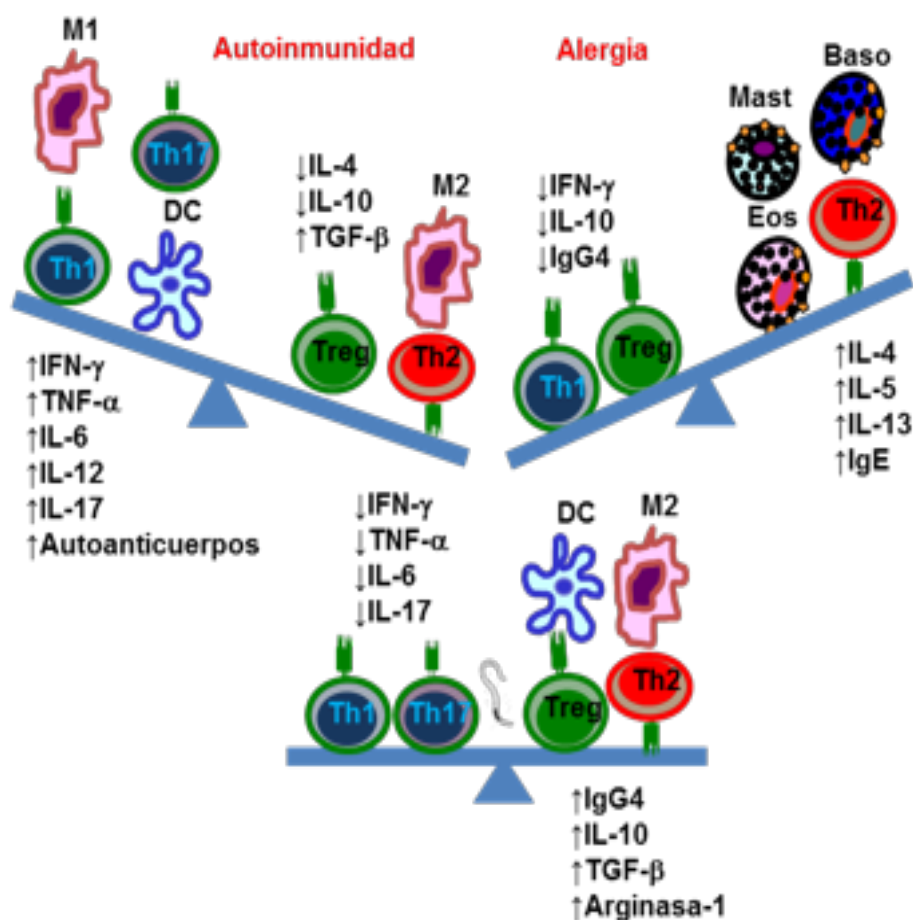


Figura 2.- Paradigma helmintos/inmunidad. Co-adaptación parásito/hospedador (Khan y Fallon, 2013; Wammes *et al.*, 2014)

Finalmente, aplicando las leyes de la biología evolutiva a *Anisakis*, la elevada prevalencia de enfermedades alérgicas clínicamente subsecuentes al parasitismo por este nematodo se podría atribuir al hecho de que el ser humano no es un hospedador natural de este parásito, y que el parasitismo por *Anisakis* es sólo agudo o “intermitente” y, por lo

tanto, carece de las características inmuno-reguladoras típicas de las helmintosis crónicas, incluso se ha propuesto que la urticaria podría ser el resultado clínico exagerado de un mecanismo inmunológico beneficioso conservado evolutivamente y que permite la eliminación de las larvas a las pocas horas de la ingestión del pescado parasitado (Daschner y Cuéllar, 2010).

Otros diferentes helmintos parásitos pueden tener diversos efectos sobre la alergia, sobre todo cuando la exposición es limitada o en el caso de helmintosis zoonóticas, en las que las larvas no pueden alcanzar el estadio adulto en el hospedador humano, migrando durante periodos prolongados en los tejidos. En otros casos, la falta de adaptación al hospedador humano tiene como consecuencia reacciones violentas por parte de éste que, en algunos casos, desencadenan reacciones alérgicas de tipo agudo. Por el contrario, en otros casos la presencia de algunos helmintos parásitos se ha relacionado con una menor prevalencia de asma como es el caso de *Necator americanus* y *Schistosoma mansoni*. Hay cuatro factores que pueden determinar los efectos de los helmintos sobre la alergia que son: el tiempo y duración de la infección, donde las infecciones tardías y cortas pueden incrementar las alergias; la intensidad de la infección, donde las infecciones leves tienen efectos negativos sobre la alergia; la genética del hospedador, donde los individuos genéticamente susceptibles a las enfermedades atópicas serán más proclives a desarrollar respuestas alérgicas frente a helmintos y otros alérgenos no parasitarios siendo más resistentes a las infecciones y, finalmente, el propio parásito. Los individuos expuestos a infecciones por helmintos pueden desarrollar respuestas inflamatorias a los parásitos y sus antígenos siendo lo más probable que esta respuesta del hospedador aisle y mate el parásito (Cooper, 2009).

Actualmente, *Anisakis* es el único helminto parásito que se acepta que está verdaderamente implicado en la aparición de enfermedades alérgicas asociadas a la parasitación.

1.7. Anisakiosis

La anisakiosis se produce tras la ingestión de las larvas vivas de tercer estadio y según la localización de las lesiones se puede considerar gástrica, intestinal o ectópica. Cuando se manifiestan síntomas alérgicos acompañado a las manifestaciones digestivas se considera anisakiosis gastro-alérgica (Sakanari, 1990; Daschner *et al.*, 2000) (Figura 3).

- **GÁSTRICA:** 4-6 h p.i. Aguda: dolor, náuseas, urticaria.
- **INTESTINAL:** 7 d. Abdomen agudo o apendicitis.




- **ECTÓPICA (EXTRAGASTROINTESTINAL):** mesenterio, nódulos linfáticos, hígado, páncreas.
- **GASTROALÉRGICA:**
 - fiebre moderada, urticaria, asma, angioedema, anafilaxia, edemas y poliartritis.



Penetración L3 pared digestivo:
lesión traumática, dolor hemorragia, inflamación.

Figura 3.- Anisakiosis humana (Sakanari, 1990; Daschner *et al.*, 2000)

2. ANISAKIS Y ALERGIA

1.1. Implicación de larvas vivas o muertas

En 2002 se abrió el debate sobre si las larvas de tercer estadio de *Anisakis* tenían que estar vivas para producir los síntomas alérgicos (Audicana *et al.*, 2002).

A pesar de que ningún estudio hasta la fecha ha confirmado científicamente que los materiales procedentes de las larvas no viables de *Anisakis* sean capaces de inducir reacciones alérgicas agudas en el ser humano, hay gran cantidad de publicaciones científicas que enfocan *a priori* la alergia a *Anisakis* como si se tratara de un alérgeno alimentario, tratando de implicarlo, incluso, como causa de alergia ocupacional (Rodríguez-Mahillo *et al.*, 2008; 2010; Vidacek *et al.*, 2010; López y Pardo, 2010; Mossali *et al.*, 2010; Nieuwenhuizen *et al.*, 2006; Añibarro y Seoane, 1998; Armentia *et al.*, 1998; Barbuzza *et al.*, 2009).

Por ello es necesario analizar la relación entre los parásitos y las alergias para mejorar nuestra comprensión de la alergia a *Anisakis* y el papel de la IgE en esta parasitosis, lo que nos ayudará también a analizar de forma crítica cuestiones asociadas como las definiciones de alérgeno y alérgeno principal en el campo de la parasitología (Daschner *et al.*, 2012).

Según el informe elaborado por la EFSA, *Anisakis* es el único parásito de los productos de la pesca implicado en reacciones alérgicas (EFSA, 2010), incluyéndose también como factor etiológico en las directrices para la evaluación de la anafilaxia (Simons *et al.*, 2011).

La alergia a *A. simplex* fue descrita por primera vez en Japón en 1990 (Kasuya *et al.*, 1990), pero el auge de las publicaciones en el campo de la alergia frente a dicho parásito se inició tras la descripción en España de nuevos casos de anafilaxia inducida por *A. simplex* en 1995 (Audicana *et al.*, 1995). Se demostró que los pacientes con síntomas alérgicos agudos tras el consumo de pescado parasitado mostraban IgE específica frente a este nematodo parásito y, por ello, desde entonces se le ha considerado como un potencial alérgeno y muchas investigaciones se han llevado a cabo siguiendo un protocolo clásico de alergia a alimentos empezando por la detección y caracterización de alérgenos (Daschner *et al.*, 2012).

En el caso de *A. simplex* se han caracterizado varios alérgenos (Tabla 4) y algunos de ellos han sido denominados alérgenos principales y/o panalérgenos, los cuales podrían ser causantes de la aparición de reacciones cruzadas, provocando la aparición de falsos positivos en el diagnóstico. Con respecto a esta supuesta reactividad cruzada, varios estudios han demostrado, por diferentes medios, posibles reacciones cruzadas debidas a hidratos de carbono o residuos de fosforil-colina con otros anisákidos como *Hystherothylacium*, hecho observado mediante

ELISA de inhibición utilizando sueros de pacientes sensibilizados a *Anisakis* (Fernández-Caldas *et al.*, 1998). También se ha estudiado la aparición de reacciones cruzadas con otros ascáridos, como *Toxocara canis*, mediante la determinación de IgE anti-*Anisakis* y anti-*Toxocara* mediante *CAP System* en sueros de pacientes diagnosticados de urticaria aguda recidivante relacionada con *Anisakis* y larva migratoria visceral por *Toxocara* (Perteguer *et al.*, 2003). Aparte de las reacciones cruzadas con nematodos cercanos, también se han investigado estas reacciones con artrópodos, entre ellos ácaros, como *Acarus siro*, *Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae* o *Dermatophagoides pteronyssinus*, además de frente a cucarachas o crustáceos, así como lombrices de tierra (Johansson *et al.*, 2001).

	kDa	Función	Positividad	Referencia
<i>Ani s 1</i>	24	Inhibidor de tripsina tipo Kunitz	85%	Moneo <i>et al.</i> , 2000
<i>Ani s 2</i>	97	Paramiosina	88%	Pérez-Pérez <i>et al.</i> , 2000
<i>Ani s 3</i>	41	Tropomiosina	¿4%?	Asturias <i>et al.</i> , 2000
<i>Ani s 4</i>	9	Cistatina	27%	Rodríguez-Mahillo <i>et al.</i> , 2007
<i>Ani s 5</i>	15	Proteína SXP/RAL-2	25-49%	Kobayashi <i>et al.</i> , 2007
<i>Ani s 6</i>	7	Serpina	18%	Kobayashi <i>et al.</i> , 2007
<i>Ani s 7</i>	139	Glicoproteína	83-100%	Anadón <i>et al.</i> , 2009
<i>Ani s 8</i>	15	Proteína SXP/RAL-2	25%	Kobayashi <i>et al.</i> , 2007
<i>Ani s 9</i>	14	Proteína SXP/RAL-2	13%	Rodríguez-Perez <i>et al.</i> , 2008
<i>Ani s 10</i>	21	¿?	39%	Caballero <i>et al.</i> , 2011
<i>Ani s 11</i>	27	¿?	47%	Kobayashi <i>et al.</i> , 2011
<i>Ani s 12</i>	31	¿?	57%	Kobayashi <i>et al.</i> , 2011
<i>Ani s 13</i>	37	Hemoglobina	64-81%	González-Fernández <i>et al.</i> , 2015
<i>Ani s 14</i>	24	¿?	53%	Kobayashi <i>et al.</i> , 2015

Tabla 4.- Alérgenos caracterizados de *Anisakis simplex*

Esta circunstancia ha llevado a varios autores a indicar que la reactividad cruzada es responsable de la aparición de “falsos positivos” cuando se detecta IgE específica en sujetos sin antecedentes clínicos de alergia a *Anisakis*. Sin embargo, utilizando métodos de elevada especificidad como la técnica de ELISA-UA3, se ha demostrado que la detección de IgE específica en población sana, es debida a anteriores episodios de parasitación por *A. simplex* dadas las elevadas tasas de parasitación en los pescados que se consumen en nuestro entorno, no observándose reacción cruzada con sueros de pacientes alérgicos a ácaros o pólenes. Se demostró que la elevada seroprevalencia de la anisakiosis en Madrid, más del 12% en población sana, está relacionada con los hábitos de consumo de pescado. La seropositividad fue más prevalente entre los consumidores de pescado fresco aumentando con la frecuencia de consumo. Todos los sujetos seropositivos eran consumidores habituales de pescado crudo en distintas preparaciones como boquerones en vinagre, ahumados o marinados. También se observó relación entre la seropositividad y la utilización de métodos culinarios que no garantizan la muerte de las larvas como el microondas o el rebozado (Puente *et al.*, 2008). Todos estos hechos sugieren que la infección con las larvas vivas es necesaria para la seropositividad.

Además, varios estudios clínicos han demostrado que los síntomas agudos alérgicos tales como urticaria, angioedema o anafilaxia se producen sólo cuando las larvas vivas de *A. simplex* parasitan el tracto gastro-intestinal causando anisakiosis gastro-alérgica (Alonso *et al.*, 1997; Daschner *et al.*, 2000).

Basándose en estos hechos, las normas para la prevención de la parasitación por *Anisakis* consisten simplemente en evitar la ingestión de pescados que puedan contener larvas vivas. En general se recomienda consumir los pescados bien cocinados (> de 60°C) y si van a ser consumidos crudos y/o ahumados seguir la normativa europea de congelar previamente el pescado a -20°C durante un período mínimo de uno a siete días. En el año 2006, en España se publicó un Real Decreto sobre prevención de la parasitosis por *Anisakis* en productos de la pesca suministrados por establecimientos que sirven comida a los consumidores finales o a colectividades. Todos estos datos tienen como consecuencia la falta de necesidad de que estos pacientes tengan que seguir una dieta estricta exenta de pescado ya que la congelación del pescado a -20°C durante un periodo mínimo de 24 horas mata las larvas de *Anisakis*. Este sencillo consejo dietético evita que los pacientes previamente diagnosticados de anisakiosis gastro-alérgica sufran posteriores reac-

ciones alérgicas asociadas a *A. simplex* (Reglamento CE 853/2004; Real Decreto 1420/2006).

A pesar de que se han descrito reacciones alérgicas, incluyendo anafilaxis, después de la ingesta de pescados supuestamente bien cocinados, siendo atribuidas al contacto con alérgenos procedentes de larvas de *Anisakis* no viables (Audicana y Kennedy, 2008), el concepto de anisakiosis gastro-alérgica implica que la reacción de hipersensibilidad clínica se produce por la respuesta inmunitaria inducida tras el parasitismo agudo por *A. simplex*, siendo importante resaltar que no existen datos que hayan demostrado ningún resultado positivo con pruebas de provocación utilizando material procedente de larvas de *A. simplex* no viables (Alonso *et al.*, 1999; Daschner *et al.*, 2000; 2001; Sastre *et al.*, 2000; Baeza *et al.*, 2004), lo que confirma que las larvas tienen que ser ingeridas vivas para producir los síntomas asociados con la parasitación y la reacción de hipersensibilidad de tipo I asociada a la misma.

1.2. Papel de la IgE anti-*Anisakis* en la reacción alérgica

Hemos dicho que la mayoría de las investigaciones en torno a *A. simplex* se han llevado a cabo siguiendo protocolos clásicos de estudio de alérgenos alimentarios. El modelo clásico de alergia a los alimentos (Shakib *et al.*, 2008) se basa en que la IgE, producida como consecuencia al estímulo alérgico y que es retenida por los receptores de alta afinidad FcεRI de los mastocitos, reconoce el alérgeno en sucesivos contactos lo que provoca la degranulación de los mastocitos en los tejidos, provocando los típicos síntomas de la hipersensibilidad de tipo I, tales como los que se ven en la alergia a alimentos y también en la anisakiosis gastro-alérgica. Esto se puede comprobar porque la IgE específica producida en ambos casos (alergia alimentaria o alergia a *Anisakis*) puede ser detectada por una prueba cutánea (*Skin Prick Test*) y también se puede medir en el suero de los pacientes (Daschner *et al.*, 2001). Los primeros estudios realizados en Japón sobre la anisakiosis gástrica o intestinal demostraron que la IgE específica se produce siempre, incluso en pacientes sin síntomas de alergia clínicamente evidente (Asaishi *et al.*, 1980). Pero, por otro lado, el dolor epigástrico que sufren los pacientes con anisakiosis gástrica se ha postulado que se correlaciona con una reacción alérgica (Asaishi *et al.*, 1980).

Se ha demostrado que los pacientes con anisakiosis gastro-alérgica muestran una estimulación policlonal dinámica después del contacto con los parásitos. La IgE específica aumenta después de un

mes para luego descender lentamente a los seis meses o un año del contacto con los parásitos y los estudios mediante *western-blot* demuestran que se producen nuevas especificidades de la IgE, aumentando el reconocimiento de proteínas sobre los extractos crudos larvarios, así como sobre los productos de excreción-secreción (Daschner *et al.*, 2002). Pero la IgE no es el único isotipo de inmunoglobulina que se produce, sino que también pueden ser detectadas IgG, IgG4, IgA e IgM frente a *A. simplex* en el suero de pacientes con anisakiosis gastro-alérgica (Daschner *et al.*, 2002). En conclusión, la anisakiosis se puede considerar una entidad intermedia entre la alergia y el parasitismo (Daschner *et al.*, 2012).

En la anisakiosis la sensibilización temprana se tiene que producir cuando la larva viva de tercer estadio de *A. simplex* intenta penetrar en la mucosa gastro-intestinal y, dentro de un ambiente de polarización Th2, finalmente se produce la IgE específica frente a los productos de excreción-secreción así como frente a los antígenos de superficie o somáticos. Esto se traduce en la presencia de IgE circulante, así como de IgE unida al receptor de alta afinidad FcεRI de los mastocitos localizados, no solamente a nivel de la submucosa, sino también en otros órganos diana, tales como la piel. La existencia de mastocitos sensibilizados después de un episodio de parasitación previa se puede demostrar mediante la observación de resultados positivos en las pruebas cutáneas. Si posteriormente la larva viva de tercer estadio penetra el epitelio gástrico en un nuevo episodio después de la sensibilización, las proteasas producidas por el parásito, junto con otros productos de excreción-secreción, ayudarán a la larva a migrar a través del epitelio y a evadir distintos mecanismos de la respuesta inmune, por ejemplo, la acción protectora de la IgA secretora podría ser anulada por las cantidades masivas de productos de excreción-secreción que tienen acceso a la sub-mucosa los cuales, posteriormente, podrían llegar también a los órganos diana, tales como la piel, a través de la circulación. Algunos de estos productos de excreción-secreción son moléculas de naturaleza alérgica, que se pueden unir a las moléculas de IgE que se encuentran en las membranas de los mastocitos, produciendo el entrecruzamiento de las moléculas de los receptores FcεRI y, consecuentemente, producen la activación y degranulación de estas células y la liberación de histamina. También se liberarán otros mediadores y citoquinas y comenzará una serie de eventos que conducen a una respuesta inflamatoria local en los casos de anisakiosis gástrica que pueden ir acompañados de síntomas alérgicos, como son la urticaria o la anafilaxia, en pacientes susceptibles apareciendo los cuadros típicos de anisakiosis gastro-

alérgica. Hay que señalar que, en determinados individuos, en los que no se han manifestado estos síntomas agudos, pueden aparecer manifestaciones urticariales crónicas asociadas a la sensibilización al parásito (Figura 4).

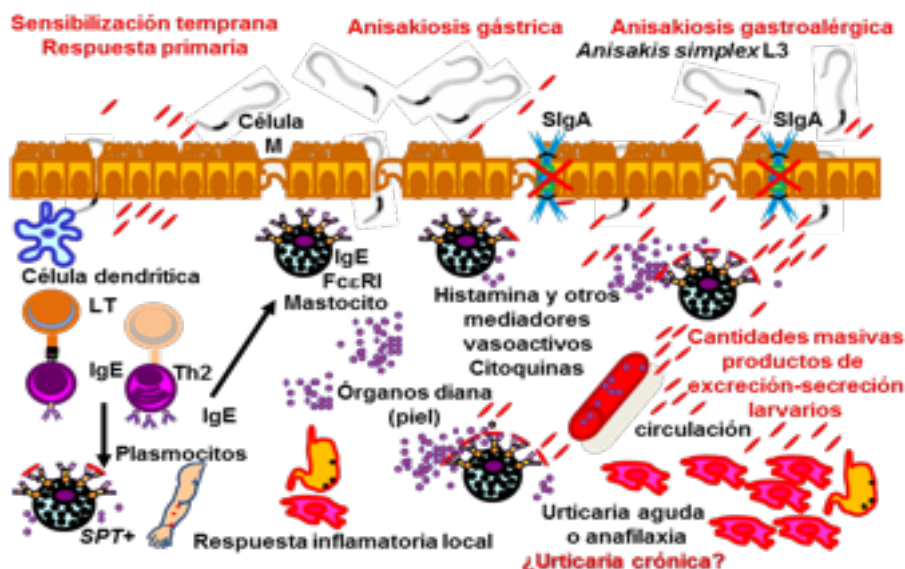


Figura 4.- Sensibilización en la anisakiosis gastro-alérgica (Daschner et al., 2012)

Los síntomas de la alergia aguda aparecen sólo en el contexto del parasitismo agudo cuando alguno de los productos de excreción-secreción se secreta activamente a la sub-mucosa cuando la larva penetra en el tracto gastrointestinal. El alérgeno *Ani s 7* es una proteína de excreción-secreción producida activamente por las larvas de tercer estadio de *A. simplex* durante la fase aguda de la infección (Anadón et al., 2009) y, aunque casi el 100% de los pacientes de anisakiosis gastroalérgica presentan anticuerpos IgE frente a este alérgeno, todos toleran la ingesta de pescado bien cocinado, a diferencia de lo que ocurre en las alergias de tipo alimentario (Cuéllar et al., 2012).

¿Por qué estos pacientes podrían haber desarrollado esta tolerancia? En sucesivos contactos con los antígenos larvarios, los factores de protección podrían impedir que los mastocitos sensibilizados de la sub-mucosa y de otros órganos diana entren en contacto con los alérgenos. Estos factores podrían incluir IgA secretora, IgA circulante o tisular o IgG4, que compiten por los alérgenos, o factores inmunomoduladores secretados por las larvas de *A. simplex* al igual que ocurre en otras helmintosis (Daschner et al., 2012).

Es posible que las larvas de *Anisakis* hayan desarrollado mecanismos de evasión de la respuesta inmunológica en su propio beneficio, como por ejemplo, la capacidad de suprimir respuestas Th1, que se demuestra por su capacidad para inhibir la producción de óxido nítrico por macrófagos activados (Cuéllar *et al.*, 1998); habiéndose también confirmado su potencial anti-inflamatorio por la presencia de moléculas tipo-IL-4 (Cuéllar *et al.*, 2001) y por su actividad inmunomoduladora sobre el sistema del complemento (García-Hernández *et al.*, 2007; 2009; 2012). En ratones experimentalmente infectados se ha observado que la inyección previa de antígeno inhibe los procesos inflamatorios inducidos por las larvas vivas. Esta inyección previa también provocó una reducción significativa de las células CD45+ y CD8+ y también del porcentaje de proliferación celular (Perteguer *et al.*, 2001). En estudios realizados en modelos murinos se ha observado que, tanto los productos de excreción-secreción como el antígeno total larvario de *A. simplex* producen células dendríticas tolerogénicas que inducen la expansión de linfocitos T reguladores funcionales *in vitro* (Zamora *et al.*, 2013).

En otras enfermedades de tipo alérgico, la IgG4 específica se ha asociado con la protección, incluso cuando la IgE específica está presente. En los pacientes analizados por nosotros, los valores de IgG4 fueron superiores en el grupo de anisakiosis gastro-alérgica al compararlos con los de pacientes con urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*, del mismo modo que los valores de IgE, pero, cuando se calculó el porcentaje de positivos, en el caso de la IgG4 se obtuvieron más sueros positivos en el caso de pacientes de anisakiosis gastro-alérgica, frente a ambos alérgenos principales *Ani s 1* y *Ani s 7*. Se calculó el cociente entre IgG4/IgE y, en el caso de *Ani s 7*, resultó ser superior en anisakiosis gastro-alérgica, no observándose diferencias significativas ni en el caso de *Ani s 1* ni con el antígeno total larvario, confirmándose que la IgG4 anti-*Ani s 7*, además de ser un factor de protección, es un marcador independiente de anisakiosis gastro-alérgica (Daschner *et al.*, 2014).

Al analizar los índices de avidéz de las inmunoglobulinas específicas en estos pacientes se observó que la avidéz de la IgG era significativamente mayor en anisakiosis gastro-alérgica mientras que hubo una tendencia a una menor avidéz de la IgE en este mencionado grupo al compararlo con los pacientes de urticaria crónica asociada a sensibilización, observándose correlación negativa entre los niveles de IgE y los valores de avidéz de esta inmunoglobulina. En los pacientes de anisakiosis gastro-alérgica se observó correlación negativa de la avidéz

de la IgE con el tiempo transcurrido desde la aparición de los síntomas y correlación positiva con la frecuencia de consumo de pescado (Cuéllar *et al.*, 2013).

Ya hemos visto que puede no ser correcto seguir aplicando los dogmas de la alergia en el campo de la parasitología. En primer lugar, no existe uniformidad en la definición de alérgeno. Todas las definiciones son uniformes con respecto a la afirmación de que un alérgeno es un antígeno capaz de producir anticuerpos IgE, la mayoría, pero no todas, incorporan un requisito adicional: es necesario un estado atópico a fin de responder con una reacción de hipersensibilidad. Lo más importante, sin embargo, es que la definición rara vez incluye la necesidad de que el alérgeno sea un antígeno no parasitario (Goldsby *et al.*, 2003). Esto último sería lógico, ya que la respuesta de IgE frente a helmintos es universal en los mamíferos y se admite que el sistema inmunológico evolucionó en presencia de los helmintos. Así los primeros datos de la colonización por helmintos aparecen anotados sobre la historia filogenética de los vertebrados. También están datados los principales eventos en la evolución del sistema inmune y la aparición de mediadores de importancia en las respuestas antihelmínticas. Los macrófagos, los eosinófilos y los mastocitos ya estaban presentes en las lampreas antes del desarrollo de la inmunidad adaptativa clásica. Para que esto tuviera lugar fue necesario que aparecieran los genes RAG con el fin de permitir la aparición y diversidad de los receptores de los linfocitos T y B. Esto ocurriría en algún punto situado entre los Agnatha y la aparición de los peces cartilagosos (rayas y tiburones). La colonización de los platelmintos también ocurrió dentro de ese periodo. La primera evidencia de citoquinas Th2 y macrófagos activados alternativamente aparece en los Actinopterygii o peces óseos. La colonización de la tierra probablemente permitió la invasión de los primitivos tetrápodos por los nematodos parásitos. Finalmente, la IgE, tan importante en las respuestas antihelmínticas, es una reciente adquisición de los mamíferos (Jackson *et al.*, 2009).

1.3. La tropomiosina como alérgeno principal y panalérgeno

Otro punto discordante es que, dos proteínas derivadas de *A. simplex* denominadas *Ani s 2* y *Ani s 3* han sido designados como panalérgenos (Pérez-Pérez *et al.*, 2000; Asturias *et al.*, 2000), pero, a diferencia de lo que ocurre en la alergia alimentaria, donde la presencia de panalérgenos explica las manifestaciones clínicas producidas por las fuentes de antígenos diferentes que contienen estos panalérgenos, hasta

ahora no se ha demostrado que existan pan-alergenos derivados de *A. simplex* que sean clínicamente relevantes.

Por ejemplo, *Ani s 3*, la tropomiosina de *A. simplex*, se ha caracterizado como un alérgeno, pero se ha encontrado que sólo una pequeña proporción de los sueros de individuos alérgicos a *Anisakis* reconocen este alérgeno (Asturias *et al.*, 2000). Santiago *et al.* (2011) sugirieron que la tropomiosina podría ser un candidato panalérgeno capaz de producir reactividad cruzada en filariosis humana lo que tendría como consecuencia la producción de un incremento de la sensibilización a los ácaros del polvo doméstico, observando una elevada reacción cruzada tanto a nivel de IgE como de IgG entre las tropomiosinas de *D. pteronyssinus* (*Der p 10*) y de *Onchocerca volvulus*.

Teniendo en cuenta que la tropomiosina está considerada como el alérgeno principal de gambas y langostinos y un panalérgeno entre los invertebrados parece necesario cuestionarse si la tropomiosina de *A. simplex* puede considerarse como un verdadero panalérgeno y, si dependiendo del número de individuos que la reconocen, pudiera ser considerada como un alérgeno principal de *Anisakis*.

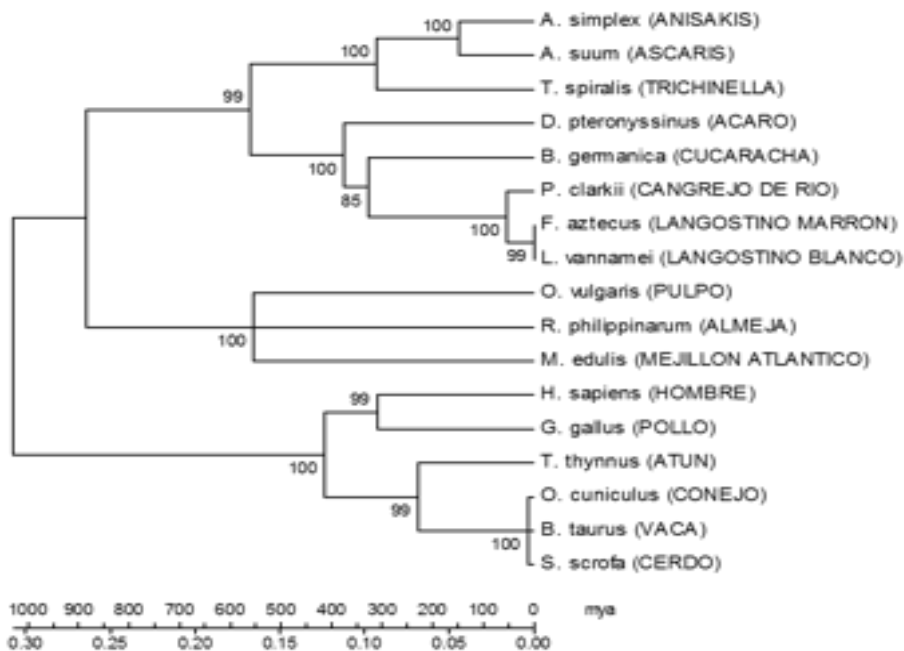


Figura 5.- Relaciones evolutivas obtenidas con el método Neighbor-Joining comparando 17 tropomiosinas (González-Fernández *et al.*, 2014)

Ya que existe una elevada identidad de las tropomiosinas pertenecientes a un mismo grupo zoológico se probó su utilidad como marcador evolutivo. Tras el análisis filogenético se constató la utilización de la tropomiosina como una molécula útil para estudiar cambios evolutivos y relaciones filogenéticas, observándose una clara separación entre tropomiosinas alergénicas de invertebrados y las no alergizantes de vertebrados (Figura 5) (González-Fernández *et al.*, 2014). Así mismo, en las tropomiosinas de invertebrados se han encontrado cambios aminoácidos clave para la formación de plegamientos, que no existen en las de vertebrados y que pueden ser responsables de la antigenicidad. En las tropomiosinas de vertebrados estudiadas existe un predominio de hélice alfa del 95%, que disminuye hasta un 85% en las de algunos invertebrados, pero, curiosamente, las tropomiosinas de los parásitos y ácaros *A. simplex*, *A. suum*, *Trichinella spiralis* y *D. pteronyssinus* presentan unos porcentajes de hélice alfa más altos y que se asemejan al de la tropomiosina de pollo (González-Fernández *et al.*, 2014).

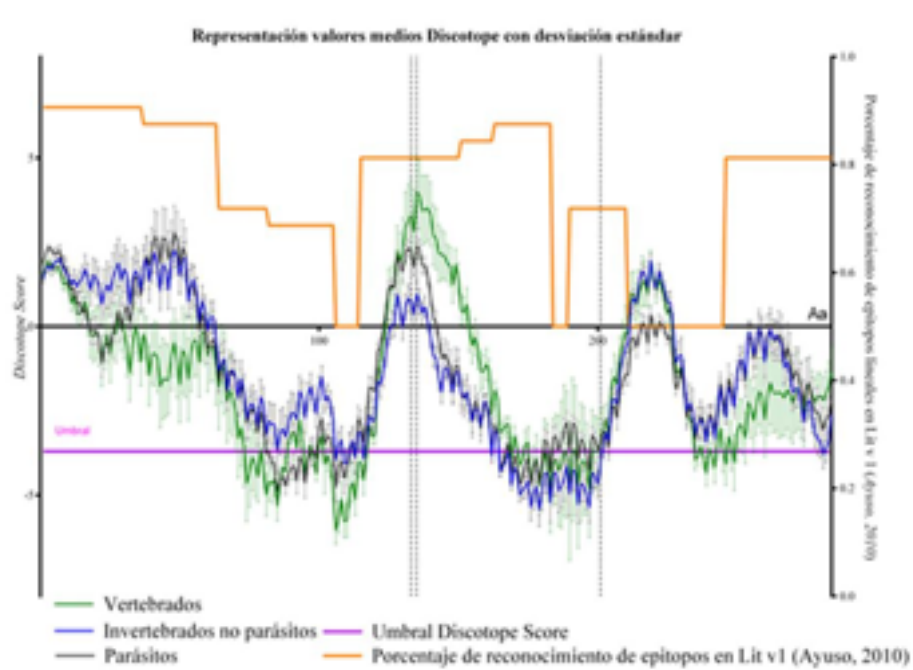


Figura 6.- Representación del valor medio de Discotope Score de las tropomiosinas de vertebrados, parásitos e invertebrados no parásitos; así como su comparativa con el nivel umbral de predicción y con el porcentaje de reconocimiento experimental en Lit v 1 (Ayuso *et al.*, 2010). Las barras de error muestran la Desviación estándar. Aa: aminoácidos (leyenda del eje de abscisas). Líneas discontinuas en las posiciones 133, 135 y 201 – candidatas a generar alergenicidad (González-Fernández *et al.*, 2014)

Mediante el uso del programa Discotope 2.0 que predice epitopos B conformacionales a partir de estructuras proteicas tridimensionales se obtuvo el *Discotope Score* (probabilidad de ser epitopo) para cada uno de los 284 aminoácidos confirmó que el grupo de los parásitos presenta valores de *Discotope Score* (probabilidad de ser epitopo) intermedios entre vertebrados e invertebrados. El epitopo central previamente caracterizado en la tropomiosina del langostino *Litopenaeus vannamei* (*Lit v 1*) mostró similitud entre *Anisakis* y *Ascaris* y entre estos con las tropomiosinas de crustáceos productores de alergias (Figura 6) (González-Fernández *et al.*, 2015).

Para estudiar las posibles reacciones cruzadas y la importancia de la tropomiosina de *A. simplex* como alérgeno en la población, se utilizaron sueros de pacientes diagnosticados previamente como positivos a *Anisakis* mediante *Prick test* y *CAP System* y se enfrentaron en ELISA y *western-blot* a los antígenos de diferentes moluscos como pulpo (*Octopus vulgaris*), mejillón (*Mytilus edulis*) y almeja (*Venerupis philippinarum*), de crustáceos como langostino (*L. vannamei*) y cangrejo de río (*Procambarus clarkii*), otros artrópodos implicados en fenómenos alérgicos como ácaros (*D. pteronyssinus*) y cucarachas (*Blatella germanica*), así como los nematodos parásitos *Trichinella*, *Ascaris* y el mismo *Anisakis* como control; especies todas ellas de las que se dispone de la secuencia de sus tropomiosinas en las bases de datos de acceso libre, observándose una importante reactividad cruzada con todos los antígenos estudiados. Posteriormente, se realizó la determinación de IgE por ELISA en 79 sueros para comprobar su reacción con la tropomiosina recombinante de *A. simplex*, obteniendo un 11,39% de positivos, lo que confirma que *Ani s 3* no puede considerarse un alérgeno principal de *A. simplex* porque no es reconocido por el 50% de los pacientes diagnosticados como alérgicos frente a este parásito. Otro 11,6% de los sueros reconocieron la tropomiosina recombinante del langostino *Pandalus borealis* que tiene un 98% de homología con la tropomiosina de *L. vannamei* que fue la especie de langostino incluido en nuestro estudio. Finalmente, tres de los sueros reconocieron ambas tropomiosinas, *Ani s 3* y *Pan b 1*. Esto sugiere que, en estos pacientes que habían sido previamente diagnosticados de urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*, la urticaria crónica que presentan puede no deberse a *Anisakis*, sino a una exposición continuada a las tropomiosinas de gambas o langostinos y, posiblemente, de otros mariscos u otros invertebrados. Se investigó la posible causa de la reacción cruzada buscando la presencia de motivos comunes de unión a IgE. Para ello se

utilizó como modelo la tropomisina de *Penaeus aztecus* sobre la que se han descrito cinco regiones de unión a IgE y que presenta una elevadísima identidad con la de *P. borealis*. La reactividad cruzada observada en los tres pacientes citados anteriormente puede deberse a las regiones 4 y 5 ya que conservan el mismo motivo de unión a IgE (González-Fernández *et al.*, 2013).

Este hecho podría estar implicado en los fenómenos de urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*. Como ha sido mencionado, la urticaria crónica se ha asociado con episodios de parasitismo previo por larvas de *Anisakis*, aunque los mecanismos etiopatogénicos no han sido dilucidados. Es interesante señalar que, como se ha indicado anteriormente, los niveles más bajos de IgG4 específicas frente a los antígenos de *A. simplex* se detectan en individuos que presentan reacciones urticariales crónicas. Por lo tanto, no se puede descartar que, en algunos casos, en los que pueda coexistir alguna alteración de la permeabilidad intestinal, como suele ocurrir en la alergia alimentaria, con baja o nula producción de IgG4 o IgA específicas, podría ocurrir que los alérgenos procedentes de las larvas muertas o de otros organismos incluidos en la alimentación, que comparten epitopos comunes, aunque fuera en cantidades bajas, se pusieran en contacto con las células cebadas de la submucosa produciendo una reacción urticarial prolongada o crónica (Daschner *et al.*, 2012).

Como consecuencia de estos estudios y teniendo en cuenta que ninguna tropomiosina de vertebrados ha sido caracterizada como alérgeno, con la excepción de *Ore m 4* la tropomiosina de la de tilapia *Oreochromis mossambicus*, y gracias a las observaciones realizadas en cuanto a la predicción de plegamientos en hélice alfa que sitúan a las tropomiosinas de pescados más próximas a las de invertebrados, se planteó la cuestión de la posible alergenidad de las tropomiosinas de pescados en general (González-Fernández *et al.*, 2016).

Por ello, se realizó el seguimiento de un paciente con historia de alergia a ácaros del polvo, cucaracha y marisco que comenzó a presentar síntomas tras la ingesta de algunos pescados. Hay que resaltar que el paciente presentaba prueba cutánea positiva a *Anisakis* así como IgE específica de *Ani s 3*, que es la tropomiosina de *Anisakis*, pero era negativo a *Ani s 7*, alérgeno de *Anisakis* que es indicador de parasitación aguda previa. Se realizó la técnica de *western-blot* utilizando extractos de diferentes organismos vertebrados e invertebrados (González-Fernández *et al.*, 2016).

El suero del paciente reconoció todas las tropomiosinas de todas las especies de invertebrados analizadas (mejillón, navaja, almeja, berberecho, pulpo, calamar, cangrejo, langostino, camarón, nécora, *Anisakis*, *Trichinella* y *Ascaris*). El paciente no reconoció la tropomiosina de ninguna de las especies de pescado que toleraba (lubina, bacalao, tilapia, atún, trucha, salmón y boquerón). Tampoco reconoció bandas de tropomiosina en los extractos de cerdo, vaca, conejo y pollo. Por el contrario, todos los pescados que le producían los síntomas alérgicos revelaron bandas de IgE frente a tropomiosina, excepto la raya y el gallo (rape, emperador, bonito, merluza). Estos resultados confirman la importancia y relevancia clínica de algunas tropomiosinas de vertebrados (González-Fernández *et al.*, 2016).

1.4. Diferencias de reconocimiento de alérgenos principales

Otro factor que afecta a la consideración de los diferentes antígenos de *Anisakis* como alérgenos principales es el tiempo transcurrido entre el episodio gastroalérgico y el análisis del suero. En estudios realizados con los alérgenos recombinantes *Ani s 1* y *Ani s 7* se han observado descensos de hasta casi un 90% en los niveles de IgE específica detectada por ELISA tras uno o dos años de seguimiento (Anadón *et al.*, 2010).

Otra posible malinterpretación producida por la aplicación de los dogmas de la alergia a la parasitología se aprecia al aplicar la definición de alérgenos principales, los cuales deberían ser reconocidos por más del 50% de los pacientes sensibilizados frente a *Anisakis* (Daschner *et al.*, 2012). El primer alérgeno principal que se describió, *Ani s 1*, se comporta como alérgeno principal sólo después de un episodio de anisakiosis gastro-alérgica, ya que es reconocido por más del 80% de los pacientes, pero sólo es detectado por el 42% de los casos en los que la IgE específica frente a *Anisakis* se asocia con urticaria crónica. Por el contrario, *Ani s 7* es altamente reconocido tanto después de un episodio de anisakiosis gastro-alérgica, como en urticaria crónica asociada a *Anisakis*, con más del 90% de los individuos positivos en ambos casos. Este hecho pone de relieve la existencia de un contacto parasitario anterior en casi la totalidad de los pacientes diagnosticados de urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis* (Cuéllar *et al.*, 2012).

En conclusión, la anisakiosis gastro-alérgica y la urticaria crónica asociada a sensibilización a *A. simplex* difieren en su respuesta de IgE e IgG4, tanto frente al antígeno total como a alérgenos determina-

dos. Por ese motivo en un estudio posterior se midieron anticuerpos de los isotipos IgE e IgG4 frente a la hemoglobina de *A. simplex* en sueros de estos pacientes (González-Fernández *et al.*, 2015). Para ello se utilizó un ELISA captura empleando el anticuerpo monoclonal 4/E8g capaz de reconocer tanto la hemoglobina de *Anisakis* como la de *Ascaris* (Nieuwenhuizen *et al.*, 2013). En el 63,4% de los pacientes sensibilizados a *Anisakis* se detectó IgE específica de la hemoglobina de *Anisakis*. Al ser reconocida por más del 50% de los individuos sensibilizados se consideró un nuevo alérgeno principal y fue nombrado como *Ani s 13* siguiendo las normas de nomenclatura internacional de alérgenos (www.allergen.org/viewallergen.php?aid=797) (González-Fernández *et al.*, 2015).

Al realizar el análisis por separado, se vio que el 80,9% de los sueros del grupo de anisakiosis gastro-alérgica fueron positivos, frente un 47,8% de los pacientes de urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*. En el caso de la IgG4, el 31,8% de los individuos sensibilizados resultaron positivos (47,6% en anisakiosis gastro-alérgica y 17,3% en urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*). Estos resultados ponen otra vez de manifiesto la diferente respuesta de las dos entidades clínicas alérgicas asociadas a la parasitación por *Anisakis* (González-Fernández *et al.*, 2015).

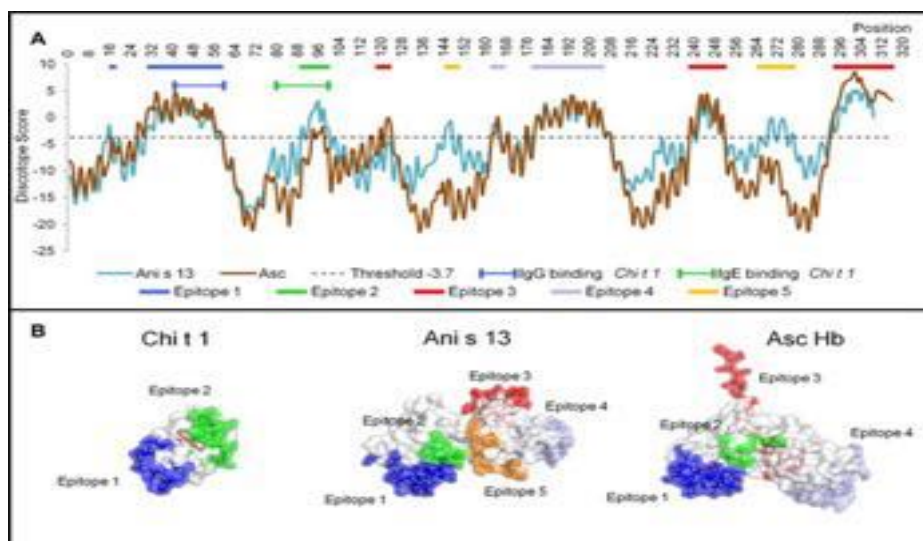


Figura 7.- (A) Valores de DiscoTopo Score de los modelos de hemoglobina de *Anisakis pegreffii* y *Ascaris suum*. (B) Representación tridimensional de *Chi t 1.01* (PDB: 1ECO) y de los modelos de hemoglobina de *A. pegreffii* (*Ani s 13*) and *A. suum* (*Asc Hb*) (González-Fernández *et al.*, 2015)

Sorprendentemente, ninguno de los sueros mostró niveles de anticuerpos IgE detectables frente a la hemoglobina de *Ascaris*. Por ello, se realizó un estudio *in silico* de los epitopios B de ambas moléculas tomando como modelo la estructura de *Chi t 1*, que es la conocida hemoglobina alergénica de *Chironomus tumi tumi*, observando la existencia de cinco epitopos en la hemoglobina de *Anisakis* y solo cuatro en la de *Ascaris*, con diferentes valores de propensión para ser epitopo obtenidos por *Discotope Score* (Figura 7). Esto podría explicar la ausencia de reacción cruzada y hacen de este alérgeno un potencial candidato para el desarrollo de herramientas diagnósticas más específicas (González-Fernández *et al.*, 2015).

1.5. Perfil de citoquinas

Hemos dicho que debido a que el ser humano no es un hospedador natural de *Anisakis* y que el parasitismo en este caso es sólo agudo o “intermitente”, podría carecer de las características inmunoregulatoras típicas de las helmintosis crónicas causando por ello siempre enfermedad (Daschner y Cuéllar 2010). Para dilucidar la implicación de los posibles mecanismos inmunomoduladores en el hospedador humano, se ha estudiado el balance de citoquinas pro/antiinflamatorias en pacientes diagnosticados previamente de parasitación por larvas de *A. simplex*, tanto en muestras de suero como en sobrenadantes de cultivos de linfocitos aislados de sangre periférica (Daschner *et al.*, 2011; 2013).

Al investigar los niveles de citoquinas en sueros de pacientes diagnosticados de anisakiosis se demuestra que el contacto previo con los antígenos liberados por las larvas vivas de *A. simplex* se asocia con un incremento de las citoquinas reguladoras IL-10 y TGF- β , con valores significativamente más altos en los casos de anisakiosis gastroalérgica. Esto sugiere que el contacto continuado con antígenos del parásito, a través de la ingestión de pescado parasitado con larvas vivas, mimetiza los efectos moduladores de los parasitismos crónicos en individuos genéticamente predispuestos (Daschner *et al.*, 2011; 2013).

Este hecho se confirmó al utilizar sobrenadantes de cultivos de linfocitos de sangre periférica obtenidos de los pacientes donde, tras la estimulación con el antígeno, los valores de la citoquina antiinflamatoria IL-10 fueron superiores en anisakiosis gastroalérgica, mientras que la producción de la citoquina pro-inflamatoria IFN- γ fue mayor en urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis* que en

anisakiosis gastro-alérgica, lo que en otras palabras quiere decir que el fenotipo de anisakiosis gastro-alérgica produce una respuesta anti-inflamatoria mayor que el de urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*, el cual produce más citoquinas pro-inflamatorias (Cuéllar *et al.*, 2012). El aumento de IL-10 estuvo asociado con la mejoría de los síntomas en los pacientes de urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*. Por el contrario, no se observó mejoría en los pacientes que hicieron dieta exenta de pescado que reduciría el contacto con antígenos derivados de las larvas (Daschner *et al.*, 2013).

1.6. Efecto de las co-infecciones

Otro aspecto a tener en cuenta son las infecciones concomitantes o poliparasitismos, donde los diferentes parásitos pueden inducir diferentes respuestas, por ejemplo, un protozoo puede polarizar la respuesta hacia un fenotipo Th1 mientras que los helmintos inducen un fenotipo Th2 o regulador. La cuestión es que la coexistencia de tales parásitos en el mismo hospedador puede influenciar las respuestas inmunológicas frente a las distintas especies afectando la resistencia, la susceptibilidad y las manifestaciones clínicas (Supali *et al.*, 2010). Estos hechos pueden estar también afectando las manifestaciones clínicas de los pacientes tras el contacto con los antígenos larvarios de *A. simplex* dependiendo de la coexistencia de otros agentes infecciosos propios de nuestro entorno.

Por ese motivo, teniendo en cuenta que *Toxoplasma gondii* presenta una elevadísima prevalencia en población asintomática en nuestra región, produciendo infecciones crónicas y que, a su vez, es un organismo asociado con determinadas costumbres dietéticas, al igual que ocurre con *Anisakis*, y que, junto con otros agentes infecciosos, se ha postulado su posible papel protector sobre la atopia en el contexto de la hipótesis de la higiene, se analizó la relación entre ambos agentes en la urticaria crónica, observándose que, en los pacientes con urticaria crónica, *T. gondii* no tiene ningún efecto protector ni sobre la atopia en general ni sobre la sensibilización a *Anisakis*. Es más, se encontró un sinergismo entre ambos parásitos, con potenciación de la urticaria crónica, cuando se presenta una asociación positiva de la infección crónica por *Toxoplasma* con un parasitismo previo por *Anisakis* (Fernández-Fígares *et al.*, 2015).

Al estudiar los niveles de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma* e IgE anti-*Anisakis*, se observó, sorprendentemente, una mayor prevalen-

cia de anticuerpos anti-*Toxoplasma* en los pacientes con urticaria crónica asociada a sensibilización a *Anisakis*, demostrando que los niveles de anticuerpos IgE anti-*A. simplex* se ven potenciados por la presencia de *T. gondii*. Este hecho demuestra que la respuesta Th1 inducida por *T. gondii* es incapaz de inhibir la respuesta Th2 asociada a la parasitación por *A. simplex*. También se observó una asociación muy significativa entre la presencia de IgG anti-*T. gondii* y atopia, considerándose la presencia de IgG anti-*T. gondii* como factor de riesgo para presentar atopia en pacientes con urticaria crónica (Fernández-Fígares *et al.*, 2015).

AGRADECIMIENTOS

Departamento de Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid (Antonio R. Martínez Fernández, Juan González-Fernández, Marta Rodero, Virginia Fernández-Fígares, Vega Zamora). Servicio de Alergia, Hospital Universitario de La Princesa (Álvaro Daschner, Consolación de Frutos, Ana Valls). Laboratorio de Parasitología, Universidad de Santiago de Compostela (Florencio M. Ubeira, Ana Anadón, Fernanda Romarís). Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III (Teresa Gárate, Esperanza Rodríguez, María Jesús Perteguer). Universidad San Pablo, CEU (Carmen del Águila, Soledad Fenoy, Tomás Chivato). University of Cape Town (Andreas Lopata, Natalie Nieuwenhuizen). Norwegian Veterinary Institute (Christiane Kruse Faeste). Hospital Arnau de Vilanova (Juan Carlos Andreu Ballester). Centro de Investigaciones Biológicas (Luis Rivas, Juan Román Luque Ortega). Fundación Mutua Madrileña. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. Fundación Ramón Areces.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguineldo AM, Turbeville JM, Linford LS, Rivera MC, Garey JR, Raff RA, Lake JA. Evidence for a clade of nematodes, arthropods and other moulting animals. *Nature*. 1997;387:489-493.
- Alonso A, Daschner A, Moreno-Ancillo A. Anaphylaxis with *Anisakis simplex* in the gastric mucosa. *N Engl J Med*. 1997;337:350-351.
- Alonso A, Moreno-Ancillo A, Daschner A, López-Serrano MC. Dietary assessment in five cases of allergic reactions due to gastroallergic anisakiasis. *Allergy*. 1999;54:517-520.

- Allen JE, Maizels RM. Diversity and dialogue in immunity to helminths. *Nat Rev Immunol.* 2011;11:375-388.
- Anadón AM, Romarís F, Escalante M, Rodríguez E, Gárate T, Cuéllar C, Ubeira FM. The *Anisakis simplex* Ani s 7 major allergen as an indicator of true *Anisakis* infections. *Clin Exp Immunol.* 2009; 156:471-478.
- Anadón AM, Rodríguez E, Gárate MT, Cuéllar C, Romarís F, Chivato T, Rodero M, González-Díaz H, Ubeira FM. Diagnosing human anisakiasis: recombinant Ani s 1 and Ani s 7 allergens versus the UniCAP 100 fluorescence enzyme immunoassay. *Clin Vaccine Immunol.* 2010;17:496-502.
- Añíbarro B, Seoane FJ. Occupational conjunctivitis caused by sensitization to *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;102: 331-332.
- APROMAR (Asociación Empresarial de productores de Cultivos marinos). Evaluación de la presencia de nematodos del genero *Anisakis* en los pescados de acuicultura marina españoles. 2012.
- Armentia A, Lombardero M, Callejo A, Martín Santos JM, Gil FJ, Vega J, Arranz ML, Martínez C. Occupational asthma by *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;102:831-834.
- Asaishi K, Nishino C, Ebata T, Totsuka M, Hayasaka H, Suzuki T. Studies on the etiologic mechanism of anisakiasis. 1. Immunological reactions of digestive tract induced by *Anisakis* larva. *Gastroenterol Jpn.* 1980;15:120-127.
- Asaishi K, Nishino C, Totsuka M, Hayasaka H, Suzuki T. Studies on the etiologic mechanism of anisakiasis. 2. Epidemiologic study of inhabitants and questionnaire survey in Japan. *Gastroenterol Jpn.* 1980;15:128-134.
- Asturias JA, Eraso E, Martínez A. Cloning and high level expression in *Escherichia coli* of an *Anisakis simplex* tropomyosin isoform. *Mol Biochem Parasitol.* 2000;108:263-267.
- Audicana MT, Kennedy MW. *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21:360-379.
- Audicana MT, Fernández de Corres L, Muñoz D, Fernández E, Navarro JA, del Pozo MD. Recurrent anaphylaxis caused by *Anisakis simplex* parasitizing fish. *J Allergy Clin Immunol.* 1995;96:558-560.

- Audicana MT, Ansotegui IJ, de Corres LF, Kennedy MW. *Anisakis simplex*: dangerous-dead and alive? Trends Parasitol. 2002;18:20-25.
- Ayuso R, Sánchez-García S, Lin J, Fu Z, Ibáñez MD, Carrillo T, Blanco C, Goldis M, Bardina L, Sastre J, Sampson HA. Greater epitope recognition of shrimp allergens by children than by adults suggests that shrimp sensitization decreases with age. J Allergy Clin Immunol. 2010;125:1286-1293.
- Baeza ML, Rodríguez A, Matheu V, Rubio M, Tornero P, de Barrio M, Herrero T, Santaolalla M, Zubeldia JM. Characterization of allergens secreted by *Anisakis simplex* parasite: clinical relevance in comparison with somatic allergens. Clin Exp Allergy. 2004;34:296-302.
- Barbuzza O, Guarneri F, Galtieri G, Gangemi S, Vaccaro M. Protein contact dermatitis and allergic asthma caused by *Anisakis simplex*. Contact Dermatitis. 2009;60:239-240.
- Blaxter M. Nematodes (Nematoda). En: The Timetree of Life. Hedges SB and Kumar S, Eds. Oxford University Press. 2009.
- Blaxter ML, De Ley P, Garey JR, Liu LX, Scheldeman P, Vierstraete A, Vanfleteren JR, Mackey LY, Dorris M, Frisse LM, Vida JT, Thomas WK. A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. Nature. 1998;392:71-75.
- Caballero ML, Umpierrez A, Moneo I, Rodríguez-Pérez R. *Ani s 10*, a new *Anisakis simplex* allergen: cloning and heterologous expression. Parasitol Int. 2011;60:209-212.
- Cooper PJ. Interactions between helminth parasites and allergy. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2009;9:29-37.
- Cuéllar C, Perteguer MJ, De Las Heras B. Effects of *Anisakis simplex* on nitric oxide production in J774 macrophages. Scand J Infect Dis. 1998;30(6):603-606.
- Cuéllar C, Perteguer MJ, Rodero M. Presence of IL-4-like molecules in larval excretory-secretory products and crude extracts from *Anisakis simplex*. Scand J Immunol. 2001;53:483-488.
- Cuéllar C, Fernández-Figares V, Rodero M, Valls A, Frutos C, Daschner A. Cytokine production in gastro-allergic anisakiosis and associated chronic urticaria. European Multicolloquim of Parasitology XI. Cluj-Napoca. 2012.

- Cuéllar C, Daschner A, Valls A, De Frutos C, Fernández-Fígares V, Anadón AM, Rodríguez E, Gárate T, Rodero M, Ubeira FM. *Ani s 1* and *Ani s 7* recombinant allergens are able to differentiate distinct *Anisakis simplex*-associated allergic clinical disorders. Arch Dermatol Res. 2012;304:283-288.
- Cuéllar C, Valls A, De Frutos C, Rodero M, Daschner A. Avidity Studies in *Anisakis simplex*-Associated Allergic Diseases. J Allergy (Cairo). 2013;2013:106781.
- Daschner A, Cuéllar C. The hidden sense of symptoms: urticaria can be beneficial. Med Hypotheses. 2010;75:623-626.
- Daschner A, Alonso-Gómez A, Cabañas R, Suarez-de-Parga JM, López-Serrano MC. Gastroallergic anisakiasis: borderline between food allergy and parasitic disease-clinical and allergologic evaluation of 20 patients with confirmed acute parasitism by *Anisakis simplex*. J Allergy Clin Immunol. 2000;105:176-181.
- Daschner A, Cuéllar C, Alonso-Gómez A, Pascual CY, Martín-Esteban M. Serum CD23 is not altered in gastroallergic anisakiasis, but correlates with the production of specific IgE and the amount of polyclonal stimulation. Allergy. 2001;56:1003-1007.
- Daschner A, Cuéllar C, Sánchez-Pastor S, Pascual CY, Martín-Esteban M. Gastro-allergic anisakiasis as a consequence of simultaneous primary and secondary immune response. Parasite Immunol. 2002;24:243-251.
- Daschner A, Rodero M, De Frutos C, Valls A, Vega F, Blanco C, Cuéllar C. Different serum cytokine levels in chronic vs. acute *Anisakis simplex* sensitization-associated urticaria. Parasite Immunol. 2011;33:357-362.
- Daschner A, Cuéllar C, Rodero M. The *Anisakis* allergy debate: does an evolutionary approach help? Trends Parasitol. 2012;28:9-15.
- Daschner A, Fernández-Fígares V, Valls A, de Frutos C, Rodero M, Ubeira FM, Cuéllar C. Different fish-eating habits and cytokine production in chronic urticaria with and without sensitization against the fish-parasite *Anisakis simplex*. Allergol Int. 2013;62:191-201.
- Daschner A, Fernández-Fígares V, Rodero M, Valls A, De Frutos C, Ubeira FM, Cuéllar C. Specific IgG4: possible role in the pathogenesis and a new marker in the diagnosis of *Anisakis*-associated allergic disease. Scand J Immunol. 2014;79:120-126.

- De Ley P. A quick tour of nematode diversity and the backbone of nematode phylogeny (January 25, 2006), WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, doi / 10.1895 / worm-book.1.41.1, <http://www.wormbook.org>.
- Edgecombe GD. Palaeontological and Molecular Evidence Linking Arthropods, Onychophorans, and other Ecdysozoa. *Evo Edu Outreach*. 2009;2:178–190.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal*. 2010;8:1543-1634.
- Evaluación de la presencia de nematodos del genero *Anisakis* en los pescados de acuicultura marina españoles. Secretaría General del Mar del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino del Gobierno de España. 2012.
- Fernández-Caldas E, Quirce S, Marañón F, Díez Gómez ML, Gijón Botella H, López Román R. Allergenic cross-reactivity between third stage larvae of *Hysterothylacium aduncum* and *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;101:554-555.
- Fernández-Fígares V, Rodero M, Valls A, De Frutos C, Daschner A, Cuéllar C. Positive associations between infections of *Toxoplasma gondii* and seropositivity with *Anisakis simplex* in human patients suffering from chronic urticaria. *J Helminthol*. 2015;89:707-713.
- Fumagalli M1, Pozzoli U, Cagliani R, Comi GP, Riva S, Clerici M, Bresolin N, Sironi M. Parasites represent a major selective force for interleukin genes and shape the genetic predisposition to autoimmune conditions. *J Exp Med*. 2009;206:1395-1408.
- García-Hernández P, Rodero M, Cuéllar C. *Anisakis simplex*: the activity of larval products on the complement system. *Exp Parasitol*. 2007;115:1-8.
- García-Hernández P, Rodero M, Cuéllar C. Study of the effect of *Anisakis simplex* larval products on the early and late components in the classical complement pathway. *J Parasitol*. 2009;95:240-241.
- García-Hernández P, Rodero M, Gisbert-Criado R, Puente P, Pelayo V, Andreu-Ballester JC, Cuéllar C. The effect of anti-*Anisakis simplex* antibody levels on C3 and C4 complement components in human sera. *J Helminthol*. 2012;86:197-201.

- Goldsby RA, Kindt TK, Osborne BA, Kuby J. Immunology, 5th Edition. WH Freeman and Company. New York. New York. 2003.
- González-Fernández J, Perteguer MJ, Gárate T, Myrset HR, Egaas E, Rodero M, Daschner A, Cuéllar C. ¿Es la tropomiosina de *Anisakis simplex* un panalergeno alimentario? XVIII Congreso de la Sociedad Española de Parasitología. Gran Canaria. 2013.
- González-Fernández J, Rodero M, Daschner A, Cuéllar C. New insights into the allergenicity of tropomyosin: a bioinformatics approach. Mol Biol Rep. 2014;41:6509-6517.
- González-Fernández J, Daschner A, Nieuwenhuizen NE, Lopata AL, Frutos CD, Valls A, Cuéllar C. Haemoglobin, a new major allergen of *Anisakis simplex*. Int J Parasitol. 2015;45:399-407.
- González-Fernández J, Morente Fontela M, Rodero M, Daschner A, Cuéllar C. Estudio *in silico* de la reactividad cruzada de la tropomiosina de *Anisakis simplex* basado en la predicción de epitopos B. XIX Congreso de la Sociedad Española de Parasitología (SOCEPA) II Encuentro Internacional de Parasitólogos de España, Francia, Italia y Portugal. Vitoria. 2015.
- González-Fernández J, Veleiro B, Daschner A, Cuéllar C. Are fish tropomyosins allergens? Ann Allergy Asthma Immunol. 2016;116:74-76.
- Jackson JA, Friberg IM, Little S, Bradley JE. Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: immunity against helminths and immunological phenomena in modern human populations: coevolutionary legacies? Immunology. 2009;126:18-27.
- Johansson E, Aponno M, Lundberg M, van Hage-Hamsten M. Allergenic cross-reactivity between the nematode *Anisakis simplex* and the dust mites *Acarus siro*, *Lepidoglyphus destructor*, *Tyrophagus putrescentiae*, and *Dermatophagoides pteronyssinus*. Allergy. 2001;56:660-666.
- Kasuya S, Hamano H, Izumi S. Mackerel-induced urticaria and *Anisakis*. Lancet. 1990;335:665.
- Khan AR, Fallon PG. Helminth therapies: translating the unknown unknowns to known knowns. Int J Parasitol. 2013;43:293-299.
- Kobayashi Y, Ishizaki S, Shimakura K, Nagashima Y, Shiomi K. Molecular cloning and expression of two new allergens from *Anisakis simplex*. Parasitol Res. 2007;100:1233-1241.

- Kobayashi Y, Shimakura K, Ishizaki S, Nagashima Y, Shiomi K. Purification and cDNA cloning of a new heat-stable allergen from *Anisakis simplex*. *Mol Biochem Parasitol*. 2007;155:138-145.
- Kobayashi Y, Ohsaki K, Ikeda K, Kakemoto S, Ishizaki S, Shimakura K, Nagashima Y, Shiomi K. Identification of novel three allergens from *Anisakis simplex* by chemiluminescent immunoscreening of an expression cDNA library. *Parasitol Int*. 2011;60:144-150.
- Kobayashi Y, Kakemoto S, Shimakura K, Shiomi K. Molecular Cloning and Expression of a New Major Allergen, *Ani s 14*, from *Anisakis simplex*. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. 2015;56:194-199.
- Leles D, Gardner SL, Reinhard K, Iñiguez A, Araujo A. Are *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* a single species? *Parasit Vectors*. 2012;5:42.
- London D, Hruschka D. Helminths and human ancestral immune ecology: What is the evidence for high helminth loads among foragers? *Am J Hum Biol*. 2014;26:124-129.
- Lopez I, Pardo MA. Evaluation of a real-time polymerase chain reaction (PCR) assay for detection of *Anisakis simplex* parasite as a food-borne allergen source in seafood products. *J Agric Food Chem*. 2010;58:1469-1477.
- Loreille O, Bouchet F. Evolution of ascariasis in humans and pigs: a multi-disciplinary approach. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2003; 98: 39-46.
- Mattiucci S, Nascetti G. Advances and trends in the molecular systematics of anisakid nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host-parasite co-evolutionary processes. *Adv Parasitol*. 2008;66:47-148.
- Mattiucci S, Paoletti M, Webb SC. *Anisakis nascettii* n. sp. (Nematoda: Anisakidae) from beaked whales of the southern hemisphere: morphological description, genetic relationships between congeners and ecological data. *Syst Parasitol*. 2009;74:199-217.
- Moneo II, Caballero ML, Gómez F, Ortega E, Alonso MJ. Isolation and characterization of a major allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;106:177-182.
- Mossali C, Palermo S, Capra E, Piccolo G, Botti S, Bandi C, D'Amelio S, Giuffra E. Sensitive detection and quantification of Anisakid parasite residues in food products. *Foodborne Pathog Dis*. 2010;7:391-397.

- Nieuwenhuizen N, Lopata AL, Jeebhay MF, Herbert DR, Robins TG, Brombacher F. Exposure to the fish parasite *Anisakis* causes allergic airway hyperreactivity and dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117:1098-1105.
- Nieuwenhuizen NE, Meter JM, Horsnell WG, Hoving JC, Fick L, Sharp MF, Darby MG, Parihar SP, Brombacher F, Lopata AL. A cross-reactive monoclonal antibody to nematode haemoglobin enhances protective immune responses to *Nippostrongylus brasiliensis*. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7:e2395.
- Ojha SC, Jaide C, Jinawath N, Rotjanapan P, Baral P. Geohelminths: public health significance. *J Infect Dev Ctries.* 2014;8:5-16.
- Pérez-Pérez J, Fernández-Caldas E, Marañón F, Sastre J, Bernal ML, Rodríguez J, Bedate CA. Molecular cloning of paramyosin, a new allergen of *Anisakis simplex*. *Int Arch Allergy Immunol.* 2000;123:120-129.
- Perteguer MJ, Rodero M, Flores JM, Dórea RC, Cuéllar C. Cellular immune responses in mice immunized with *Anisakis simplex* larval antigens. *Parasitol Res.* 2001;87:396-404.
- Perteguer MJ, Cuéllar C, Guillén JL, Aguila C, Fenoy S, Chivato T, Laguna R. Cross-reactivity between *Anisakis simplex* sensitization and visceral larva migrans by *Toxocara canis*. *Acta Trop.* 2003; 89:85-89.
- Puente P, Anadón AM, Rodero M, Romarís F, Ubeira FM, Cuéllar C. *Anisakis simplex*: the high prevalence in Madrid (Spain) and its relation with fish consumption. *Exp Parasitol.* 2008;118:271-274.
- Real Decreto 1420/2006, de 1 de diciembre, sobre prevención de la parasitosis por *Anisakis* en productos de la pesca suministrados por establecimientos que sirven comida a los consumidores finales o a colectividades.
- REGLAMENTO (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal.
- Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M, Gómez-Aguado F, Rodríguez-Pérez R, Corcuera MT, Caballero ML, Moneo I. Cloning and characterisation of the *Anisakis simplex* allergen *Ani s 4* as a cysteine-protease inhibitor. *Int J Parasitol.* 2007;37:907-917.

- Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M, Moneo I, Solas MT, Mendizábal A, de las Heras C, Tejada M. Allergenic properties and cuticle microstructure of *Anisakis simplex* L3 after freezing and pepsin digestion. *J Food Prot.* 2008;71:2578-2581.
- Rodríguez-Mahillo AI, González-Muñoz M, de las Heras C, Tejada M, Moneo I. Quantification of *Anisakis simplex* allergens in fresh, long-term frozen, and cooked fish muscle. *Foodborne Pathog Dis.* 2010;7:967-973.
- Rodriguez-Perez R, Moneo I, Rodriguez-Mahillo A, Caballero ML. Cloning and expression of *Ani s 9*, a new *Anisakis simplex* allergen. *Mol Biochem Parasitol.* 2008;159:92-97.
- Rook GA. Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: the broader implications of the hygiene hypothesis. *Immunology.* 2009;126:3-11.
- Sakanari JA. *Anisakis*-from the platter to the microfuge. *Parasitol Today.* 1990;6:323-327.
- Santiago HC, Bennuru S, Boyd A, Eberhard M, Nutman TB. Structural and immunologic cross-reactivity among filarial and mite tropomyosin: implications for the hygiene hypothesis. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127:479-486.
- Sastre J, Lluch-Bernal M, Quirce S, Arrieta I, Lahoz C, Del Amo A, Fernández-Caldas E, Marañón F. A double-blind, placebo-controlled oral challenge study with lyophilized larvae and antigen of the fish parasite, *Anisakis simplex*. *Allergy.* 2000;55:560-564.
- Shakib F, Ghaemmaghami AM, Sewell HF. The molecular basis of allergenicity. *Trends Immunol.* 2008;29:633-642.
- Simons FE, Arduzzo LR, Bilò MB, El-Gamal YM, Ledford DK, Ring J, Sanchez-Borges M, Senna GE, Sheikh A, Thong BY; World Allergy Organization. World allergy organization guidelines for the assessment and management of anaphylaxis. *World Allergy Organ J.* 2011;4:13-37.
- Supali T, Verweij JJ, Wiria AE, Djuardi Y, Hamid F, Kaisar MM, Wammes LJ, van Lieshout L, Luty AJ, Sartono E, Yazdanbakhsh M. Polyparasitism and its impact on the immune system. *Int J Parasitol.* 2010;40:1171-1176.
- Vidacek S, de las Heras C, Solas MT, Mendizábal A, Rodriguez-Mahillo AI, Tejada M. Antigenicity and viability of *Anisakis larvae*

infesting hake heated at different time-temperature conditions. *J Food Prot.* 2010;73:62-68.

- Wammes LJ, Mpairwe H, Elliott AM, Yazdanbakhsh M. Helminth therapy or elimination: epidemiological, immunological, and clinical considerations. *Lancet Infect Dis.* 2014;14:1150-1162.
- Yazdanbakhsh M, Kremsner PG, van Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science.* 2002;296:490-494.
- Zamora V, Rodero M, Méndez S, Cuéllar C. *Anisakis simplex* excretory-secretory products induce the expansion of T regulatory murine cells. *Congrés conjoint Sociétés Française & Espagnole de Parasitologie.* Dijon. 2013.
- Zohar I, Biton R. Land, lake, and fish: Investigation of fish remains from Gesher Benot Ya'aqov (paleo-Lake Hula). *J Hum Evol.* 2011; 60:343-356.
- Zugarramurdi A, Parín MA, Lupin HM. *Ingeniería económica aplicada a la industria pesquera.* Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 1998.

**BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LOS VERRACOS DE LOS
CENTROS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL PARA
POTENCIAR SU CAPACIDAD REPRODUCTIVA**

ILMO. SR. DR. D. RAÚL SÁNCHEZ SÁNCHEZ
Académico Correspondiente de la RACVE
20 de junio de 2016

Texto no disponible

**ALGUNOS ASPECTOS HISTÓRICOS MENOS CONOCIDOS
DE LAS ENSEÑANZAS Y TITULACIONES ZOOTÉCNICAS
EN ESPAÑA**

EXCMO. SR. DR. D. AMALIO DE JUANA SARDÓN

Académico de Número de la RACVE

27 de junio de 2016

Texto no disponible

**CÉLULAS TUMORALES CIRCULANTES COMO
BIOMARCADOR PREDICTIVO Y SUBROGADO
PARA ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL EN
CÁNCER DE PECHO**

DISCURSO DE INGRESO ACADÉMICO CORRESPONDIENTE
EXTRANJERO

ILMO. SR. DR. D. JAMES M. REUBEN, PhD, MBA

Profesor de la División de Patología del

Departamento de Hematopatología,

The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas

(EE.UU)

26 de septiembre de 2016

Texto no disponible

PRIMER “CORPUS LEXICOGRÁFICO” DE TÉRMINOS HISTÓRICOS DE LA ALBEITERÍA ESPAÑOLA

EXCMO. SR. DR. D. LUIS ÁNGEL MORENO FERNÁNDEZ-CAPARRÓS
Académico de Número y Presidente de la Sección 5ª de la RACVE
10 de octubre de 2016

Conviene precisar que la idea de este trabajo, que hoy presentamos como conferencia en la sede de la RACVE, se fue conformando a lo largo del año 2006 cuando en la revista *Información Veterinaria* apareció un artículo con el sugerente título de «Tesoros de la Historia de la Veterinaria: Los diccionarios». A partir de esa fecha se fueron sentando las bases para ir confeccionando un diccionario de términos veterinarios históricos y en desuso extraídos de las obras de Albeitería. Fue en el año 2010 cuando esta idea cobró mayor intensidad, y lo hizo precisamente en el seno de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España (RACVE) donde prendió con interés este proyecto. Esta circunstancia fue el motivo para que el día 13 de enero del año 2014 la Real Academia de Ciencias Veterinarias tomase la iniciativa para organizar una mesa redonda sobre «Términos veterinarios en desuso». La sesión sirvió para intentar analizar los términos históricos que aparecen en las obras de albeitería y también, como objetivo secundario, para sentar las bases metodológicas para la redacción de un diccionario que recoja los términos históricos que se han venido utilizando en el ámbito de la medicina veterinaria y, por extensión, aquellos otros de la zootecnia, ganadería y del entorno popular que han ido desapareciendo de la lexicogra-

fía profesional, ya sea por tener poco uso o por ser excesivamente locales.

Es de justicia reconocer que con anterioridad otros ilustres veterinarios ya realizaron interesantes recopilaciones de palabras específicas del entorno veterinario. Es innegable que sus trabajos han servido de punto de arranque para la confección del documento de trabajo que se expone en esta intervención.

En concreto, la Sección 5º, Historia de la Veterinaria, estimulada por estos antecedentes, ha asumido entre sus objetivos acometer la redacción de un diccionario de términos históricos utilizados en las obras de Albeitería. El trabajo se encuentra muy adelantado y ya se han superado las 1200 palabras.

La conferencia les desvelará el camino seguido para la recuperación del rico acervo lexicográfico del Arte de la Albeitería para engrandecimiento de las Ciencias Veterinarias. Hoy presentamos el primer corpus lexicográfico que nace en el seno de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España.

EL CONTROL DE LOS BIOFILMS: UN RETO PARA LA CIENCIA Y LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

DRA. D.^a BELÉN ORGAZ MARTÍN

Profesora Contratada Doctor

Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos

Facultad de Veterinaria – Universidad Complutense de Madrid

16 de noviembre de 2016

Los biofilms son comunidades microbianas agregadas entre sí y localizadas en interfases. El paso del modo de vida libre o planctónica al fijo o sésil de los biofilms, implica un cambio de fenotipo, que abarca por ejemplo la producción de materiales extracelulares adhesivos, la pérdida de apéndices de movilidad y el cambio a un metabolismo más anaerobio. Están considerados el modo de vida más exitoso ampliamente distribuido (dominante) en la Tierra en ambientes reales, tanto naturales, donde llevan a cabo importantes procesos biogeoquímicos como en ambientes industriales. De hecho, el modo de vida planctónico (la base de la microbiología clásica) parece ser más bien excepcional en la naturaleza, cuando los nutrientes son muy abundantes o cuando, al revés, se han agotado y las células adheridas se desprenden y dispersan para colonizar nuevos nichos. Hasta ahora no se ha descrito ninguna superficie, ya sea natural o artificial, sobre la que no puedan formarse biofilms (aunque sea de forma lenta en algunos casos). Los biofilms pueden adoptar estructuras muy diversas, dependientes de las especies integrantes, la superficie sobre la cual se adhieren y la velocidad de

flujo de los fluidos circundantes, en definitiva, del entorno donde se formen (Costerton y col. 1995; Costerton, 2007).

Existen biofilms de utilidad práctica, como los que se usan como forma natural de inmovilización de microorganismos para el tratamiento de efluentes, de vertidos o bien la producción de compuestos de interés, como alimentos (vinagre) y aditivos. Todos los organismos superiores, incluyendo los seres humanos estamos colonizados por microorganismos que tienen un papel protector muy importante. Sin embargo, son los perjudiciales los que centran la atención por las repercusiones que tiene su presencia, tanto en entornos clínicos como en entornos industriales, entre ellos el alimentario. En el primer caso, se asocian con infecciones persistentes en plantas y animales, incluyendo humanos, con la contaminación de implantes y otro tipo de dispositivos médicos, como catéteres, marcapasos y sondas. Se estima que el 80 % de las infecciones humanas tratadas en países desarrollados, están causadas por biofilms (*e.g.* caries dental, periodontitis, infecciones del tracto genitourinario y aquellas asociadas a la colonización de dispositivos médicos) (Donlan y Costerton, 2002). Además, son responsables de la contaminación de algunos alimentos y del agua de bebida así como del deterioro de equipos.

PROCESO DE FORMACIÓN DE BIOFILMS

La formación del biofilm se inicia cuando bacterias que están en suspensión contactan con una superficie y comienzan a adherirse, primero de forma reversible, es decir, mediante uniones débiles que pueden romperse aplicando escasa energía (p. ej. En esta etapa un simple lavado sería suficiente para eliminarlas). Si las células quedan finalmente adheridas, estas uniones se van fortaleciendo, transformándose en uniones fuertes de carácter irreversible. Esto va acompañado del aumento de la producción de sustancias extracelulares adhesivas que las anclan firmemente a las superficies y entre ellas dando lugar a la formación de densas estructuras denominadas microcolonias. La microcolonia se considera la unidad estructural básica de los biofilms. La maduración del biofilm es una etapa donde suceden varios procesos a la vez: la multiplicación celular, la incorporación de nuevas células desde el medio y el aumento de la producción de matriz, que generalmente resulta del aumento del espesor del biofilm. Este proceso, lejos de ser azaroso, está regulado y se apoya en un sofisticado sistema de comunicación celular (*quorum sensing*).

Las células del biofilm pueden escapar mediante procesos pasivos, es decir, debidos a fuerzas externas que provocan que se desprendan o bien células o bien fragmentos íntegros de biofilm. Los más importantes son la desorción que tiene lugar durante las primeras etapas de formación del biofilm, cuando las células aún no están firmemente adheridas a la superficie y el desprendimiento, que puede ser debido por ejemplo a la colisión de partículas contra el biofilm (denominado en este caso abrasión), la erosión, los cambios a flujos donde el rozamiento es elevado o cuando hay elementos externos que producen fricción. El escape activo del biofilm, es lo que específicamente se denomina dispersión y se caracteriza por un cambio fenotípico que permite a las células abandonar el biofilm. Este cambio normalmente se desencadena cuando las células sienten determinadas señales que a través de mecanismos de regulación se traducen en cambios fisiológicos que facilitan su liberación. Las moléculas señal pueden ser producidas por el propio microorganismo, como consecuencia de cambios en el entorno, como la escasez de nutrientes (Petrova y Sauer, 2016). Se ha visto que algunos de estos cambios dan lugar a la producción de enzimas que degradan la matriz, fenómeno caracterizado por la aparición de agujeros en la estructura y denominado dispersión de semillas (del inglés *seeding dispersal*). También parece clave, el papel del 3,5-diguanilato cíclico (c-di-GMP) como interruptor que regula la transición del modo de vida adherido al planctónico. Niveles elevados de este segundo mensajero intracelular promueven la formación de biofilm mientras que bajos niveles se relacionan con la vuelta al estado planctónico (Jenal and Malone, 2006). Así, la dispersión activa convierte a los biofilms en un foco constante de diseminación de microorganismos a otras localizaciones.

A la compleja regulación del proceso de formación de los biofilms, hay que sumarle todos aquellos factores que pueden influenciarle. Entre ellos, características propias del sustrato, del medio en que se forman y los de los microorganismos que lo integran. Además, en un mismo biofilm pero en distintas localizaciones del mismo, puede haber células que se encuentren en distintos estados de desarrollo y por tanto con perfiles fenotípicos distintos.

VENTAJAS DE VIVIR EN BIOFILMS

La formación de biofilms desde un punto de vista metabólico es pues un proceso muy costoso. Además, las células alojadas en estas estructuras están sometidas a condiciones estresantes y no siempre óptimas. Cabe preguntarse pues ¿por qué los biofilms son tan exitosos?.

En definitiva, ¿qué rasgos les diferencian de la vida como células en suspensión y cuáles son las ventajas de vivir en una comunidad?

La matriz de los biofilms

El primer elemento claramente diferenciador entre el modo de vida plantónico y el adherido es la matriz. Aunque su composición es variable porque depende de factores como la/s especie/s integrantes, el medio de cultivo y el sistema utilizado para desarrollar los biofilm entre otros, se ha estimado que hasta un 97% de la misma es agua, junto con sustancias poliméricas extracelulares (EPS) que producen los microorganismos (Flemming y Wingender, 2010). Entre los componentes mayoritarios de estas EPS están polisacáridos, proteínas y ADN extracelular (eADN). Recientemente ha cobrado importancia el papel de este último como elemento clave tanto para la adhesión como para el mantenimiento de la estructura del biofilm (Harmsen y col. 2010).

En definitiva, la matriz es una red polimérica que retiene grandes cantidades de agua en su interior, es decir un gel viscoso que engloba las células. Una de sus funciones por tanto es actuar de soporte físico de las células que forman parte del biofilm. Además, al actuar como un hidrogel que retiene agua, protege a las células frente a condiciones ambientales adversas, como la desecación. Desde un punto de vista de la reología, los biofilms se consideran fluidos viscoelásticos. Esto les otorga una plasticidad estructural que, entre otras cosas, permite que puedan adaptarse rápidamente a los cambios externos. Por ejemplo, se ha descrito que en presencia de estrés hidrodinámico intenso, se generan fragmentos de biofilm móviles (*streamers*) que facilitan la colonización de otras superficies. La estructura abierta de la matriz permite el intercambio de nutrientes, gases y otras moléculas del ambiente de bajo peso molecular mediante fenómenos de difusión pasiva. Además, la presencia de grupos cargados positiva y negativamente permite la retención de sustancias que se acumulan en la matriz. Esto posibilita el desarrollo de biofilms en ambientes oligotróficos. Entre los compuestos retenidos es fundamental el papel de las enzimas. Muchas de ellas serán responsables de la inactivación de agentes antimicrobianos y de las reacciones de deterioro en los alimentos al desprenderse fragmentos de biofilms (Jahid y Ha, 2014).

Por último, la propia matriz puede ser utilizada como alimento por las células. Cuando estas se lisan, sus productos de desecho permanecen retenidos en la matriz y pueden convertirse en una fuente de nu-

trientes para las células restantes (Flemming y col. 2016). En definitiva, la matriz no es un mero soporte sino que tiene una función muy activa en la preservación de los biofilms.

Comunidades estructuradas

Otra de las grandes diferencias entre los microorganismos en suspensión y los biofilms es que estos últimos forman comunidades altamente estructuradas. Hasta que en 1991 el grupo de Lawrence y col (1991) consiguieran las primeras imágenes de un biofilm mediante microscopía confocal (CLSM), se consideraba que los biofilms eran meras asociaciones desestructuradas de células pegadas a las superficies. Con los avances en microscopía, se demostró que estas comunidades tenían una compleja arquitectura en 3 dimensiones. Los trabajos pioneros empleaban como microorganismo modelo productor de biofilm a *Pseudomonas aeruginosa*. Este microorganismo, es el principal colonizador del epitelio pulmonar de los enfermos de fibrosis quística. Pues bien, los biofilms de *P. aeruginosa* presentaban una estructura que morfológicamente se asemejaba a los champiñones. Otras especies del género *Pseudomonas* también se organizan siguiendo este patrón, como se observa en esta imagen de CLSM obtenida por nuestro grupo y perteneciente a un biofilm maduro de *P. fluorescens* (Figura 1).

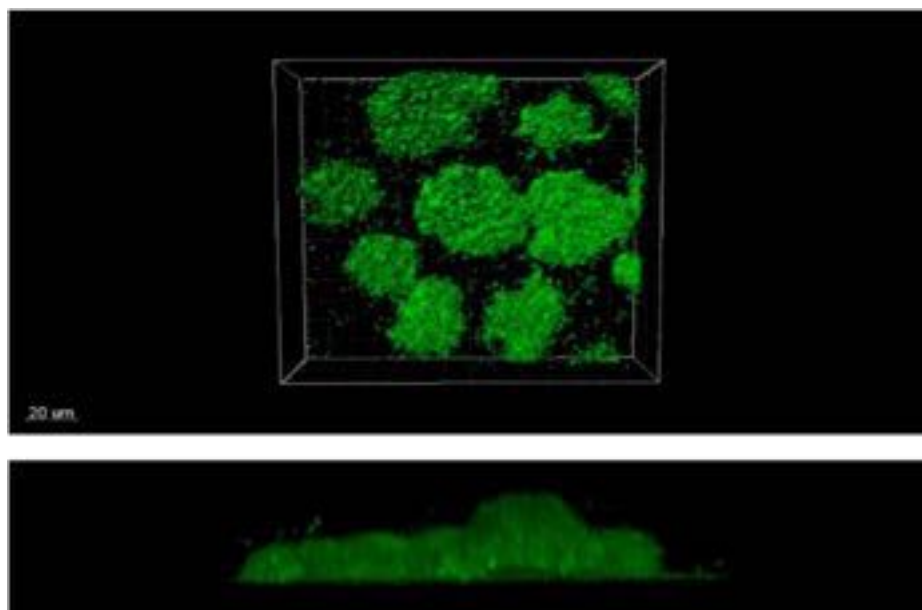


Figura 1. Imagen propia de microscopía confocal (CLSM) de un biofilm de 48 h de *Pseudomonas fluorescens* B52. Las células fueron teñidas con Syto.

Así que durante casi 25 años se aceptó que esta estructura era común a todos los biofilms. Sin embargo, a día de hoy se han descrito patrones estructurales muy diversos, que dependen de multitud de factores, entre ellos el o los microorganismos integrantes, la velocidad y el tipo de flujo (laminar o turbulento), los nutrientes y la temperatura de desarrollo. Todos estos patrones sin embargo, tienen en común que parecen responder a una organización regulada. Es decir, la estructura no es aleatoria sino que la forma en que se organizan células y matriz y la distribución de las especies en biofilms mixtos están perfectamente orquestadas. Además, la arquitectura/estructura que adoptan los biofilms condiciona en parte su fortaleza. De hecho, estudios recientes relacionan estrechamente la estructura que adoptan los biofilms con su resistencia a distintos tipos de estrés (Bridier y col. 2010).

La estructuración en capas tiene varias consecuencias. Entre ellas, que la difusión a través del entramado células-matriz está en parte limitada. En ambientes donde hay oxígeno disuelto, las capas superiores del biofilm son aerobias. En ellas, el consumo de oxígeno por parte de los microorganismos aerobios es más rápido que su velocidad de difusión, lo que da lugar a la existencia de zonas anaerobias en las capas profundas. Además de limitación de oxígeno, en estas capas hay condiciones muy severas de escasez de nutrientes y acumulación de productos de desecho. Esto genera la existencia de micronichos a lo largo de la estructura, que promueven la diversidad genética y fenotípica y por ende la adaptación de las células a distintos ambientes (Costeron, 2007).

Así, las bacterias que forman parte del mismo biofilm pueden tener distintos niveles de estrés, distinta velocidad de crecimiento y estar en estados fisiológicos distintos (Serra y Hengge, 2014). Habrá células viables y cultivables, células muertas, pero una gran parte de la población de un biofilm se estima que está en fase estacionaria o en fase de latencia. Las células en estado de latencia, viables no cultivables (VBNC) y persistoras (variantes fenotípicas de una población normal que resultan tolerantes a los antibióticos) pese a que mantienen indicadores de viabilidad, al no multiplicarse no se ven afectados por compuestos cuya actividad reside en actuar sobre distintas dianas que atañen precisamente a la multiplicación (Lewis, 2005). Las consecuencias de esto son, que por un lado hay una parte de la población de los biofilms que se está infravalorando y que tras un tratamiento una parte importante de la población que no ha sido dañada, en condiciones favorables puede repoblar el biofilm.

Puga y col. (2016a) evaluaron la capacidad de recuperación de biofilms desarrollados en condiciones favorables y en condiciones de estrés por frío tras tratarlos con quitosano, un antimicrobiano de origen natural. Los resultados mostraron que los biofilms desarrollados en frío se recuperaban de forma más eficiente que los desarrollados a 20°C, sugiriendo que en los primeros podría haber mayor población de células persistoras. Además, secciones transversales de imágenes de CLSM de estos biofilms mostraron que las células situadas en las capas más enterradas de la estructura se recuperaban antes, precisamente aquellas sujetas a condiciones más estresantes.

Este hecho, tiene importantes implicaciones en entornos reales, donde la mayor parte de los biofilms que se forman integran distintas especies. En estos casos es de prever que aquellas especies localizadas en las capas profundas estén más protegidas frente a los daños físico-químicos. Puga y col. (2014) evidenciaron mediante CLSM que en biofilms mixtos con *P. fluorescens*, *Listeria monocytogenes* se localizaba preferentemente en las capas profundas de los biofilms. Otros autores han descrito resultados similares con cepas de *Staphylococcus aureus* y *Legionella* que se alojan en biofilms mixtos bajo el cobijo de otras especies (Bridier y col. 2012; Stewart y col. 2012).

La resistencia de los patógenos tendría pues que ser considerada en relación a las interacciones ecológicas y las estructuras que pueden formar con las especies con las que conviven.

Comunicación dentro del biofilm

El estrecho contacto célula-célula y la elevada densidad celular en los biofilms potencian los fenómenos de comunicación celular. Las bacterias se comunican entre ellas y con otras a través (entre otras cosas) de señales químicas difusibles que ellas mismas producen, denominadas autoinductores (AI). Cuando las células perciben cierta concentración umbral de estos AI se desencadena una cascada de reacciones que da lugar a la expresión coordinada de determinados genes, entre ellos muchos que codifican factores de virulencia. Esta concentración umbral se alcanza al llegar la población a una densidad celular crítica, de ahí que este mecanismo se denomine *quorum sensing* (QS). Hasta el momento se han descrito multitud de moléculas señal que participan en la comunicación intraespecie. Es el caso de las acilhomoserín-lactonas (AHL) en Gram- negativas y los oligopéptidos de diferentes longitudes y con distintas sustituciones como autoinductores de Gram-positivas.

Además, existen señales como el autoinductor II (AI-II), consideradas “universales” y responsables de la comunicación interespecie y entre reinos.

Evidentemente el biofilm es un entorno que facilita la señalización intercelular, ya que permite que las señales se concentren. En entornos abiertos, es menos probable que se alcance una concentración de señales suficiente para desencadenar determinadas respuestas. De hecho, muchos fenotipos que responden a mecanismos de QS solo se han observado en biofilms (Flemming y col. 2016).

Bienes comunes y compartidos

De todo esto se desprende que evidentemente vivir en comunidad en términos generales resulta beneficioso, aunque tenga un coste. De hecho, la mayoría de los biofilms que se forman naturalmente no están constituidos por una sola especie sino que son comunidades donde conviven especies no necesariamente filogenéticamente similares e incluso especies que pueden resultar a priori incompatibles. Las interacciones sociales en los biofilms pueden ser de cooperación o competición o de ambos entre las especies integrantes (Elias y Banin, 2012). La estructura que adoptan estas especies en los biofilms mixtos es determinante de las relaciones ecológicas que se establecen entre ellos y en ocasiones da lugar a la división de papeles entre las especies integrantes. Es tal la complejidad de estas interacciones que Nadell y col. (2009) propusieron el término “*la sociobiología de los microorganismos*” para referirse a esto.

Además la vida en comunidad permite a las especies integrantes que se beneficien de la existencia de lo que se conoce como bienes comunes, es decir, los recursos disponibles para todos los miembros de la comunidad independientemente de quien/es los produzcan. Por ejemplo, en ambientes donde la concentración de hierro libre es baja, determinadas bacterias secretan sideróforos, que son compuestos con una elevada afinidad por este elemento. Estos compuestos estarían así a disposición del resto de los miembros de la comunidad. Es por ello que en ocasiones algunas infecciones son causadas por cepas que no tienen de forma aislada la capacidad de producir sideróforos u otros factores de virulencia, es decir, aisladamente se podrían considerar cepas avirulentas, pero no así asociadas con otras. Esto está en parte revolucionando la forma de abordar la patogénesis (Xavier, 2016). La disponibilidad de bienes comunes, favorece la aparición de microorganismos *tramposos* (*cheaters*) es decir, individuos que no los producen, luego no gastan

energía pero se benefician del recurso. La matriz también se puede considerar un bien común. De hecho, muchas especies, como *L. monocytogenes*, cuya producción de matriz es muy escasa se benefician de la presencia de otras especies súper productoras como *Pseudomonas* (Puga *et al.*, 2014). Se puede decir, que en general, este estilo de vida es particularmente ventajoso para aquellos organismos que aisladamente quizás tendrían pocas oportunidades de persistir en entornos reales.

BIOFILMS COMO FORMA DE RESISTENCIA

La complejidad de estas comunidades microbianas contrasta con la ausencia de estrategias específicas para su control. De hecho, las opciones disponibles para combatirlos siguen siendo, con algunas excepciones, las que teníamos para las células en suspensión. Así, los biofilms se han convertido en una nueva forma de resistencia, cuyo origen es multifactorial. Inicialmente, la mayoría de los estudios que evaluaban la acción de agentes antimicrobianos sobre biofilms, atribuían su falta de eficacia a problemas de difusión de los mismos a través de la matriz. En algunos casos esto se ha comprobado que es así. Por ejemplo muchos compuestos cargados positivamente, entre ellos los aminoglucósidos y las sales de amonio cuaternarias pueden interaccionar con polisacáridos ácidos de la matriz con carga negativa y quedar retenidos. También se ha visto que enzimas retenidas en la matriz, como las β -lactamasas producidas por, entre otros, *P. aeruginosa*, pueden hidrolizar antibióticos β -lactámicos, bloqueando su acción. Evidentemente todo esto hace que a determinadas localizaciones lleguen concentraciones sub-inhedoras que favorecen la adaptación de las células, que terminan por hacerse tolerantes (Lebeaux y col. 2014).

Sin embargo, muchos compuestos que difunden sin problema a través de la matriz tampoco consiguen el efecto deseado. Es decir, que junto con la matriz, la baja tasa de crecimiento de algunas células en capas profundas y la presencia de células persistoras también contribuyen a la resistencia de los biofilms (Lewis, 2005; Gefen y Balaban, 2009). Además, el estrecho contacto célula-célula favorece la transferencia genética horizontal. Muchos elementos móviles como plásmidos se acumulan en la matriz, además del ADN extracelular que puede ser un recurso más para la adquisición de genes de resistencia y genes que codifican factores de virulencia o resistencia al estrés.

En el contexto de la salud humana, lo que más preocupa de los biofilms es su habilidad para sobrevivir tras la exposición a agentes

antimicrobianos, fundamentalmente antibióticos. En el contexto de la industria alimentaria, la presencia de biofilms no es menos preocupante.

BIOFILMS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

El establecimiento de biofilms en las instalaciones de la industria alimentaria en la mayoría de los casos da lugar a problemas ya sean de tipo técnico, dañando equipos y dando lugar a pérdidas de calidad en el proceso y de tipo sanitario, debido a la proliferación y probable transferencia de microorganismos a los alimentos, junto con todo aquello que queda retenido en la matriz, incluyendo enzimas y señales de comunicación celular (Srey y col. 2013).

La industria alimentaria es un alojamiento privilegiado y a la vez hostil para los microorganismos. Privilegiado porque la materia prima que se procesa son alimentos. Sus nutrientes sirven como aporte de energía para los microorganismos y pueden intervenir en el proceso de adhesión, ya sea favorable o desfavorablemente, acondicionando las superficies. Hostil, porque las condiciones de una planta de procesamiento de alimentos no son las idóneas para la proliferación microbiana. A las bajas temperaturas, pH ácidos y desecación hay que añadir las operaciones habituales de limpieza y desinfección. Todo ello conlleva que los microorganismos que están en una planta, es decir, la microbiota residente, están muy adaptados a estas condiciones de estrés y probablemente a otras que se les puedan presentar, ya que es bien sabido que la resistencia que se adquiere frente a un determinado tipo de estrés conduce a una protección cruzada frente a otros. Si además, parte de estos microorganismos está formando biofilms en partes de equipos o localizaciones de la planta difíciles de limpiar, el problema se agrava porque muchos de ellos, incluyendo aquí, microorganismos patógenos terminan por establecerse de forma permanente. Evidentemente, el diseño de plantas y equipos, el tipo de superficie (abierta o cerrada) así como las operaciones de mantenimiento, pueden minimizar o potenciar la formación de biofilms (San José y Orgaz, 2010).

Importancia del entorno industrial en la formación de biofilms

Como ya se apuntó anteriormente, los biofilms mixtos son prevalentes en los entornos reales, incluyendo la industria alimentaria. En estos sistemas multiespecie, la interacción entre los integrantes modifica el comportamiento global del biofilm, apareciendo nuevos fenotipos fruto de la interacción. Algunos de ellos les hacen más resistentes (San-

chez-Vizuete y col. 2015). Pese a lo trascendente de esto, el papel de la interacción en la capacidad de determinadas cepas para persistir en la industria alimentaria ha sido aún poco explorado. Existen evidencias de que cepas consideradas persistentes de *L. monocytogenes* tienen factores intrínsecos que probablemente les benefician frente a otras. Por ejemplo, algunas de ellas incorporan en su genoma secuencias de profagos que les confieren resistencia al estrés (Verghese y col. 2010) y existen evidencias de que se recuperan más rápido frente a los tratamientos con biocidas que las cepas consideradas esporádicas (Orgaz *et al.*, 2013). Sin embargo, en estudios posteriores, observamos que estas mismas cepas no persistentes, pero en biofilms mixtos con *Pseudomonas*, un acompañante habitual de *L. monocytogenes* en las instalaciones alimentarias, se comportaban de forma idéntica a las persistentes. Así pues, los factores extrínsecos (en este caso las especies acompañantes) podrían ser más importantes para las cepas esporádicas, a efectos de supervivencia en una determinada ubicación (Puga y col., 2015).

Además de la compañía, el frío es otro de los factores extrínsecos que condiciona el tipo de biofilm que se forma. En las instalaciones donde se procesan alimentos, el frío es una de las barreras para el control de los microorganismos. Muchos son los mecanismos que tienen las bacterias para responder al estrés por frío, incluyendo modificaciones a nivel de la transcripción y de la traducción (Chaturongakul y col. 2008). La formación de biofilms también se ve afectada por el frío. Algunos estudios sugieren que el frío afecta a la cantidad y la calidad de las EPS que se producen y esto a su vez a la resistencia de los biofilms formados. Sin embargo, son escasos los estudios que evalúan el efecto de las bajas temperaturas sobre la estructura de los biofilms y si esto afecta a su resistencia. En un trabajo reciente de nuestro grupo (Puga y col. 2016a), se desarrollaron biofilms mixtos de *L. monocytogenes* y *P. fluorescens* a 20°C (templados) y a 4°C (fríos). Las cepas de *L. monocytogenes* provenían de entornos alimentarios y habían sido catalogadas como persistentes. Al comparar biofilms con la misma densidad celular pero desarrollados a distintas temperaturas, observamos mediante CLSM que el frío compactaba drásticamente la estructura de los biofilms. Quisimos ver si estos biofilms fríos eran más o menos resistentes frente al mismo tratamiento. Observamos que las estructuras más compactas (frías) se conservaban prácticamente intactas tras el tratamiento, aunque la población viva se reducía en ambos casos drásticamente. Además, al revitalizar los biofilms tratados, observamos que los fríos se recuperaban de forma más eficiente que los templados, es decir, al cabo

de 24 h de incubación el porcentaje de células vivas era superior en los primeros. Así, el estrés por frío podría aumentar la fracción de células persistentes en estos biofilms. En el entorno alimentario esto es muy relevante, porque en ocasiones, tras la aplicación de los tratamientos de limpieza y desinfección, se registra un buen resultado aparente que cambia pasadas unas horas, habiéndose repoblado los biofilms y recuperado los niveles iniciales de contaminación. Así los biofilms fríos serían en esencia potencialmente más peligrosos.

Otro aspecto a considerar en las instalaciones de la industria alimentaria (aunque esto se podría también extrapolar a cualquier entorno) es que los biofilms no eliminados, envejecen. Quisimos ver el papel del envejecimiento en la estructura (Puga y col. 2016b). Usamos para este trabajo biofilms monoespecie y mixtos de *L. monocytogenes* y *P. fluorescens*. Observamos mediante CLSM al usar una tinción diferencial de células y matriz que por efecto del paso del tiempo, se perdían las capas apicales de células, probablemente por los fenómenos de dispersión activa antes mencionados, y que las células residuales (las de las zonas profundas) aparecían totalmente cubiertas por matriz a modo de manta. Esto podría protegerlas de los daños físico-químicos y favorecer su persistencia. Si a esto le sumamos que especies como *L. monocytogenes* tienden a localizarse precisamente en estas zonas enterradas, también se verían beneficiadas en estas estructuras envejecidas. Este hallazgo podría contribuir a explicar la mayor resistencia de los biofilms más envejecidos a los tratamientos de limpieza y desinfección.

Considerando todos estos factores globalmente, la formación, arquitectura y por tanto la funcionalidad y la resistencia de los biofilms resultan de la interconexión entre multitud de factores que están relacionados con el entorno industrial en el que se encuentran.

ESTRATEGIAS DE CONTROL DE BIOFILMS

Las estrategias para el control de biofilms se centran en cada una de las etapas de su desarrollo. Están las que tratan de evitar, enlentecer o minimizar la adhesión de microorganismos a las superficies y las encaminadas a eliminar los biofilms ya establecidos.

La primera línea de actuación para prevenir o enlentecer la adhesión es modificar las propiedades superficiales del material que hace de sustrato. Por ejemplo, se han diseñado materiales con modificaciones a nivel de la hidrofobicidad y materiales que incorporan nanopartículas

de compuestos con actividad bactericida como la plata o el dióxido de titanio.

El recubrimiento de materiales con agentes antimicrobianos adsorbidos o unidos de forma covalente es el método más usado para prevenir la adhesión en catéteres e implantes. Así, mezclas de antibióticos y antisépticos se han empleado para el recubrimiento de catéteres tanto intra- como extra-luminalmente. Su eficacia sin embargo es limitada. En ocasiones los compuestos se consumen antes de que termine la vida útil del dispositivo. Además, estos recubrimientos pueden terminar “tapizados” por otros componentes del medio, lo que merma su eficacia. Por otro lado, el uso de antibióticos en recubrimientos siempre es controvertido por el riesgo de que conduzca a la selección de cepas resistentes. Por ello, la tendencia actual es usar para los recubrimientos compuestos naturales como péptidos bioactivos y biosurfactantes, como la surfactina.

En la industria alimentaria no se puede emplear cualquier recubrimiento superficial, porque se debe garantizar que los compuestos empleados no migren a los alimentos y que no presenten toxicidad. El control ecológico es una alternativa interesante en este contexto. Determinadas cepas de bacterias lácticas productoras de bacteriocinas son capaces de interferir en la capacidad de formación de biofilms de *L. monocytogenes*. La adsorción de bacteriocinas, como la nisina, sobre superficies modelo consigue disminuir los niveles de contaminación de *L. monocytogenes*. Sin embargo, tanto la nisina como otros agentes antimicrobianos a dosis sub-inhedorias pueden estimular la formación de biofilms porque muchos de ellos actúan como moléculas señal (Romero y col. 2011). Así, la habilidad de ciertas moléculas de inducir respuestas diversas en función de su concentración, fenómeno conocido como hormesis, se debe tener en consideración a la hora de proponer nuevas medidas anti-biofilm.

Una vez formados, el tratamiento ideal sería el que permitiera eliminar tanto las células como la matriz, ya que la matriz *per se* puede actuar de punto de anclaje para otros microorganismos. Entre estos tratamientos, el empleo de enzimas es quizás uno de los más efectivos para eliminar sino la totalidad una parte del biofilm (Orgaz y col. 2006; Orgaz y col. 2007). Lo ideal es emplear mezclas de enzimas para atacar a todos los componentes de la matriz. Los daños estructurales que producen, debilitan la matriz y facilitan el acceso de otros biocidas que se usen después. Existen ya en el mercado muchas soluciones de limpieza

con base enzimática que incorporan combinaciones de enzimas. Las limpiezas enzimáticas no sustituyen a los métodos convencionales pero sí les complementan. En ocasiones se recomiendan limpiezas enzimáticas cuando hay una contaminación recurrente en una planta de procesamiento de alimentos o bien cada cierto tiempo para prevenirlas.

Los bacteriófagos son virus que específicamente infectan a las bacterias y en principio son inofensivos para los animales y plantas, por lo que se consideran actualmente una alternativa para el control de los biofilms. Los fagos virulentos infectan a la bacteria e inician el ciclo lítico, que termina con la lisis del hospedador y la diseminación de las partículas víricas. Además, muchos fagos inducen en el hospedador la producción de proteínas líticas como endolisinas y depolimerasas que atacan también a la matriz de los biofilms. Hasta ahora la mayor parte de los estudios sobre el empleo de fagos se han centrado en el entorno clínico, donde una vez aislado el microorganismo responsable de una infección se puede recurrir a un banco de fagos (Chan y Abedon, 2015). En la industria alimentaria, la empresa holandesa Mireos ha comercializado, entre otros, Listex P100 para la eliminación de *L. monocytogenes* de superficies. La eficacia de los bacteriófagos para eliminar biofilms está sin embargo aún en entredicho. Hay autores que apuntan a que el material liberado tras la lisis celular podría beneficiar a las células supervivientes, que tendrían así nutrientes disponibles (Brooks y Flint, 2008). También se podría cuestionar su eficacia en entornos reales donde prevalecen los biofilms multiespecie.

Los sistemas de QS, que entre otras muchas cosas intervienen en diversas etapas del desarrollo de los biofilms, se han convertido en una posible diana para su control. Así pues, inhibir o bloquear la comunicación entre bacterias para impedir que se organicen es crucial para su control. Estas estrategias, muchas de ellas inspiradas en la naturaleza, se engloban bajo el término de *quorum quenching* (QQ) (Zhu y col. 2013). Esto se puede conseguir por varias vías: mediante la degradación de moléculas señal, fundamentalmente por vía enzimática. Hay varios tipos de enzimas que cancelan señales de tipo AHL, como lactonasas, oxidasas y reductasas y paraoxonasas. Las primeras pueden ser producidas por muchas especies bacterianas, también plantas y las últimas se encuentran en mamíferos; también se podría actuar inhibiendo la síntesis de moléculas señal, bien usando inhibidores de las enzimas encargadas de su síntesis o bien inhibiendo la síntesis de sus precursores. El empleo de análogos de las AHL, naturales o sintéticos, que compiten por estas por la unión a los receptores interfiere en la señalización. Al-

gunos ejemplos de estos análogos son las furanonas halogenadas producidas por el alga *Delisea pulcra* y extractos de frutas como fresas y uvas (Kalia, 2013).

Sin duda todas estas estrategias tienen un enorme potencial para el control de los biofilms, si bien es cierto que la heterogeneidad de estas comunidades microbianas nos lleva a pensar que quizás no haya una única forma de control sino probablemente cada problema requiera una solución concreta. En definitiva, en un futuro quizás se tienda a conocer primero al “enemigo” y en base a sus características desarrollar un tratamiento “a la carta”.

BIBLIOGRAFÍA

- Bridier, A., del Pilar Sanchez-Vizueté, M., Le Coq, D., Aymerich, S., Meylheuc, T., Maillard, J.Y., Briandet, R. (2012). Biofilms of a *Bacillus subtilis* hospital isolate protect *Staphylococcus aureus* from biocide action. *PloS one*, 7(9), e44506.
- Bridier, A., Dubois-Brissonnet, F., Boubetra, A., Thomas, V., Briandet, R. (2010). The biofilm architecture of sixty opportunistic pathogens deciphered using a high throughput CLSM method. *Journal of microbiological methods*, 82(1):64-70.
- Brooks, J.D., Flint, S.H. (2008). Biofilms in the food industry: problems and potential solutions. *International journal of food science & technology*, 43(12):2163-2176.
- Chan, K.B. y Abedon, T.S. (2015). Bacteriophages and their enzymes in biofilm control. *Current pharmaceutical design*, 21(1):85-99.
- Chaturongakul, S., Raengpradub, S., Wiedmann, M., Boor, K.J. (2008). Modulation of stress and virulence in *Listeria monocytogenes*. *Trends in microbiology*, 16(8):388-396.
- Costerton, J.W. (2007). *The biofilm primer* (Vol. 1). Springer.
- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., Caldwell, D.E., Korber, D.R., & Lappin-Scott, H.M. (1995). Microbial biofilms. *Annual Reviews in Microbiology*, 49(1):711-745.
- Donlan, R.M., Costerton, J.W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews*, 15(2):167-193.

- Elias, S., Banin, E. (2012). Multi-species biofilms: living with friendly neighbors. *FEMS microbiology reviews*, 36(5):990-1004.
- Flemming, H.C., Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9):623-633.
- Flemming H.C., Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice S.A., Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology* 14:563–575 (2016).
- Gefen, O., Balaban, N.Q. (2009). The importance of being persistent: heterogeneity of bacterial populations under antibiotic stress. *FEMS microbiology reviews*, 33(4):704-717.
- Harmsen, M., Lappann, M., Knøchel, S., Molin, S. (2010). Role of extracellular DNA during biofilm formation by *Listeria monocytogenes*. *Applied and environmental microbiology*, 76(7):2271-2279.
- Jahid, I.K., Ha, S.D. (2014). The Paradox of Mixed-Species Biofilms in the Context of Food Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(5):990-1011.
- Jenal, U., Malone, J. (2006). Mechanisms of cyclic-di-GMP signaling in bacteria. *Annual Review of Genetics* 40:385-407.
- Kalia, V.C. (2013). Quorum sensing inhibitors: an overview. *Biotechnology advances*, 31(2):224-245.
- Lawrence, J.R., Korber, D. R., Hoyle, B.D., Costerton, J.W., Caldwell, D.E. (1991). Optical sectioning of microbial biofilms. *Journal of bacteriology*, 173(20):6558-6567.
- Lebeaux, D., Ghigo, J-M, Beloin, C. (2014) Biofilm-Related Infections: Bridging the Gap between Clinical Management and Fundamental Aspects of Recalcitrance toward Antibiotics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 78(3):510-543.
- Lennon J.T., Jones S.E. (2011). Microbial seed banks: The ecological and evolutionary implications of dormancy. *Nature Review Microbiology* 9:119-130.
- Lewis, K. (2005). Persister cells and the riddle of biofilm survival. *Biochemistry*, 70(2):267-274.
- Nadell, C.D., Xavier, J.B., Foster, K.R. (2009). The sociobiology of biofilms. *FEMS microbiology reviews*, 33(1):206-224.

- Orgaz, B., Kives, J., Pedregosa, A.M., Monistrol, I.F., Laborda, F., SanJosé, C. (2006). Bacterial biofilm removal using fungal enzymes. *Enzyme and microbial technology*, 40(1):51-56.
- Orgaz, B., Neufeld, R.J., SanJosé, C. (2007). Single-step biofilm removal with delayed release encapsulated Pronase mixed with soluble enzymes. *Enzyme and microbial technology*, 40(5):1045-1051.
- Orgaz, B., Puga, C.H., Martínez-Suárez, J.V., SanJosé, C. (2013). Biofilm recovery from chitosan action: A possible clue to understand *Listeria monocytogenes* persistence in food plants. *Food Control*, 32(2):484-489.
- Petrova, O.E., Sauer, K. (2016). Escaping the biofilm in more than one way: desorption, detachment or dispersion. *Current opinion in microbiology*, 30:67-78.
- Puga C.H., SanJosé C, Orgaz B. (2014). Spatial distribution of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* in mixed biofilms. In *Listeria monocytogenes, food sources, prevalence and management strategies*. New York, USA: Nova Publishers. pp. 115-131.
- Puga, C.H. SanJosé, C. and Orgaz B. (2016a) Biofilm development at low temperatures enhances *Listeria monocytogenes* resistance to chitosan. *Food Control*, 65:143-151.
- Puga C.H, Orgaz B, SanJosé C. *Listeria monocytogenes* impact on mature or old *Pseudomonas fluorescens* biofilms during growth at 4 and 20°C. (2016b) *Frontiers in Microbiology*, doi: 10.3389 / fmicb.2016.00134.
- Romero, D., Traxler, M.F., López, D., Kolter, R. (2011). Antibiotics as signal molecules. *Chemical reviews*, 111(9):5492-5505.
- Sanchez-Vizuet P, Orgaz B, Aymerich S, Le Coq D., Briandet R. (2015) Pathogens protection against the action of disinfectants in multispecies biofilms. *Frontiers in Microbiology*, 6. doi: 10.3389 / fmicb.2015.00705.
- SanJosé C. y Orgaz B. Los biofilms microbianos, un bunker de uso habitual (2012) En *Aspectos Higiénicos de los Alimentos Microbiológicamente Seguros*. B. Sanz (Ed). pp:129-142. Monografía XXXI. Real Academia Nacional de Farmacia. ISBN: 978-84-937389-9-0.
- Serra, D.O., Hengge, R. (2014). Stress responses go three dimensional—the spatial order of physiological differentiation in bacterial

- macrocolony biofilms. *Environmental microbiology*, 16(6):1455-1471.
- Srey, S., Jahid, I.K., Ha, S.D. (2013). Biofilm formation in food industries: A food safety concern. *Food Control*, 31(2):572-585.
 - Stewart, C.R., Muthye, V., Cianciotto, N.P. (2012). *Legionella pneumophila* persists within biofilms formed by *Klebsiella pneumoniae*, *Flavobacterium* sp., and *Pseudomonas fluorescens* under dynamic flow conditions. *PloS one*, 7(11), e50560.
 - Vergheese, B., Lok, M., Wen, J., Alessandria, V., Chen, Y., Kathariou, S., Knabel, S. (2011). comK prophage junction fragments as markers for *Listeria monocytogenes* genotypes unique to individual meat and poultry processing plants and a model for rapid niche-specific adaptation, biofilm formation, and persistence. *Applied and environmental microbiology*, 77(10):3279-3292.
 - Xavier, J.B. (2016). Sociomicrobiology and pathogenic bacteria. *Microbiology spectrum*, 4 (3):10.1128/microbiolspec.VMBF-0019-2015.
 - Zhu, J., Kaufmann, G.F. (2013). Quo vadis quorum quenching?. *Current opinion in pharmacology*, 13(5):688-698.

EL SINDROME DEL DESPOBLAMIENTO DE LAS COLMENAS: HIPÓTESIS Y EVIDENCIAS

PROF^a. DRA. D.^a MARÍA ARÁNZAZU MEANA MAÑES

Profesora Titular

*Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria
Universidad Complutense de Madrid*

24 de octubre de 2016

RESUMEN

Durante la primera década del siglo XXI se han denunciado grandes pérdidas de abejas melíferas (*Apis mellifera*), fenómeno caracterizado porque en colmenas aparentemente sanas las abejas desaparecen y la colmena muere sin signos clínicos evidentes. En España se detectó en 2005 y se llamó “Síndrome de Despoblamiento de las Colmenas” (SDC), siendo un cuadro muy similar al “Colony collapse disorder” (CCD) denunciado en 2007 en EEUU. La etiología precisa que subyace bajo esta desaparición de abejas de sus colmenas permanece siendo un misterio. Durante el mismo periodo, *Nosema ceranae*, un microsporidio de la abeja asiática *Apis cerana*, parece haber colonizado a la abeja occidental *A. mellifera*, y en la actualidad se encuentra de manera frecuente por todo el mundo tanto en colmenas aparentemente sanas como débiles. Durante la conferencia se expondrán datos actualizados sobre ésta y otras amenazas que afectan a las abejas melíferas en todo el mundo, detallando las evidencias que pueden dar algo de luz a esta situación.



El síndrome del despoblamiento de las colmenas: hipótesis y evidencias



Aránzazu Meana Mañes, DVM, PhD, DipEVP

Google **síndrome del despoblamiento de colmenas**

2.130 Octubre 2016

148.000 Diciembre 2013

Las claves del síndrome de despoblamiento de las colmenas y el rol de la agricultura con el plaguicida...

Síndrome del despoblamiento de las colmenas y el rol de la agricultura con el plaguicida...

DESDE LA FIEBRE. DESDE...

Problema de colapso de colonias - Wikipedia, la enciclopedia libre

WIKIPEDIA la enciclopedia libre

Problema de colapso de colonias

Para otros usos de este término, véase CCD (desambiguación).

Se trata del **problema de colapso de colonias de abejas** de la familia de las **Colony Collapse Disorder** (CCD) por sus siglas en inglés y se refiere a un fenómeno de la abeja de las colmenas (2006) por el que una cantidad considerable de algunas abejas de una colonia desaparecen abruptamente. Aunque estos despoblamientos han ocurrido anteriormente a lo largo de la historia de la agricultura, el término problema de colapso de colonias se aplicó por primera vez tras un caso de colapso de una colonia de abejas en California, a finales del 2006. El colapso de las colonias es significativo para la economía, porque muchas colmenas, en diferentes partes del mundo, son productoras de abejas.

A partir de 2007 los agricultores europeos observaron fenómenos similares en Bélgica, Francia, Hungría, Italia, España, Portugal e Irlanda.^[2] y también se sintieron efectos parecidos en India y Alemania. Aunque en menor grado,^[3] se cree que la mayoría del tráfico del norte de Europa en 2008 estuvo de abejas de aproximadamente el 70%.^[4] También se ha informado del problema cerca de CCD en Tailandia desde abril de 2007.^[5]

**Colony Collapse Disorder
CCD**

WIKIPEDIA La enciclopedia libre

Portada Portal de la comunidad Actualidad Eventos recientes Páginas nuevas Páginas especiales Ayuda Predefinições Herramientas

Página especial

Resultados de la búsqueda

Para más opciones de búsqueda, usa Ayuda: Búsqueda.

Q síndrome del despoblamiento de las abejas

Páginas de contenido: Análisis de texto Avanzado

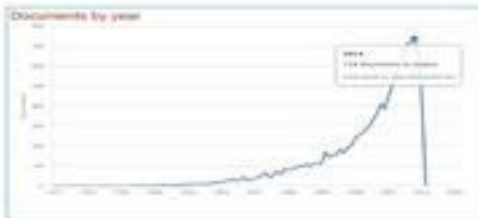
Quizás quisiste decir: síndrome del desdoblamiento de las abejas

Si crees que este artículo debería existir y dispones de fuentes fiables, puedes crearlo tú mismo.

Revisión controlada categoría Enfermedades de las abejas

pero hay un artículo Síndrome de despoblamiento de mayor o menor grado o similar. Los síntomas de frivolidad tienen gran incidencia a las temperaturas extremas. 4 000 (2023 palabras) - 00:00:19 (oct 2016)

	SCOPUS	WEB OF SCIENCE	PUBMED	GOOGLE	GOOGLE ACADÉMICO
Honeybee	12148	11.051	3180	>60.000.000	112.000
CCD	253	447	249	499.000	56.200
Vorvos	1682	2204	532	1.250.000	20.800



El síndrome del despoblamiento de las colmenas

"I have never seen anything like it," Mr. Bradshaw, 50, said from an almond orchard beginning to bloom.
"Box after box after box after box are just empty"



Hipótesis y evidencias



Possible causes

- 4.1 Pesticides
- 4.2 Pathogens and immunodeficiency theories
- 4.3 Fungicides
- 4.4 Antibiotics and miticides
- 4.5 Climate Change
- 4.6 Bee rentals and migratory beekeeping
- 4.7 Selective commercial breeding and lost genetic diversity in industrial apiculture
- 4.8 Malnutrition
- 4.9 Electromagnetic radiation
- 4.10 Parasitic phorid fly
- 4.11 Genetically modified crops

A Causal Analysis of Observed Declines in Managed Honey Bees (*Apis mellifera*)

Jane R. Staveland, Sheryl A. Lee, Anne Fairbrother & Charles A. Meehle

39 "stressors"



Science & Technology Libraries

Reviews of Science for Science Librarians: An Update on Honeybee Colony Collapse Disorder

Terry Starbuck

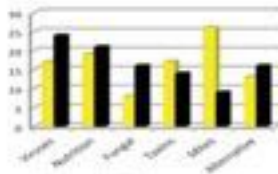


FIGURE 2 Major causes attributed to CCD by percent in papers reviewed in 2008 (light columns) vs. 2013 (columns in black).

Hipótesis y evidencias

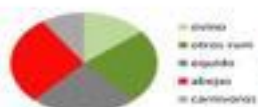
Bióticos (Virus, Hongos, Ácaros)

Abióticos (Nutrición, Tóxicos)

Desde 1990...



Proyectos



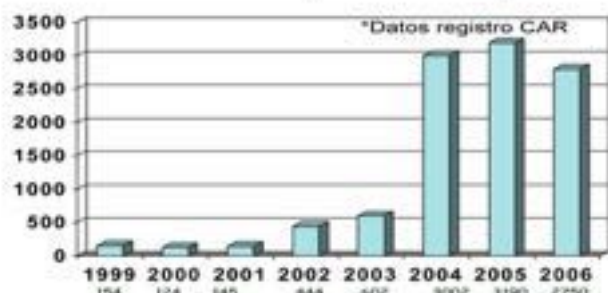
Tesis doctorales



Publicaciones



Algo ocurre...
 desde 2004 gran cantidad de muestras
 remitidas al laboratorio de colmenas
 muertas o con pocas abejas



Denuncias verbales sin cuantificar

2001



Denuncias verbales sin cuantificar

2004



Colmena con despoblamiento

• Muerte de la colmena

- La reina con pocas abejas
- Polen y miel suficientes
- Colmenas vacías



Hipótesis 1



El despoblamiento y muerte de abejas esta relacionado con la utilización de **insecticidas** en el tratamiento de semillas

- Semillas de girasol o maíz
- Imidacloprida y fipronil



Primera hipótesis: ¿pesticidas?

Imidacloprida

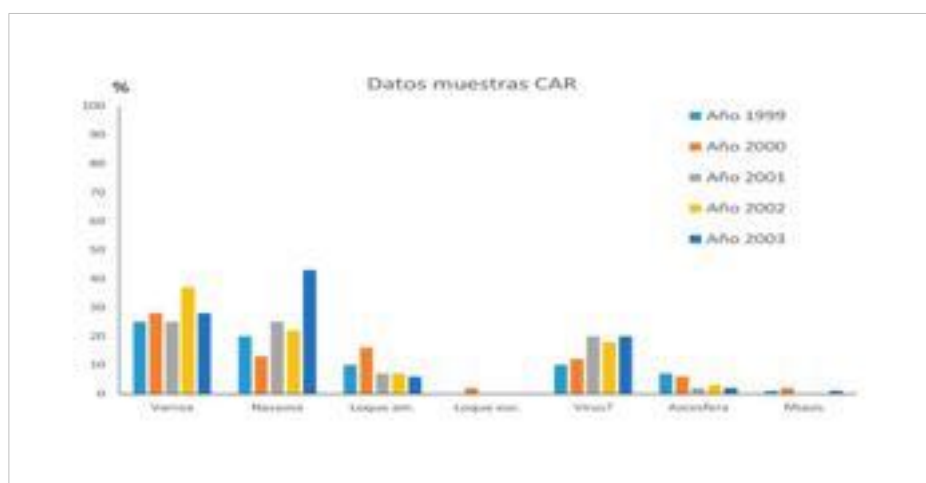
Prohibida en España para tratar semillas girasol
Análisis negativos 2001

Fipronil


Autorizado en semillas girasol en 2004
Sólo 6-8% del girasol sembrado

Análisis negativos 2005





Hipótesis 2: Virus



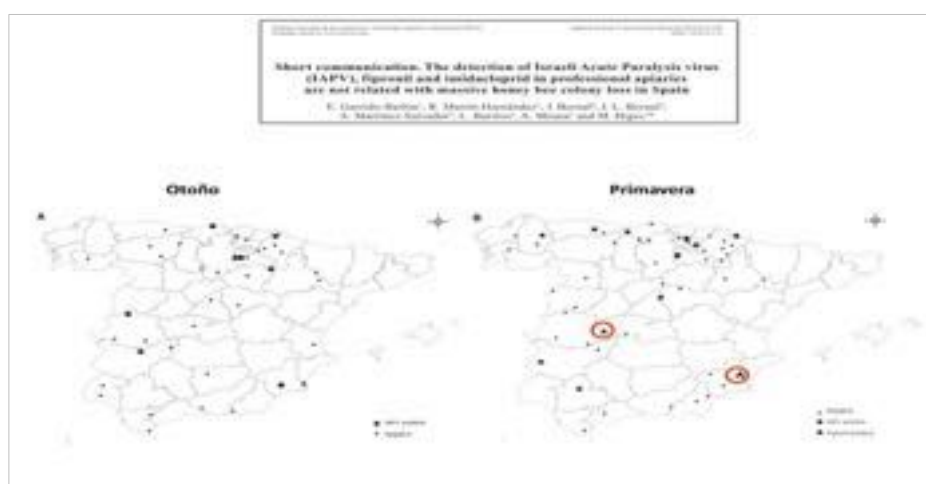
BAJA FRECUENCIA

- ABPV: 0,4% asociado con varroosis
- CBPV: 1,2%
- *KBV: 2,0% asociado con varroosis#
- *DWV: 6,4% asociado con varroosis
- *SBV: 0,4%
- *BQCV: 1,6% asociado con *Nosema apis*
- *IAPV

* primera denuncia
con despoblamiento

International Institute for Research in Beekeeping
Research in Veterinary Sciences

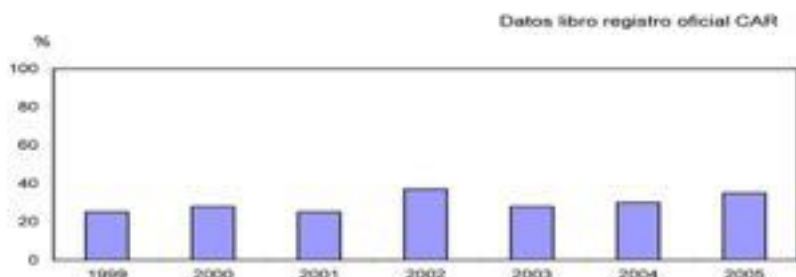
Low prevalence of European viruses in Spain during 2000 and 2001
 M. Garrido-Berón, M. López, A. González-Benito, J. Pérez, F. Esteban, A. Martínez-Salazar & M. Martínez-Salazar. *J. Invertebr. Pathol.* 2007, 81, 1-10



Hipótesis 2: *Varroa*



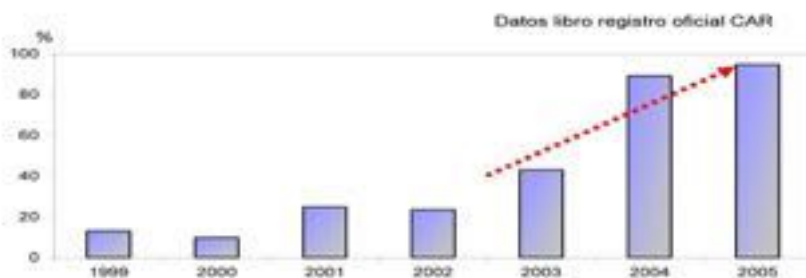
- Prevalencia estable en los últimos años



Hipótesis 2: *Nosema*



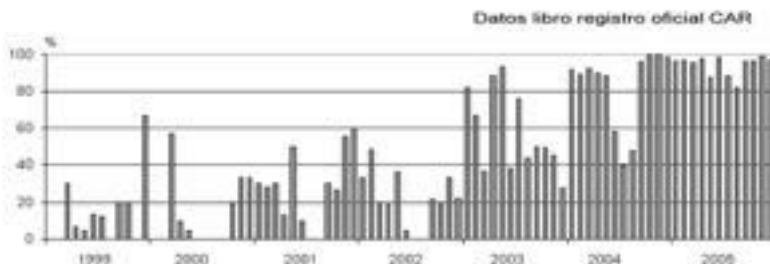
- Prevalencia en ascenso en los últimos años



Hipótesis 2: *Nosema*



- Prevalencia en ascenso en los últimos años



Mayo, 2005
Técnicas moleculares

Nosema apis infection in worker and queen *Apis mellifera*
Thomas G. Rinder¹, Xia D. Wang¹, Qing Wang¹, Xia H. Wang¹, John C. King²

No *Nosema apis*
Si *Nosema ceranae*

N. ceranae
FAS62/05
N. apis

```

TTATTTTTCAGAGAAAGGGTTTTTGTCTTTCAGCAATGATATAATAGTTCCTGCAATGGCC
TTATTTTCAGCAACAACGGTTTTTGTCTTTCAGCAATGATATAATAGTTCCTGCAATGGCC
TTTCTCTCCCGAGATA-----TGATCTGAGGATGATAATAATAGTTCCTGCAATGGCC
* * * * *

```

1. Department of Entomology, University of Kentucky, Lexington, KY 40546, USA
2. Department of Entomology, University of Tennessee, Knoxville, TN 37996, USA

Who
Where
When
What
Why
How

Nosema ceranae, a new microsporidian parasite to honeybees in Europe
Markus Eigen¹, Rupal Malik¹, António Sousa²

Nosema ceranae n. sp. (Microspora, Nosematidae), Morphological and Molecular Characterization of a Microsporidian Parasite of the Asian Honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae)

Ingenar Fries¹, Feng Fang², Alexandre da Silva³, Susan B. Glanville⁴, and Norman J. Parrish⁵

¹ Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Entomology, Box 7024, S-750 07 Uppsala, Sweden
² Chinese Academy of Agricultural Sciences, Institute of Apicultural Research, Jiangshan, Haining 310000, China
³ Centers for Disease Control and Prevention, Division of Parasitic Diseases, 1600 Clifton Road, Atlanta, GA 30333, USA

Who... Un microsporidio, un hongo
Where... Infecta *Apis cerana*, la abeja asiática
When... en 1996
What... ??
Why... ??
How... ??

¿Es patógena para la abeja europea?

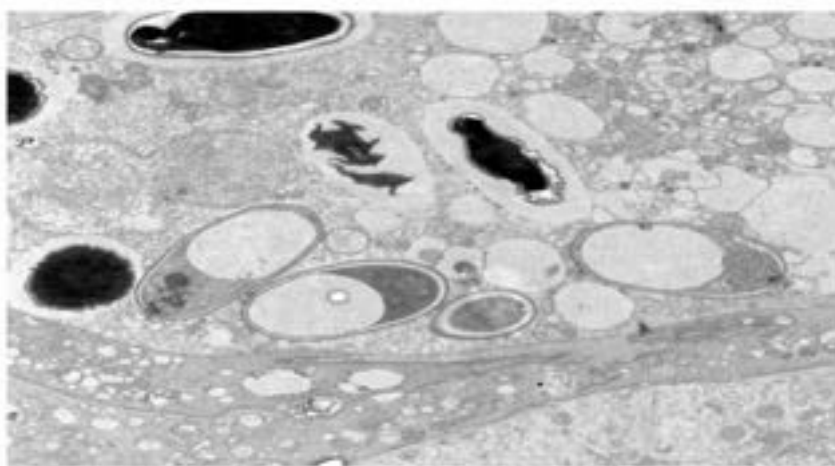
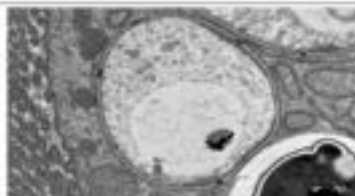
- 125.000 esporas frescas y viables por abeja
- 20 abejas por grupo x 3 replicados y un testigo
- Estufa a 33°C con alimento *ad libitum*
 - Miel y agua 50%
 - Promotor L (aminoácidos y vitaminas)

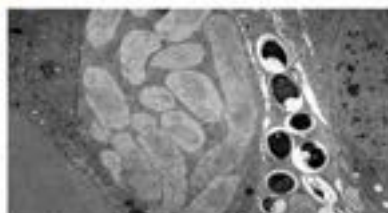
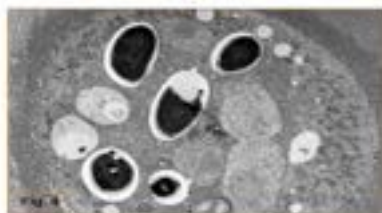


Nosema ceranae resultó mortal para *Apis mellifera*

Abejas infectadas 100% muertas en 8 días
Lesiones en ventrículo similar a *N.apis*

Esporas maduras en 3 días
Germinan dentro de la misma abeja





¿Es patógena para la colmena?



- a) Individual (quitina, inmunidad)
- b) Comportamiento de limpieza –auto y cría-
- c) Politeísmo temporal -defensa de la colonia-
- d) Control de entrada de patógenos
- e) Utilización de “desinfectantes” naturales (propóleos)

Nosema ceranae

Infección Natural

67 Casos clínicos monitorizados



Colmena B255

Usada como testigo en estudios de Varroa
No pesticidas
No stress productivo
No cultivos transgénicos
No Varroa

Infección natural 25 de mayo 2005

Muerte el 11 de diciembre 2006



Colmenas y núcleos (N = 66)
Junio 2006



Estudio del Riesgo Relativo

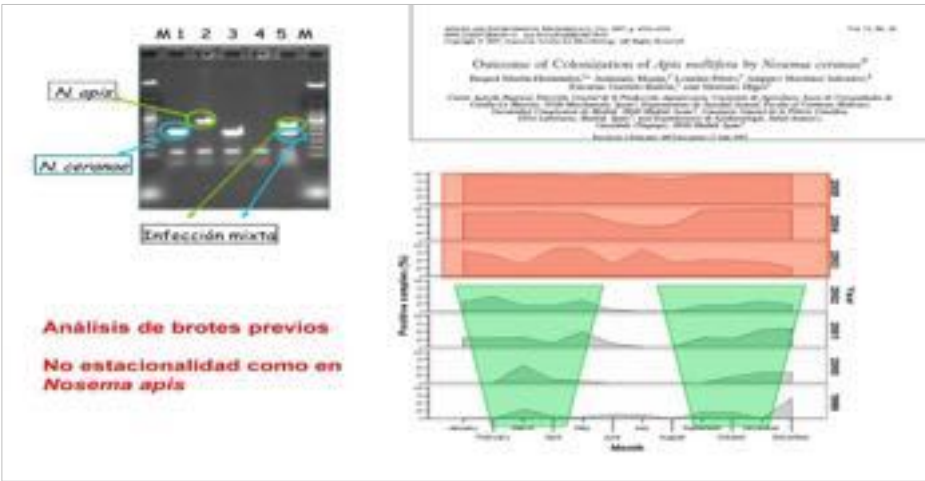
PCR Result	Depopulation Group	Asymptomatic Group	Total	RR	IC (95%)	p
<i>N. aptis + N. ceranae</i>	10	1	11	5,82	3,20-10,59	0,0000
<i>N. ceranae</i>	44	8	52	5,42	3,03-9,68	0,0000
<i>N. aptis</i>	2	16	18	0,71	0,17-2,92	0,4869
Negative	10	54	64	-	-	-
Total	66	79	145			

Casi 6 veces más de riesgo de sufrir despoblamiento si hay *N. ceranae*

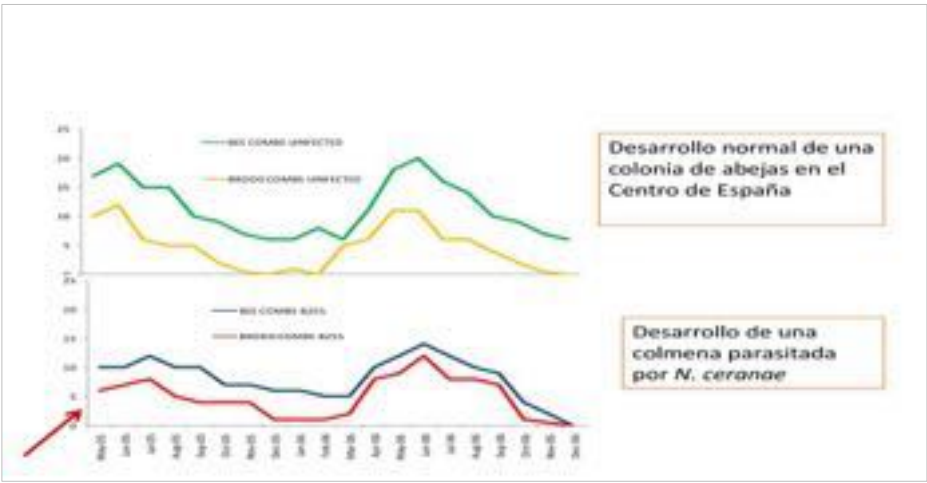
PCR Result	Depopulation Group	Asymptomatic Group	Total	RR	IC (95%)	p
<i>N. aptis + N. ceranae</i>	10	1	11	5,82	3,20-10,59	0,0000
<i>N. ceranae</i>	44	8	52	5,42	3,03-9,68	0,0000
<i>N. aptis</i>	2	16	18	0,71	0,17-2,92	0,4869
Negative	10	54	64	-	-	-
Total	66	79	145			

Otras causas de despoblamiento

PCR Result	Depopulation Group	Asymptomatic Group	Total	RR	IC (95%)	p
<i>N. aptis + N. ceranae</i>	10	1	11	5,82	3,20-10,59	0,0000
<i>N. ceranae</i>	44	8	52	5,42	3,03-9,68	0,0000
<i>N. aptis</i>	2	16	18	0,71	0,17-2,92	0,4869
Negative	10	54	64	-	-	-
Total	66	79	145			

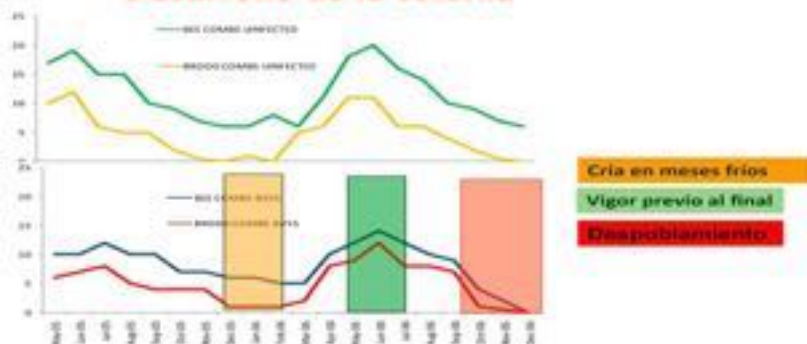


COLMERA LANGSTROTH

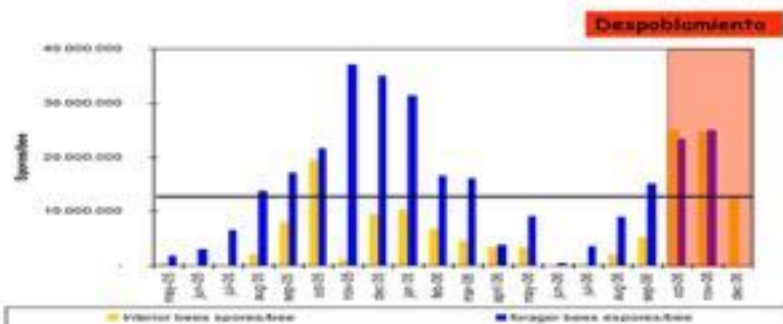


Mucha cría en relación al número de abejas adultas

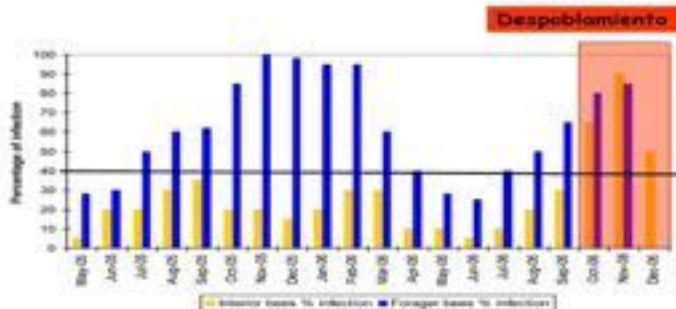
Desarrollo de la colonia



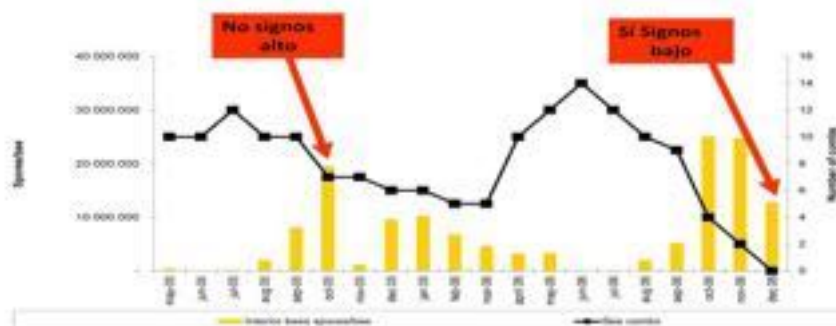
Recuento de esporas (Método OIE)



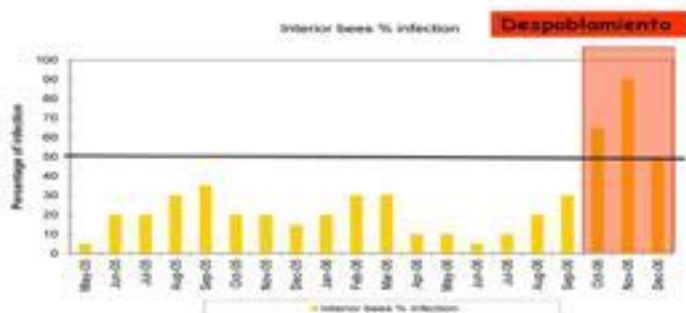
Proporción de infectadas



Recuento de esporas no predictivo



Proporción de abejas de interior infectadas sí lo era



Pecoreadoras mueren lejos de la colmena...



Recogida de pecoreadoras muertas en el suelo
 Campo de Lavandula a 700 m colmenar
Nosema ceranae positivas con lesiones

Lesiones en infección natural=experimental

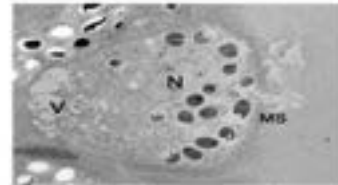
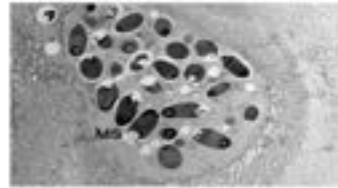
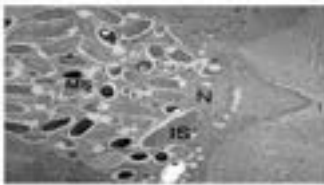
Similares infección experimental incluso en verano

Gran cantidad células del ventrículo afectadas
Degeneración y lisis celular
No reepitelización
Germinación intracelular



Consecuencias

Pérdida función ventricular
Hambre "metabólica"
Muerte "súbita"



MS: mature spore; IS: immature stage; N: host cell nuclei; V: vacuole

Abejas de exterior mayor cantidad
Al medio día mayor cantidad

Sampling day	Collected at 8:30 hrs.			Collected at 12:30 hrs.		
	Temp. (°C)	Internal bees	External bees	Temp. (°C)	Internal bees	External bees
Day 0		350.000	7.150.000		175.000	4.025.000
Day +7	19	1.000.000	125.000	32	150.000	10.275.000
Day +14	26	75.000	350.000	34	125.000	6.400.000
Day +21	25	425.000	7.375.000	33	425.000	9.500.000
Day +28	31	150.000	75.000	40	50.000	100.000
Day +35	25	0	3.000.000	32	100.000	3.000.000
Day +42	29	100.000	50.000	33	3.500.000	5.000.000
Day +49	28	500.000	10.000.000	39	175.000	6.500.000
		325.000	3.515.625		587.500	5.600.000
		326.507,48	4.095.982,42		1.182.083,51	5.345.015,69

**Abejas de exterior mayor cantidad
Al medio día mayor cantidad**

Sampling day	Collected at 8:30 hrs.			Collected at 12:30 hrs.		
	Temp. (°C)	Internal bees	External bees	Temp. (°C)	Internal bees	External bees
Day 0		350.000	3.150.000		175.000	3.000.000
Day +7	19	1.000.000	320.000	32	150.000	10.275.000
Day +14	26	75.000	300.000	34	125.000	3.300.000
Day +21	25	425.000	1.110.000	33	425.000	3.500.000
Day +28	31	150.000	50.000	40	50.000	100.000
Day +35	25	0	3.500.000	32	100.000	3.000.000
Day +42	29	100.000	50.000	33	3.500.000	3.000.000
Day +49	28	500.000	10.000.000	39	175.000	3.500.000
		325.000	3.515.025		557.500	3.400.000
		326.507,49			1.182.083,51	

Recuento medio de esporas no es un buen parámetro

El método recomendado por OIE no era fiable

The reliability of spore counts to diagnose *Aosoma ceranae* infections in honey bees

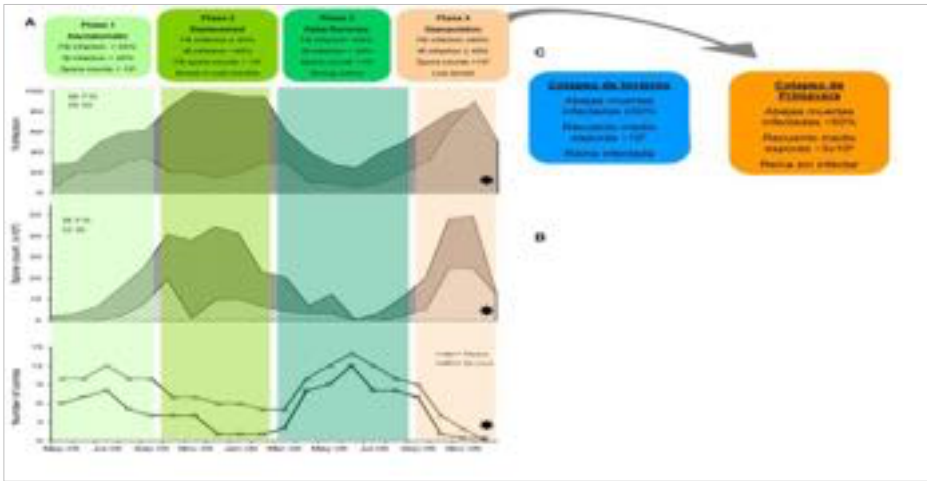
Roberto Muñoz, Robert M. Roubini and Thomas Riegel



How natural infection by *Aosoma ceranae* causes honeybee colony collapse



Colmenas y núcleos (N = 66)
Junio 2006



Postulados de Koch

1. Agente en animal enfermo
2. Aislamiento del agente
3. Transmisión a sano -natural-
4. Reaislamiento del agente

n = 1
Infección y agente
Mayo 2005

n = 66
Exposición Junio 2006
100% infectados 4 m.y aislado

CONCLUSIONES 2007

Detectado parásito exótico
Verificada alta patogenicidad en abeja y colonia
Confirmado carácter infectocontagioso
Hallados parámetros clínicos

¿Qué tratamiento?



FUMIDIL B
 Antifúngico y algicida, en forma soluble en agua.

PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS:
 Antifúngico potente, de acción rápida y específica, actuando sobre el parásito presente en el apícola.

No autorizado en Europa
Permiso especial AEMPS

Posología:

Tratamiento preventivo: Preparar, con agua calentada a 50°C, una solución azucarada en concentración 1:1. Una vez fría, a cada **20 litros se añadirán 20 g** de Fumidil B, homogeneizando adecuadamente. Administrar el jarabe medicamentoso como fuente nutritiva a razón de **4-5 litros por colmena durante 2-3 semanas**.

Tratamiento curativo: Preparar, con agua calentada a 50°C, una solución azucarada en concentración 1:1. Una vez fría, a cada **10 litros se añadirán 40 g** de Fumidil B, homogeneizando adecuadamente. **Pulverizar el jarabe medicamentoso sobre los panales y las paredes de las colmenas.** En caso de infestación grave, repetir a los 2 días. No administrar el producto desde un mes antes del inicio del periodo de producción de miel.

PREVENTIVO

**500 mg FMG/ colmena
20 mg/l**

4-5 l. durante 2-3 semanas

CURATIVO

**500 mg FMG/ colmena
33 mg/l**

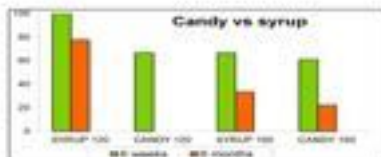
Pulverizar todo y repetir

1. Positivas y tratadas (18 colmenas)
2. Positivas y no tratadas (15 colmenas)
3. Negativas y no tratadas (17 colmenas)

Tratamiento en octubre 2006
 30 mg fumagilina semanal / 4 veces
 Total: 120 mg/colmena

Trial dos dosis

- Day 0 = October the 29th, 2006
- Treatment
 - 4 visits for 120 mg and controls
 - 8 visits for 160 mg and controls



Las colmenas trataban sobrevivian
 Reinfectaban a los 6 meses

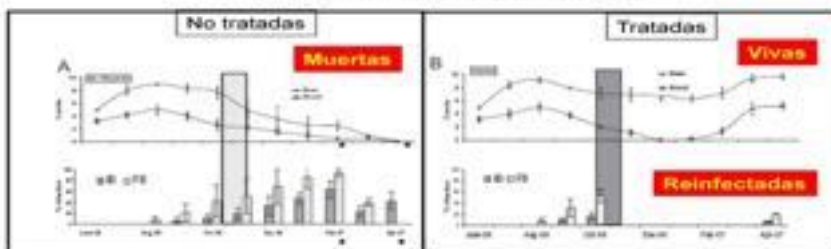
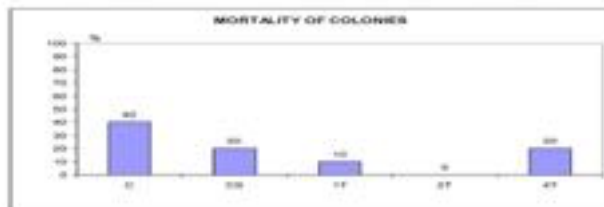
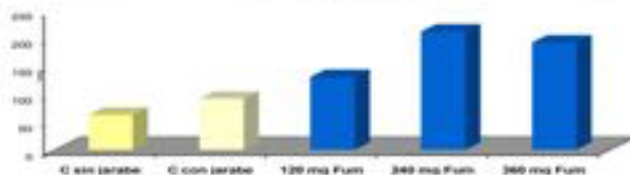


Fig. 3. Experiment 1. Response trials with Fumil B treated to control *A. gossypii*-infested bees. Mean dynamics of brood number and bee count, and the mean percentage infection of infested bees ($n = 30$) and fungus ($n = 30$) in (A) untreated ($n = 5$) and (B) fumagilin-treated ($n = 5$) model colony bees as mean \pm SD. Shaded areas indicate the moment of application (fumagilin in treated bees and syrup in untreated ones). ■ indicates collapse of the untreated colonies.

© 2008 The Authors
 Journal compilation © 2008 Society for Applied Microbiology and Blackwell Publishing Ltd, Environmental Microbiology

Producción de miel (en Kg) por grupo de 10 colmenas

Trial 1 año



La fumagilina como tratamiento curativo evita pérdidas de colonias infectadas con *Nosema ceranae* sin residuos

- Fumagilina 120 mg / colonia
 - 250 ml jarabe (50% azúcar/agua)
 - 1.5 g Fumidil B (30 mg fumagilina)
 - 4 aplicaciones cada 7 días



2007

Nosema ceranae es un patógeno exótico capaz de matar una colonia con un periodo de incubación largo y hay un tratamiento no registrado... y muchas preguntas por responder

¿Por qué no hay diarrea?

¿Cómo se transmite?

¿Cómo se controla?

¿Esta desplazando a *Nosema apis*?

¿Parasita otros hospedadores?

¿Cuándo ha entrado?

¿Es originaria de Asia?

¿Afecta a la inmunidad?

2007

Nosema ceranae es un patógeno exótico capaz de matar una colonia con un periodo de incubación largo y hay un tratamiento no registrado... y muchas preguntas por responder

¿Por qué no hay diarrea?

¿Cómo se transmite?

¿Cómo se controla?

¿Esta desplazando a *Nosema apis*?

¿Parasita otros hospedadores?

¿Cuándo ha entrado?

¿Es originaria de Asia?

¿Afecta a la inmunidad?

Environmental Microbiology reports

Nosema spp. parasitization decreases the effective treating Iberian

at development of microsporidia infecting bees (*Apis mellifera*) at increasing temperature

The presence of *Nosema ceranae* (Microsporidia) in North African honey bees (*Apis mellifera*)

South American native bumblebees (Hymenoptera: Apidae) infected by *Nosema ceranae* (Microsporidia), an emerging pathogen of honeybees (*Apis mellifera*)

Regurgitated pellets of *Merops* infective *Nosema ceranae* (Microsporidia)

Further evidence of an oriental origin for *Nosema ceranae* (Microsporidia: Nosemidae)

Journal of Invertebrate Pathology

The New York Times

Business

TOP 10

Honeybees Vanish, Leaving Keepers in Peril

Today's Headlines Daily E-Mail

The New York Times

News from the BEEA

Colony Collapse Disorder (CCD) in the Daily Telegraph

Below is an article written by Tim Lovett regarding CCD in the Daily Telegraph.

Research is not white but disease threatens

Dr - The disastrous losses of honey bee colonies being reported from America and elsewhere are indeed worrying reports, April 1st, but what we have the first sign of what is being called Colony Collapse Disorder (CCD) here in Britain is currently under close scrutiny. Symptoms are variable and there are always colony losses over the winter.

However, it would be foolhardy in the extreme to deny the possible emergence of this syndrome here. To do so would be to put at risk not only the considerable economic contribution that made to agriculture and horticulture, but also the real ecological role played by honey bees in our environment, which is immeasurable.

Latest articles in BEEA

Colony Collapse Disorder (CCD) in the Daily Telegraph

BEEA supports The Great Bug Hunt campaign against Invasive, Exotic and Exotic Insects

The British Beekeepers' Association (BBKA) supports the Great Bug Hunt campaign against Invasive, Exotic and Exotic Insects

Public Opening of the BEEA Awards

BEEA Welcomes Contributions to the Great Bug Hunt

The British Beekeepers' Association (BBKA) supports the Great Bug Hunt campaign against Invasive, Exotic and Exotic Insects

Working with Lord Balfour





Junio 2007

A Metagenomic Survey of Microbes in Honey Bee Colony Collapse Disorder

Diana L. Cox-Foster,¹ Sean Conlan,² Edward C. Holmes,^{1,4} Gustavo Palacios,² Jay D. Evans,⁵ Nancy A. Moran,⁶ Pharis-Lan Guan,⁷ Thomas Brisse,⁷ Mady Hwang,⁸ David M. Geiser,⁹ Vince Martinson,⁹ Dennis vanEngelstorp,^{1,10} Abby L. Kalkstein,⁹ Andrew Drysdale,⁷ Jeffrey Hal,⁴ Junhui Zhai,⁴ Liwang Cai,⁴ Stephen K. Hutchinson,¹¹ Jan Fedrik Simons,¹² Michael Egholm,¹³ Jeffrey S. Pettis,³ W. Ian Lipkin^{1,7}

Candidate pathogens were screened for significance of association with CCD by examination of samples collected from several sites over a period of 3 years. One organism, Israeli acute paralysis virus of bees (IAPV), was strongly correlated with CCD.

IAPV el responsable
Cox-Foster et al., 2007 (Science)

Septiembre 2007

Colony Collapse Disorder and Israeli Acute Paralysis Virus
By Diana L. Cox-Foster

A recent publication in Science established a link between a new virus, Israeli Acute Paralysis virus (IAPV), and CCD colonies. Of those colonies that suffered from CCD, all had IAPV present while healthy colonies did not have IAPV. Additionally, the research found that IAPV was present in bees imported from Australia and in royal jelly from China. Operations with CCD and sampled in the study had either imported Australian bees directly or had been closely associated with colonies that had Australian bees. We also know that IAPV has been previously found in Israel, suggesting that this virus may be more widely spread globally. No one knows where its origins are at this point in time.

Does this prove that IAPV causes CCD? No, what this article and research to date points to is that IAPV could be involved in CCD and more work is needed to prove or disprove this idea. We can conclude, however, IAPV appears to be a very good marker for CCD and its detection may aid in defining CCD.

LOS AUTORES DEL ESTUDIO MATIZAN SUS CONCLUSIONES INICIALES A LOS POCOS MESES

La capacidad de IAPV para matar una colmena no ha sido demostrada Y su prevalencia es menor de la esperada



ABSTRACT

Five samples were collected in French apiaries that displayed severe losses and mortality during the winter (from November 2007 to March 2008). They were screened for the presence of Israeli acute paralysis virus (IAPV) by using RT-PCR. Five out of 35 surveyed apiaries, located in two different geographic areas, were found positive. This represents the first reported detection of IAPV in France. The specificity of the PCR products was checked by sequencing. The phylogenetic analysis showed that French isolates of IAPV were closely related to a cluster including American and Australian isolates. Nevertheless, most of Amer-

ican isolates were first isolated in 2004 from dead bees were included in another cluster. Since IAPV was detected in only 14% of the affected apiaries, it was not possible to establish a causal link between IAPV and the severe losses. [\(Full text available\)](#)

© 2008 Elsevier Inc. All rights reserved.

Why It's Happening

There have been many theories about the cause of CCD, but the researchers who are leading the effort to find out why are now focused on these factors:

- Increased losses due to the invasive [varroa](#) mite (a pest of honey bees).
- New or emerging diseases such as [Israeli Acute Paralysis Virus](#) and the gut parasite [Nosema](#).
- Pesticide poisoning through exposure to [pesticides](#) applied to crops or for in-hive insect or mite control.
- Stress bees experience due to management practices such as [transportation](#) to multiple locations across the country for providing pollination services.
- Changes to the [landscape](#) where bees forage.
- Inadequate forage/poor [nutrition](#).
- Potential [immune-suppressing agents](#) on bees caused by one or a combination of factors identified above.

Journal of Invertebrate Pathology 95 (2010) 200–204

How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse

Honeybee colony collapse due to *Nosema ceranae* in professional apiaries

Asymptomatic presence of *Nosema* spp. in Spanish commercial apiaries

José Manuel Fernández^{a,*}, Francisco Puerto^a, Mercedes Esteban^a, Bárbara Díaz-Palmero^b, Francisco Campino^c, Laura Beltrán^d

^a Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos, IREC (CSIC-UCLM-JCCM), Ronda de Toledo s/n, 13005 Ciudad Real, Spain

^b Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos, IREC (CSIC-UCLM-JCCM), Ronda de Toledo s/n, 13005 Ciudad Real, Spain

^c Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos, IREC (CSIC-UCLM-JCCM), Ronda de Toledo s/n, 13005 Ciudad Real, Spain

^d Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos, IREC (CSIC-UCLM-JCCM), Ronda de Toledo s/n, 13005 Ciudad Real, Spain

Nosema ceranae no provoca CCD o alteración en las colonias de abejas

(Gisder et al., 2010; Stevanovic et al., 2011; 2013; Dainat et al., 2012; Fernández et al., 2012)

Relación directa entre *Nosema ceranae* y el despoblamiento

(Higes et al., 2008, 2009; Borneck et al., 2010; Hatjina et al., 2011; Ilacandritsos et al., 2011; Nabian et al., 2011; Soroker et al., 2011; Villa et al., 2013; Goblirsch et al., 2013; Lodesani et al., 2014)

Alemania, región de Baden-Württemberg (mayo 2008)

Ataque de escarabajo y doble dosis de clotianidina en semillas: las nubes de polvo al sembrar contaminan plantas y matan abejas

AGRICULTURE

Honeybee Loss

Researcher suspects use of clothianidin after the pesticide is linked to bumblebee deaths.

Background

A few weeks after honeybee hives in the southern German state of Baden-Württemberg reported a wave of sudden bumblebee deaths, federal authorities have issued a suspension on the sale and trafficking of clothianidin-based pesticides.

"It can unequivocally be concluded that a poisoning of the bees is due to the residue of the pesticide neonicotinoid clothianidin from corn seeds," says a press release from the federal state's Institute of Agricultural Research.

"Bumblebees in the region created feeding piles of dead bees at the entrance of hives in early June, right around the time corn seedling pollen starts" says Walter Hauder, president of the German Professional Beekeepers Association.

Clothianidin



Translocation of Neonicotinoid Insecticides From Coated Seeds to Seedling Germination Despite A Novel Way of Introduction for Bees

Y. AOKIYAMA^{1,2}, A. SUGIYAMA¹, A. SUZUKI¹, N. SHIBU¹, M. SHIMIZU¹, A. FUJIMORI¹, M. OKADA¹, C. KIMURA¹, AND S. YAMAMOTO¹

J. Insect Physiol. 2012; 58:1034-1039



- Exposición de las abejas a los insecticidas sistémicos a partir de la **gutación**
- Se decide la **prohibición** de algunos neonicotinoides en Alemania en el tratamiento de las **semillas de maíz**.



Presencia de residuos de pesticidas en la colmena Detección de pesticidas en suelo, polvo, gotas de agua vegetal, plantas y campos

1) Henry, M., Beguin, M., Requier, F., et al. 2012. A Common Pesticide Decreases Foraging Success and Survival in Honey Bees. *Science* (20): 348 - 350.

2) Aliouane Y., El Hassani Athiamethoxam, K., Gary V., Armergaard C., Lambin M., Gauthier M., 2009. Subchronic exposure of honey bees to sublethal doses of pesticides: effects on behavior. *Environ. Toxicol. Chem.* 28(1): 113-122.

Trabajos en laboratorio y semi campo, sugieren que representan un riesgo inaceptable, cuando se producen **exposiciones crónicas**

Pequeñas dosis de neonicotenoïdes afectan las capacidades de las abejas para comunicarse, orientarse, reducen su vida, su respuesta inmunitaria, etc.

13 Krupke C, Hunt G, Eitzer B, Andino G, Green K. 2012. Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. PLoS ONE 7(11).

21 Mullin CA, Frasier M, Frasier J, Ashcraft S, Simons R, vanEngelsdorp D, et al. 2010. High levels of pesticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. PLoS ONE 5(3): e9754.

Trabajos en campo y semi campo demuestran que, a dosis normales de aplicación, no son peligrosas para las abejas melíferas, por ser poco frecuente la exposición crónica



Otoño 12	DL50	RECuento	FRECUENCIA (%)	PROMEDIO (ppb) (µg/kg)	MÁXIMO (ppb) (µg/kg)
Fluvalinate-lau	8,7	174	98,86%	159,84	2478,51
Chlorfenvinphos	4,1	170	96,59%	185,70	4072,10
Coumaphos	20	134	76,14%	2360,76	18546,41
Acrinathrin	0,17	104	59,09%	22,50	298,54
Chlorpyrifos	0,072	89	50,57%	10,27	87,88
Oxyphosphorphenol		85	48,30%	1,62	6,17
Buphenyl		47	26,70%	4,47	28,60
Dicofol	19	40	22,73%	27,02	150,44
Amtraz (DMF+DMA)	50	35	19,89%	179,98	2661,20
Tebuconazole	200	19	10,80%	8,28	81,54
Diazinon	0,38	18	10,23%	2,71	9,77

Greenpeace revela que el 67% del polen recolectado por las abejas en Europa está contaminado con un cóctel de plaguicidas tóxicos

Un nuevo informe de la organización ha tomado muestras en 12 países y ha encontrado 53 sustancias químicas distintas

Comunicado de prensa - abril 16, 2014

España, entre las más contaminadas. Es el país con más imidacoprid y se encontraron restos de un producto resultante de la degradación del DDT

España ha participado en este estudio con 17 muestras, tres de pan de abeja y 14 de polen.

imidacoprid (cuatro de las seis muestras)

Universidad de Valladolid
Campus de Excelencia INTERNACIONAL

COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) No 485/2013
of 24 May 2013

amending Implementing Regulation (EU) No 540/2011, as regards the conditions of approval of the active substances clothianidin, thiamethoxam and imidacloprid, and prohibiting the use and sale of seeds treated with plant protection products containing those active substances

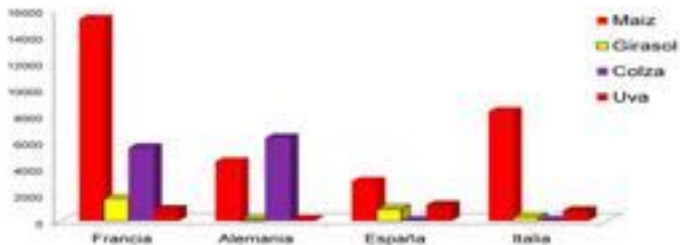
COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) No 781/2013
of 14 August 2013

amending Implementing Regulation (EU) No 540/2011, as regards the conditions of approval of the active substance fipronil, and prohibiting the use and sale of seeds treated with plant protection products containing this active substance

Girasol, maíz y neonicotinoïdes



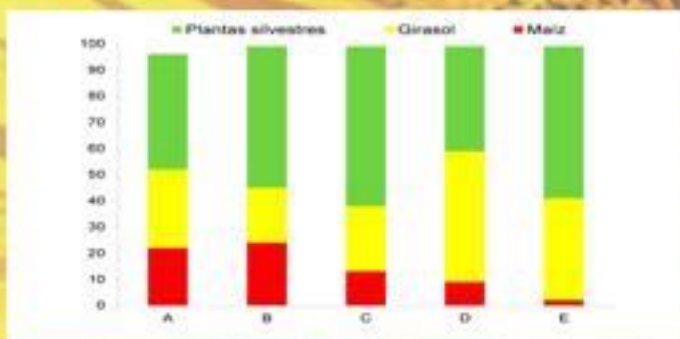
Producción x1000 tm



Fuente: FAOSTAD



Polen recolectado



Néctar recolectado



Diferente comportamiento y exposición



NO TODAS LAS COLONIAS DE ABEJAS TIENEN EL MISMO RIESGO DE EXPOSICIÓN
Tiametoxan: 1 positivo (néctar)

El patrón de infección de *Nosema* con neonicotinoides y fipronil es que las abejas enferman y mueren antes

1) Pettis JS, vanEngelsdorp D, Johnson J, Dively G. 2012. Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Naturwissenschaften*.

2) Vidau C, Diegem M, Aulicuvre J, Fonthousse B, Vignés B, et al. 2011. Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honey bees previously infected by *Nosema ceranae*. *PLoS ONE* 6(6): e21550.

3) Alaux C, Brunet J, Duczmal C, et al. 2010. Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weakens honey bees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology* 12(3): 774-782.

4) Wu JT, Anelli CM, Sheppard WS. 2011. Sub-lethal effects of pesticide residues in brood comb on worker honey bee (*Apis mellifera*) development and longevity. *PLoS ONE* 6(2): e14720.

Resumen Tony Stankus, 2014 (1917-2008 vs 2009-2014)

- **Virus (16% vs 24%) no explica CCD**
 - mayor utilización a menor coste de técnicas genómicas y el desarrollo de tecnología multiPCR
 - Bajo % IAPV, alto de los transmitidos por *Varroa* (DWV)
- **Nutrición (14% vs 21%) contribuye al CCD**
 - Disbiosis del microbioma
- ***Nosema* (6% vs 16%) patógeno, discusión si CCD**
 - Ubicuo, pandemia, en sinergia con otros
- **Tóxicos ambientales (17% vs 14%) contribuye al CCD**
 - Neonicotinoides, acaricidas, inhiben olfato
- ***Varroa* (26% vs 9%) pocos autores ardorosos CCD**

Otros patógenos



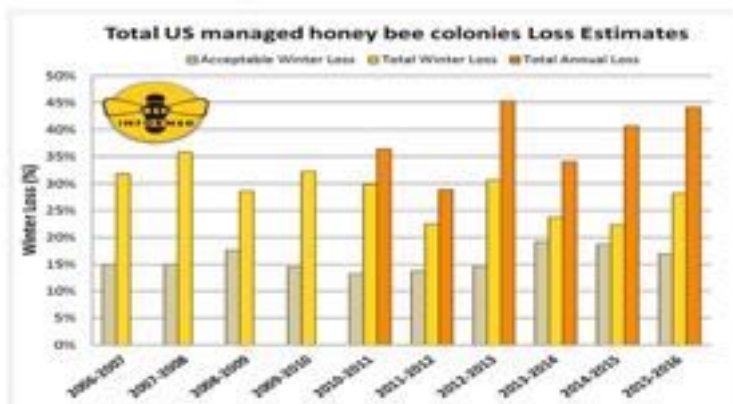
- | | |
|--------------------------------------|-----------------|
| • <i>Apocephalus borealis</i> (EEUU) | MOSCA |
| • <i>Vespa velutina</i> (España) | AVISPA |
| • <i>Aethina tumida</i> (Italia) | ESCARABAJO |
| • <i>Lotmaria passim</i> (global) | TRIPANOSOMÁTIDO |



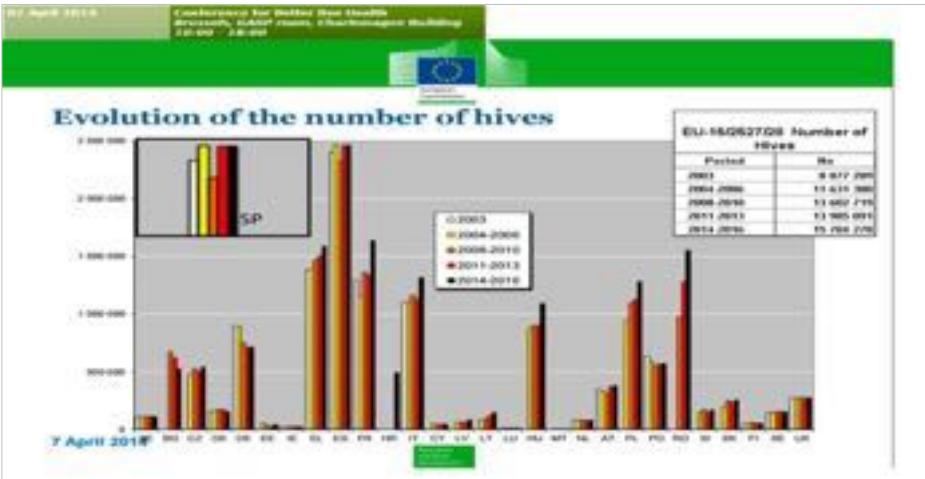
Nosema, a family of fungal gut parasites, and the *Vitroo destructor* mite are two relatively recent honey bee pathogens. A particularly virulent and newly emergent (ca. 2005) strand of *Nosema*, *Nosema ceriseae*, has become an area of research and concern around the world, especially in Spain. Both pathogens have been shown to interact with pesticides to weaken colony health more than either does alone. *Nosema* is a fast-spreading fungal gut pathogen that is thought to interfere with honey bees' ability to absorb nutrients (infected bees consume significantly more calories), and known to suppress immune response.¹⁰⁷⁷ *Vitroo* mites act as vectors, transmitting disease across and within colonies.



Fuente: <https://beeinformed.org>

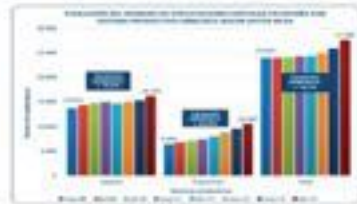


Nation's Beekeepers Lost 44 Percent of Bees in 2015-16

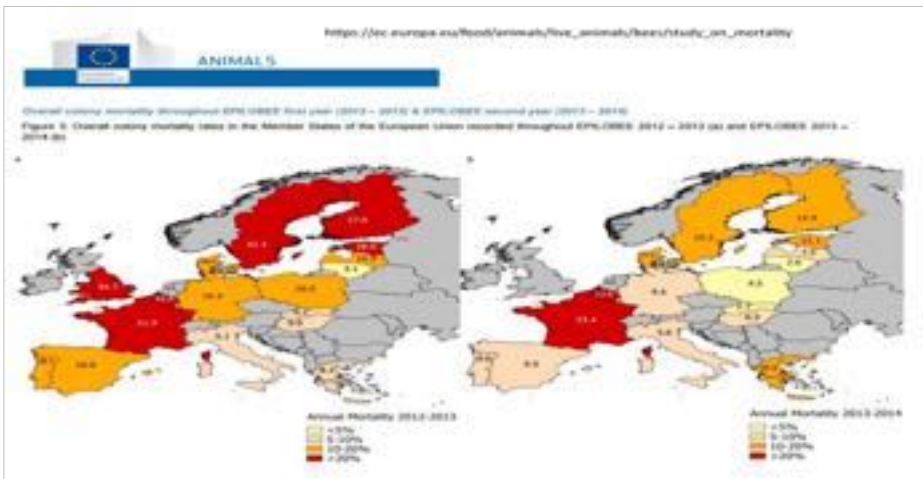




Fuente: FAOSTAD



Fuente: MAGRAMA



El año pasado de mil colmenas me quedaron trescientas

Este año las he multiplicado y saque 600 más

Ya han producido 1000 kg de miel



Austria
 Belgium
 Croatia
 Czech Republic
 Denmark
 Estonia
 Finland
 France
 Germany
 Greece
 Hungary
 Ireland
 Italy
 Latvia
 Lithuania
 Norway
 Poland
 Portugal
 Romania
 Slovakia
 Slovenia
 Spain
 Sweden
 Switzerland
 United Kingdom



**EAVE – FVE Survey on the European Veterinary
 Faculties' Curriculum**

49 Faculties by 16.12.2013



25 países / 60 facultades

Austria
 Belgium
 Croatia
 Czech Republic
 Denmark
 Estonia
 Finland
 France
 Germany
 Greece
 Hungary
 Ireland
 Italy
 Latvia
 Lithuania
 Norway
 Poland
 Portugal
 Romania
 Slovakia
 Slovenia
 Spain
 Sweden
 Switzerland
 United Kingdom



**EAVE – FVE Survey on the European Veterinary
 Faculties' Curriculum**

49 Faculties by 16.12.2013



25 países / 60 facultades



NUEVOS MÉTODOS *IN SÍLICO* Y CLÁSICOS DE SELECCIÓN DE MOLÉCULAS FARMACOLÓGICAMENTE ACTIVAS

PROF. DR. D. JOSÉ ANTONIO ESCARIO GARCÍA-TREVIJANO

Catedrático del Departamento de Parasitología

Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid

7 de noviembre de 2016






¿Saben Vds. que sus hijos o nietos pueden morir por fallos de la terapéutica?

¿Saben Vds. que la resistencia a los fármacos es el mayor riesgo Para nuestra esperanza de vida?

¿Saben Vds. que ya ha fallecido personas por fallos en la acción de los antibióticos?

¿Saben Vds. las previsiones de muertes que se estiman en el futuro por esta causa

¿Saben Vds. que han tenido que pasar casi 30 años para que aparezca una nueva generación de antibióticos (Teixobactina)




Cuando los antibióticos dejen de funcionar

MORIR DE UNA NEUMONIA O HERIDA INFECCIOSA, LAS CAUSAS DE MUERTE DE 700.000 PERSONAS MURIERON EN 2014 POR FALLO TERAPÉUTICO. SÓLO LA VERSIÓN RESISTENTE DE LA TUBERCULOSIS CAUSA 150000.

SEGÚN LA ONU EL MAYOR Y MAS URGENTE RIESGO PARA LA SALUD GLOBAL


Noviembre 2016

Encuentran una superbacteria resistente a todos los antibióticos

UNA CEPA DE *E. COLI* RESISTENTE A LA COLICISTINA, ANTIBIÓTICO QUE SE USA CONTRA LAS BACTERIAS MAS DIFÍCILES DE TRATAR. LAS RESISTENCIAS A LOS ANTIBIÓTICOS SE CEBAN CON ESPAÑA

Mayo 2016

Publicado en *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*

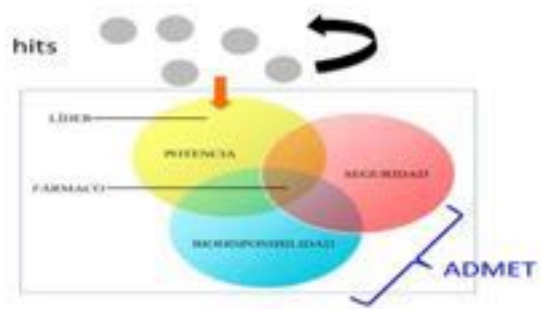


- 1.- Potenciar el avance de nuevas alternativas terapéuticas que garanticen la salud, y mantengan y alarguen nuestra esperanza de vida
- 2.- Mantener nuestro arsenal terapéutico, cuidando la prescripción, evitando la monoterapia, y cumplir estrictamente las pautas de dosificación

Perro → la rabia y el sarampión
 Gatos → toxoplasmosis;
 Caballos → el muermo y los rinovirus
 Las cabras → la brucelosis
 Cerdo →, las tenosis, salmonelosis y gripe
 Los bovinos →, tuberculosis, tenosis y la difteria
 Búfalo de agua, → la lepra;
 Pericos → la ornitosis

Mas del 50% (aproximadamente 868) de agentes infecciosos humanos proviene de los animales, y muchos son compartidos. Solamente los animales carnívoros de compañía, comparten con el hombre 374 agentes infecciosos.

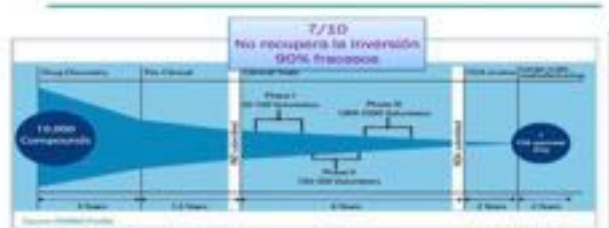
La Farmacología necesita un proceso dinámico de regeneración. Labor investigadora de todos los Departamentos relacionados con el área de la salud



Fases en el desarrollo de un fármaco:



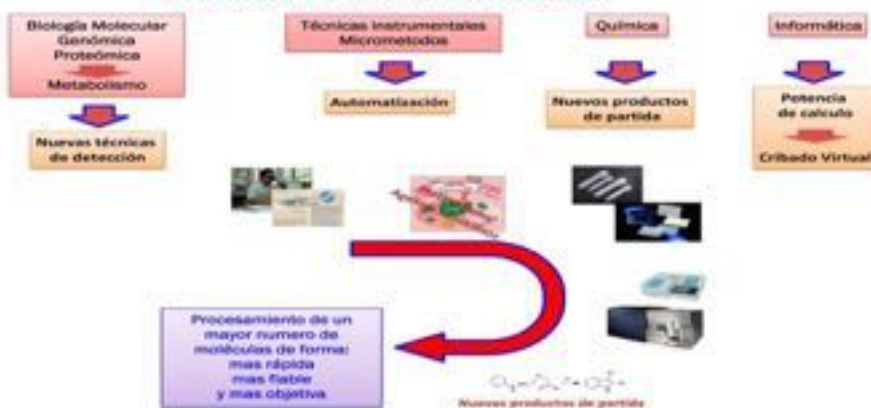
Inversión





¿Los intereses son los mismos en los Centros de investigación que en las transnacionales?

Evolución métodos de cribado






Introducción: Grupo de Investigación

Cluster de Medicina Innovadora: Templa Antiparasitaria

Plasmodium spp. ↔ *Trypanosoma cruzi*

Trichomonas vaginalis


Dr. José Antonio Escario
 Dra. Alicia Gómez Barrio
 Dr. Juan José Nogal Ruiz
 Cristina Fonseca (Postdoc.)
 Alexandra Ibáñez




Dr. Vicente J. Arán (IC)
 Dr. Felipe Reviriego (Postdoc)

Trichomonas vaginalis



- ✓ ETS no vírica de mayor prevalencia mundial (280 millones)
- ✓ Tratamiento por un único grupo de fármacos (5-nitroimidazoles)
- ✓ Fármaco de elección - metronidazol - de hace más de 56 años

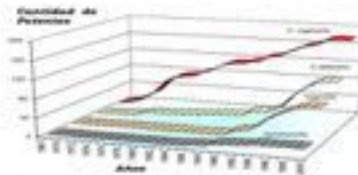
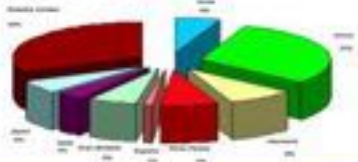


Figura 1. Evolución evolutiva de las parásitos estudiados entre 1967 y 2009 para el diagnóstico de vaginitis.



José Antonio Escario García-Trevijano; Alicia Gomez Barrio; Juan Jose Nogal Ruiz. P201500769. Derivados de 5-nitroindazol y su uso como agentes antiprotozoarios. España. 27/10/2015. Universidad Complutense de Madrid/CSIC.

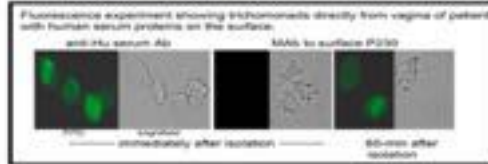
Trichomonas vaginalis



- ✓ ETS no vírica de mayor prevalencia mundial (280 millones)
- ✓ Tratamiento por un único grupo de fármacos (5-nitroimidazoles)
- ✓ Fármaco de elección - metronidazol - de hace más de 56 años
- ✓ Escaso riesgo en su manipulación
- ✓ Facilidad de manejo en el laboratorio
- ✓ Similitud metabólica con otros parásitos anaerobios

SIMILITUDES ENTRE *T. foetus* y *T. vaginalis*

- Ambos son amitocofreales y anaerobios
- Ambos carecen de orgánulos con DNA.
- Ambos poseen hidrogenosomas donde se descarboxila el piruvato para la síntesis de ATP
- En ambos el metabolismo es metabolizado en los hidrogenosomas.
- Ambos poseen cistein-proteasas, aunque las de *T. foetus* son de menor tamaño que las de *T. vaginalis* (<25 kDa y entre 60 y 120 kDa).
- En ambos las cistein-proteasas son cualitativamente diferentes las extracelulares y las internas
- Ambos muestran a la acción de los anticuerpos protegidos por proteínas del hospedador
- Ambas especies son capaces de generar daño, tanto en fibroblastos como en células musculares
- Ambas también son capaces de interactuar con la queratina, siendo capaces de ingerirla y digerirla
- Se ha conseguido que *T. foetus* exprese de forma estable la adhesina AP65 transfectada desde *T. vaginalis*. → Aumenta la capacidad de adhesión de la primera
- Los restos de ácido silícico parece favorecer la adhesión de *T. foetus* y dificultan la de *T. vaginalis*.



CRIBADO SECUENCIAL



2. Estandarización de un procedimiento de screening *in vitro*

Método clásico



Inconvenientes del recuento hemocitométrico



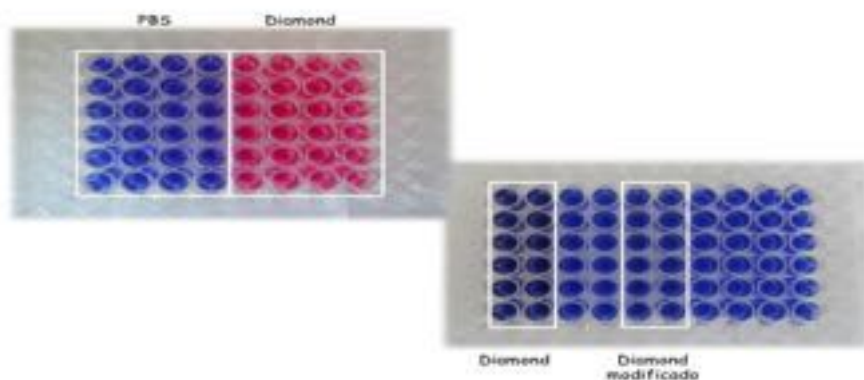
- ✓ Muchas horas al microscopio
- ✓ Ensayo de 3 compuestos/prueba
- ✓ Método poco objetivo

Búsqueda de nuevos métodos

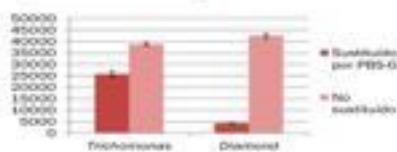
Fundamento del método espectrofluorimétrico :



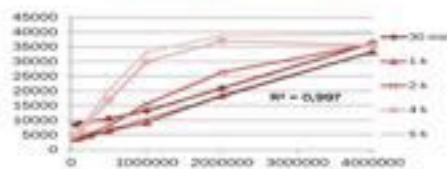
Reducción del colorante redox por acción del medio



Estandarización del método :



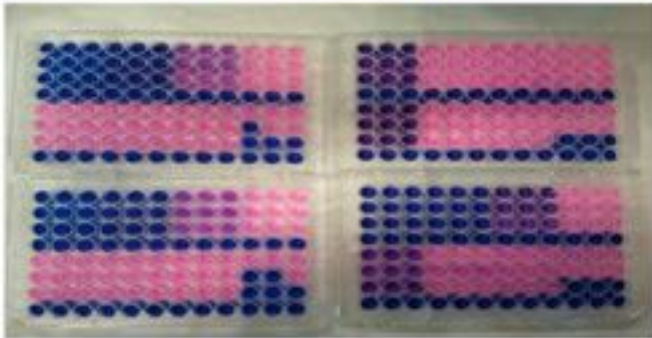
Tiempo (horas)	Concentración de RSZ			
	4 mM	3 mM	2 mM	1 mM
0,5	7,08	8,56	2,38	6,96
1	6,74	8,95	2,28	6,10
2	7,19	9,00	2,26	5,53
3	5,95	8,30	2,37	4,60
4	5,98	8,48	2,19	3,97
5	6,30	8,33	2,02	3,26



Fármacos	Actividad IC ₅₀ (µg/mL)	
	Resorufina	Neubauer
Metronidazol	0,579 ± 0,07	0,563 ± 0,05
Secnidazol	0,389 ± 0,04	0,234 ± 0,08
Octimazol	3,459 ± 0,43	2,786 ± 0,89



Pruebas in vitro.



Método de screening secuencial

1. Screening virtual

2. In vitro

2.1. Frente a *Trichomonas vaginalis*



2.2. Citotoxicidad inespecífica frente a células de mamíferos

3. In vivo



No obstante....



Cribado virtual



Análisis computacional de bases de datos de compuestos, dirigido a identificar y seleccionar un número limitado de candidatos que posean la actividad biológica deseada sobre un blanco terapéutico específico

Es una tecnología multidisciplinar, que necesita el apoyo, de la Biología, la Química Orgánica, las Matemáticas, la Computación y como no, de la Farmacología.

Presentan la ventaja de la rapidez y el bajo coste debido al carácter teórico del proceso.

Teóricamente actuarían como simuladores de los procesos Biológicos
 Por otro lado estos modelos permiten analizar entidades teóricas, aún no sintetizadas
 El objetivo final es el diseño dirigido de un ligando que tengan una alta probabilidad de éxito

MÉTODOS DE CRIBADO VIRTUAL





QSAR and Drug Design

Compuesto + biológico activo

Surf compuesto más improved biological activity

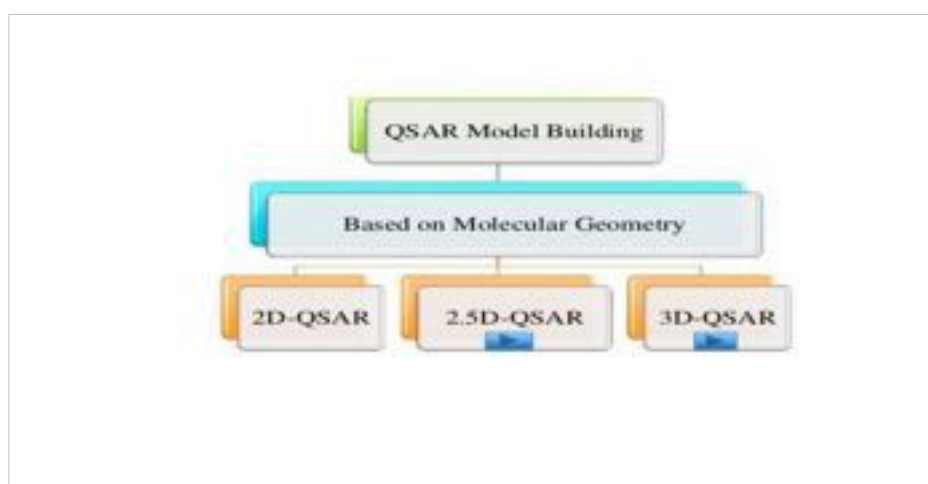
Richet 1893
Relaciona la toxicidad con las solubilidad de ciertos compuestos orgánicos

Hammet 1940
Fue el iniciador de la química cuantitativa (Physical Organic Chemistry)

Hansch y Fujita 1964
Estudieron la relación de la actividad biológica con las propiedades fisico-químicas → Ecuación de Hansch

Free y Wilson 1964
Establecieron un modelo de contribución aditiva de sustituyentes químicos a la actividad biológica







LABORATORIO DE INVESTIGACION EN QUÍMICA
ANÁLISIS DE SUSTANCIAS Y FARMACIA
BIOQUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA



**TOMOCOMD-CARDD: Un Novedoso
Enfoque para el Diseño de Fármacos
Antimicrobianos Asistido por
Computadora**

Investigación patrocinada y financiada por: (CONACYT)
y: (Secretaría de Salud)

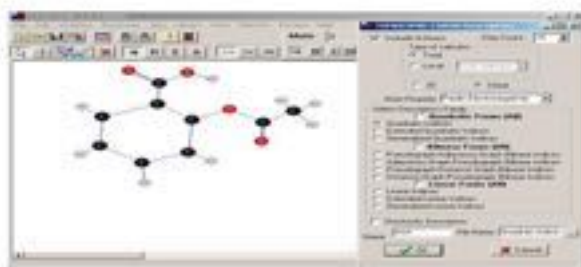
Autores: Yancy Yulda Santiago,
Teresa del Oro Yancy Muñoz Rivas,
Prof. MSc. Ricardo Muñoz Marín.

2008-2009

TOMOCOMD (siglas de
TOPological **MO**lecular
COMputer **DES**ign

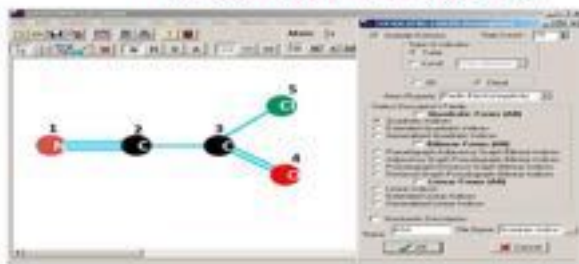


TOMOCOMD-CARDD (Computer-Aided Rational Drug Design)

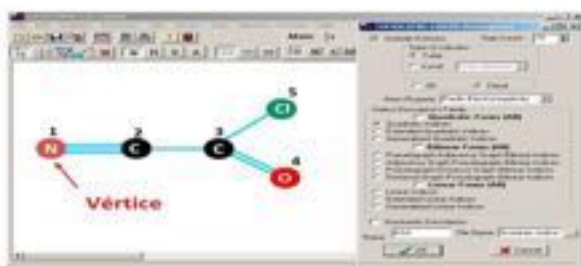


Conversión de la fórmula en una variable numérica

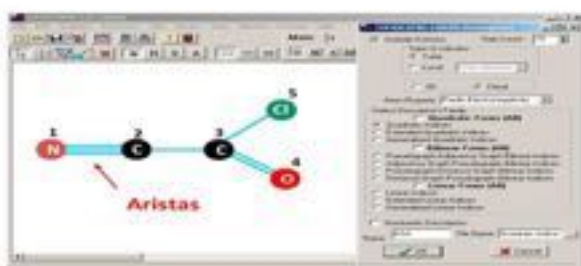
TOMOCOMD-CARDD (Computer-Aided Rational Drug Design)



Conversión de la fórmula en una variable numérica



Conversión de la fórmula en una variable numérica



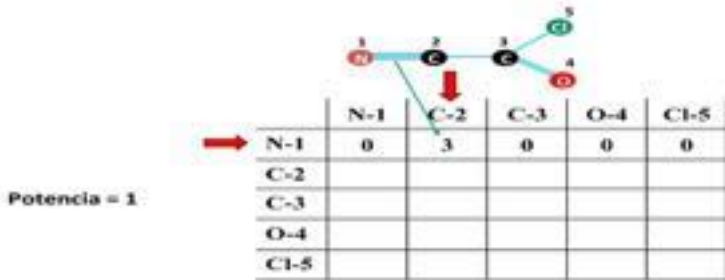
Conversión de la fórmula en una variable numérica



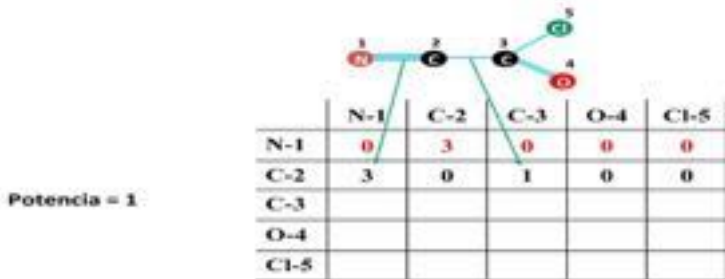
Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5
N-1					
C-2					
C-3					
O-4					
Cl-5					

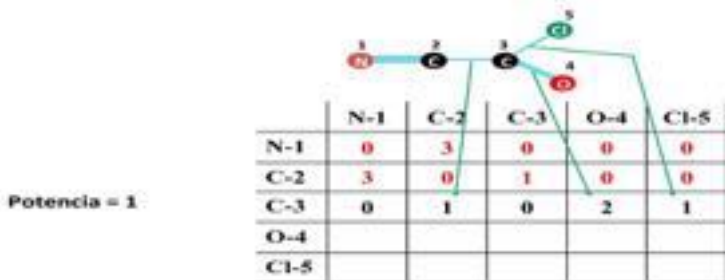
Conversión de la formula en una variable numérica



Conversión de la formula en una variable numérica



Conversión de la formula en una variable numérica



Conversión de la formula en una variable numérica



Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	CI-5
N-1	0	3	0	0	0
C-2	3	0	1	0	0
C-3	0	1	0	2	1
O-4	0	0	2	0	0
CI-5					

Conversión de la formula en una variable numérica



Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	CI-5
N-1	0	3	0	0	0
C-2	3	0	1	0	0
C-3	0	1	0	2	1
O-4	0	0	2	0	0
CI-5	0	0	1	0	0

Matriz No Estocástica de Orden 1

Conversión de la formula en una variable numérica



Grado del Vértice

Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	CI-5	$\sum \delta$
N-1	0	3	0	0	0	
C-2	3	0	1	0	0	
C-3	0	1	0	2	1	
O-4	0	0	2	0	0	
CI-5	0	0	1	0	0	

Grado del Vértice = Cantidad de aristas que inciden en el vértice

Conversión de la formula en una variable numérica



Grado del Vértice

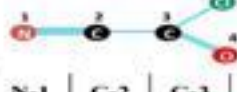
Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5	\sum
N-1	0	3	0	0	0	3
C-2	3	0	1	0	0	
C-3	0	1	0	2	1	
O-4	0	0	2	0	0	
Cl-5	0	0	1	0	0	

Grado del Vértice = Cantidad de aristas que inciden en el vértice

Conversión de la formula en una variable numérica

TOMOCOMD-CARDD



Grado del Vértice

Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5	\sum
N-1	0	3	0	0	0	3
C-2	3	0	1	0	0	4
C-3	0	1	0	2	1	
O-4	0	0	2	0	0	
Cl-5	0	0	1	0	0	

Grado del Vértice = Cantidad de aristas que inciden en el vértice

Conversión de la formula en una variable numérica



Grado del Vértice

Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5	\sum
N-1	0	3	0	0	0	3
C-2	3	0	1	0	0	4
C-3	0	1	0	2	1	4
O-4	0	0	2	0	0	2
Cl-5	0	0	1	0	0	1

Grado del Vértice = Cantidad de aristas que inciden en el vértice

PROCESOS ESTOCÁSTICOS: Cadenas de Markov

Una sucesión de observaciones X_1, X_2, \dots se denomina proceso estocástico... si los valores de estas observaciones no se pueden predecir exactamente, pero se pueden especificar las probabilidades para los distintos valores posibles en cualquier instante de tiempo.

Una cadena de Markov es un proceso estocástico en el que si el estado actual X_n y los estados previos X_1, \dots, X_{n-1} son conocidos, la probabilidad del estado futuro (F) X_{n+1} , NO depende de los estados anteriores X_1, \dots, X_{n-1} , y F SOLAMENTE depende del estado actual X_n .

Conversión de la matriz en estocástica o probabilística

Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	CI-5	δ
N-1	0	3	0	0	0	3
C-2	3	0	1	0	0	4
C-3	0	1	0	2	1	4
O-4	0	0	2	0	0	2
CI-5	0	0	1	0	0	1

Grado del Vértice

Conversión de la matriz en estocástica o probabilística

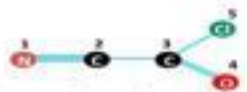
Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	CI-5	δ
N-1	0	1	0	0	0	3
C-2	3	0	1	0	0	4
C-3						
O-4						
CI-5						

Grado del Vértice

Matriz Estocástica

Conversión de la matriz en estocástica o probabilística



Grado del Vértice

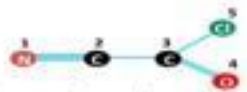
Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	CI-5	δ
N-1	0	1	0	0	0	3
C-2	0,75	0	0,25	0	0	4
C-3						
O-4						
CI-5						

Matriz Estocástica

Conversión de la matriz en estocástica o probabilística

	na	nb	nc	nd	ne	nf
na	0	1	0	0	0	0
nb	0,75	0	0,25	0	0	0
nc	0	0,25	0	0,5	0,25	0
nd	0	0	1	0	0	0
ne	0	0	1	0	0	0
nf	0	0	0	0	1	0



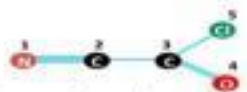
Grado del Vértice

Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	CI-5	δ
N-1	0	1	0	0	0	3
C-2	0,75	0	0,25	0	0	4
C-3	0	0,25	0	0,5	0,25	4
O-4	0	0	1	0	0	2
CI-5	0	0	1	0	0	1

Matriz Estocástica

Conversión de la matriz en estocástica o probabilística



Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	CI-5	δ
N-1	0	1	0	0	0	1
C-2	0,75	0	0,25	0	0	1
C-3	0	0,25	0	0,5	0,25	1
O-4	0	0	1	0	0	1
CI-5	0	0	1	0	0	1

Matriz Estocástica de orden 1

Caracterización de la molécula



Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5	δ
N-1	0	3	0	0	0	3
C-2	3	0	1	0	0	4
C-3	0	1	0	2	1	4
O-4	0	0	2	0	0	2
Cl-5	0	0	1	0	0	1

Matriz No Estocástica de Orden 1

Caracterización de la molécula

Cada átomo tiene una características como por ejemplo la masa atómica, la polarizabilidad, electronegatividad de pauling, radio de van der waals...etc. A cada una de esas propiedades se le conoce como VECTOR.



M = 12,01
P = 1,76
E = 2,55
V = 22,449

Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5	δ
N-1	0	3	0	0	0	3
C-2	3	0	1	0	0	4
C-3	0	1	0	2	1	4
O-4	0	0	2	0	0	2
Cl-5	0	0	1	0	0	1

Matriz No Estocástica de Orden 1

Caracterización de la molécula

Potencia = 1



VECTOR
MASA ATOMICA

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5
N-1	0	3	0	0	0
C-2	3	0	1	0	0
C-3	0	1	0	2	1
O-4	0	0	2	0	0
Cl-5	0	0	1	0	0

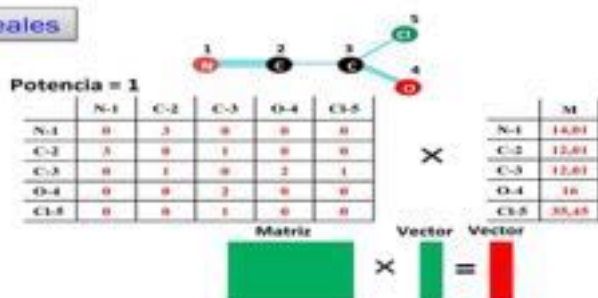
Topológica

	M
N-1	14,01
C-2	12,01
C-3	12,01
O-4	16
Cl-5	35,45

Química

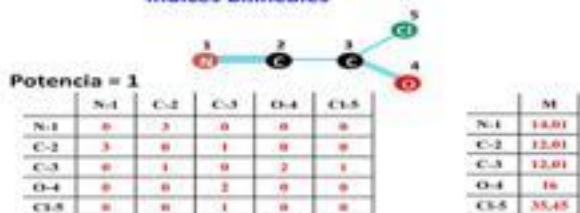
Cálculo de los distintos índices

Índices lineales

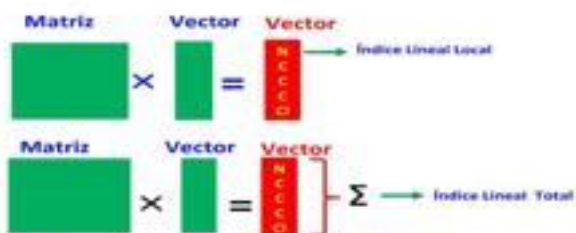


Cálculo de los distintos índices

Índices lineales Índices Cuadráticos Índices Bilineales



Cálculo de los distintos índices



Índice Lineal Total No Estocástico basado en Relaciones de Átomos

Se obtiene un nuevo vector que ya lleva implícito ese valor que va a caracterizar el compuesto para esa propiedad.

- Cada elemento de ese vector nos indica el Índice Lineal Local para esa molécula.
- Un buen descriptor, tiene que ser capaz de definir la molécula localmente.
- La sumatoria de esos índices locales nos dará como resultado el índice lineal total.

Cálculo de los distintos índices

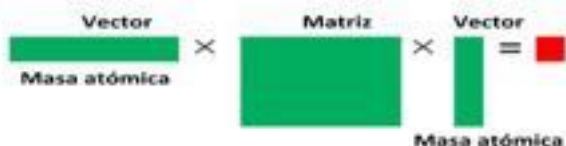


$$f_k(\bar{x}_i) = \sum_{j=1}^n m_{ij} x_j^k = [X^k]^k = M^k [X]$$

Esta sería la fórmula matemática y matricial que calcula esos índices

Cálculo de los distintos índices

Índice cuadrático



Índice Cuadrático Total

$$q_k(\bar{x}) = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n m_{ij} x_i^k x_j^k = [X]^k t M^k [X]$$

Cálculo de los distintos índices

Índice bilineal



Índice Bilineal Total

$$b_k(\bar{x}, \bar{y}) = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n m_{ij} x_i^k y_j^k = [X]^k t M^k [Y]$$

Matriz de orden 1



Potencia = 1

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5	δ
N-1	0	3	0	0	0	3
C-2	3	0	1	0	0	4
C-3	0	1	0	2	1	4
O-4	0	0	2	0	0	2
Cl-5	0	0	1	0	0	1

Matriz No Estocástica de Orden 1

Potencia = 2



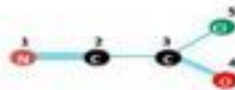
	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5
N-1	0	3	0	0	0
C-2	3	0	1	0	0
C-3	0	1	0	2	1
O-4	0	0	2	0	0
Cl-5	0	0	1	0	0

X

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5
N-1	0	3	0	0	0
C-2	3	0	1	0	0
C-3	0	1	0	2	1
O-4	0	0	2	0	0
Cl-5	0	0	1	0	0

Nos dice con quien se relaciona cada átomo de la molécula en dos pasos y se calcula matemáticamente al multiplicar dos matrices de orden uno.

Potencia = 2



	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5
N-1	0	3	0	0	0
C-2	3	0	1	0	0
C-3	0	1	0	2	1
O-4	0	0	2	0	0
Cl-5	0	0	1	0	0

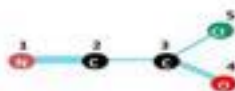
X

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5
N-1	0	3	0	0	0
C-2	3	0	1	0	0
C-3	0	1	0	2	1
O-4	0	0	2	0	0
Cl-5	0	0	1	0	0

$M_2 =$

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5
N-1	0				
C-2					
C-3					
O-4					
Cl-5					

Potencia = 2



Potencia = 2

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5
N-1	0	3	0	0	0
C-2	3	0	1	0	0
C-3	0	1	0	2	1
O-4	0	0	2	0	0
Cl-5	0	0	1	0	0

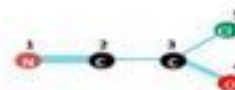
X

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5
N-1	0	2	0	0	0
C-2	3	0	1	0	0
C-3	0	1	0	2	1
O-4	0	0	2	0	0
Cl-5	0	0	1	0	0

$M_2 =$

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5
N-1	0	0			
C-2					
C-3					
O-4					
Cl-5					

Potencia = 2



Potencia = 2

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5
N-1	0	3	0	0	0
C-2	3	0	1	0	0
C-3	0	1	0	2	1
O-4	0	0	2	0	0
Cl-5	0	0	1	0	0

X

	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5
N-1	0	3	0	0	0
C-2	3	0	1	0	0
C-3	0	1	0	2	1
O-4	0	0	2	0	0
Cl-5	0	0	1	0	0

$M_2 =$

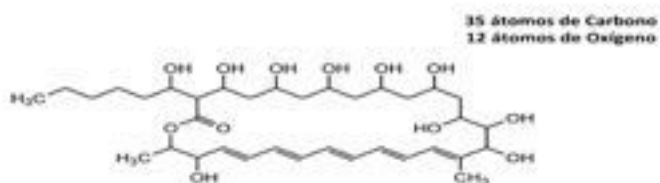
	N-1	C-2	C-3	O-4	Cl-5
N-1	0	0	3	0	0
C-2	0	0	0	2	1
C-3	3	0	0	0	0
O-4	0	2	0	2	2
Cl-5	0	1	0	2	1



En el ejemplo, se realizarían cálculos hasta una potencia 15



Se obtiene una mejor información topológica y química del compuesto



Pentamicina

El número total de índices empleados puede ser muy grande.
Por ejemplo en nuestro caso empleamos:

- ✓ Índices no estocásticos y estocásticos (2)
- ✓ Para cada caso anterior: índices cuadráticos, lineales y bilineales. (12)
- ✓ Totales y Locales
- ✓ Teniendo en cuenta o no la presencia de átomos de Hidrógenos para los índices totales
- ✓ Presencia de heteroátomos con y sin Hidrógenos
- ✓ Halógenos con y sin Hidrógenos para los índices locales.
- ✓ En todos estos cálculos se utilizaron las propiedades atómicas de Masa Atómica, Polarizabilidad, radio de Van der Waals y Electronegatividad de Pauling.
- ✓ En el caso de índices bilineales se utilizaron las 6 combinaciones posibles de estas propiedades atómicas.

Ensayos *in silico*



- ✓ Selección de compuestos y cálculo de los descriptores moleculares
- ✓ Diseño de las SE y SP utilizando Análisis de Cluster (AC)
- ✓ Desarrollo y validación de la función discriminante
- ✓ Ceibado *in silico* de nuevos compuestos obtenidos por síntesis química y de compuestos con otros usos farmacológicos

Análisis de cluster

Se utiliza la información de una serie de variables para cada sujeto y conforme a esas variables se mide la similitud entre ellos.

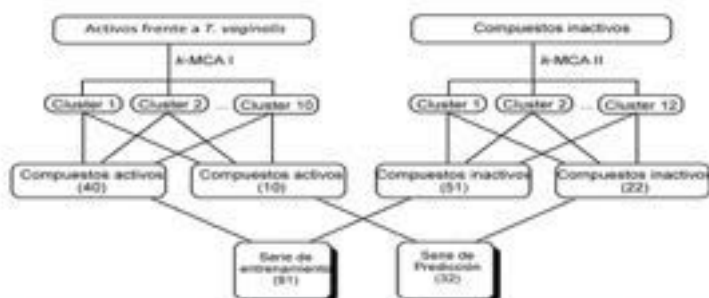
Posteriormente se agrupan en grupos homogéneos internamente y diferentes entre sí.

Los valores obtenidos, solo sirven para ese diseño: La elección de los individuos, las variables elegidas, el criterio de similitud utilizado, el nivel de agrupación final elegido: **definen resultados diferentes**



Nosotros utilizamos el modo jerárquico, que es una mezcla entre los métodos aglomerativos y los disociativos, con el objetivo de minimizar algunas distancias y maximizar las medidas de similitud

Diseño de las SE y SP utilizando Análisis de Cluster (AC)



El análisis de cluster jerárquico, nos permite agrupar los individuos más homogéneos de una serie

Diseño de las SE y SP utilizando Análisis de Cluster (AC)



Desarrollo y validación de la función discriminante

El análisis discriminante permite corroborar las características moleculares que mejor describen la actividad que constituye la variable dependiente



En el desarrollo de las funciones discriminantes utilizamos los índices obtenidos en los modelos QSAR y el análisis discriminante final del paquete de programa STATISTICA

Desarrollo y validación de la función discriminante

12 Modelos de Predicción

- Ecuaciones de Clasificación

$$A = a_1q_1(x) + a_2q_2(x) + a_3q_3(x) + \dots + a_nq_n(x) + c$$

- Parámetros estadísticos

λ de Wilks, el valor de F y el cuadrado de la distancia de Mahalanobis (D^2).

Porcentajes de buena clasificación (Exactitud, Q)

Coefficiente de correlación de Matres (C), sensibilidad, especificidad y la relación de falsos positivos

Validación Cruzada



> Validación de los 12 modelos utilizando compuestos con y sin actividad frente a *F. vaginalis*

Validación Interna

Serie de Predicción (SP)



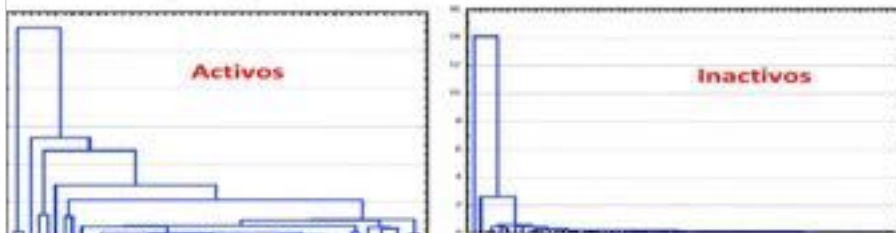
Validación Externa

Compuestos con Actividad Publicada



Fiabilidad de las bases de datos confeccionadas

Dendrograma de los resultados del k-NNCA (k-nearest neighbor cluster algorithm) jerárquico de los compuestos



Un modelo de clasificación es altamente dependiente de la calidad de los datos seleccionados. Como puede verse en ambos dendrogramas, hay un gran número de subconjuntos diferentes que demuestran la variabilidad molecular de los compuestos químicos seleccionados en la confección de la base de datos.

Resultados

Parámetros estadísticos de los modelos obtenidos

	Coefficiente Correlación Matthews (C)	Exactitud 'Q _{total} ' (%)	Sensib. 'hit rate' (%)	Especific. (%)	Falsos Positivos 'false alarm rate' (%)
Índice Cuadrático Apo-enzima No-enzotático (Ej. 4.7)					
SI	0,75	87,91	87,50	87,18	9,8
SP	0,71	87,80	80,00	80,00	9,3
Índice Cuadrático Apo-enzima Enzotático (Ej. 4.8)					
SI	0,75	89,01	87,5	87,8	9,80
SP	0,67	84,38	80,00	77,73	13,68
Índice Lineal Apo-enzima No-enzotático (Ej. 4.9)					
SI	0,78	89,01	87,50	87,50	9,80
SP	0,71	87,80	80,00	80,00	9,08
Índice Lineal Apo-enzima Enzotático (Ej. 4.10)					
SI	0,65	82,41	87,50	78,57	17,65
SP	0,65	84,38	80,00	77,73	13,68
Índice Bifásico Apo-enzima No-enzotático (Ej. 4.11)					
SI	0,80	90,11	90,00	87,80	9,80
SP	0,85	93,75	90,00	90,00	4,55
Índice Bifásico Apo-enzima Enzotático (Ej. 4.12)					
SI	0,73	86,91	87,50	85,00	11,70
SP	0,71	87,80	80,00	80,00	9,08

Resultados

Parámetros estadísticos de los modelos obtenidos

	Coef. Correl. Matthews (C)	Exact. 'Q _{total} ' (%)	Sensib. 'hit rate' (%)	Especif. (%)	Falsos Positivos 'false alarm rate' (%)
Índice Cuadrático Apo-Atomo No-enzotático (Ej. 4.1)					
SI	0,89	94,44	87,18	100,00	8,93
SP	0,75	89,34	87,50	87,50	11,11
Índice Cuadrático Apo-Atomo Enzotático (Ej. 4.2)					
SI	0,73	86,67	84,67	84,67	11,70
SP	0,75	89,34	87,50	87,50	11,11
Índice Lineal Apo-Atomo No-enzotático (Ej. 4.3)					
SI	0,91	95,90	93,33	97,3	2,0
SP	0,81	90,49	90,00	81,82	10,0
Índice Lineal Apo-Atomo Enzotático (Ej. 4.4)					
SI	0,83	91,11	84,67	94,29	3,02
SP	0,77	88,71	80,00	81,82	10,88
Índice Bifásico Apo-Atomo No-enzotático (Ej. 4.5)					
SI	0,89	94,81	90	97	2
SP	0,79	90,63	90	82	9
Índice Bifásico Apo-Atomo Enzotático (Ej. 4.6)					
SI	0,87	93,41	90	95	4
SP	0,83	93,75	90	90	5

Resumen de los Resultados obtenidos

Compuestos de nueva síntesis			
Activos			
TOTAL	CV (+)	Act. in vitro (+)	%
71	Alguno de los modelos 48	32	66,67
71	todos los modelos 40	29	72,50
Inactivos			
TOTAL	CV (-)	Act. in vitro (-)	%
71	todos los modelos 23	23	100,00

Resumen de los Resultados obtenidos

Compuestos de síntesis obtenidos de la literatura			
Activos			
TOTAL	CV (+)	Act. in vitro (+)	%
	Alguno de los modelos		
5-4	46	35	72,92
	todos los modelos		
5-4	23	29	86,96
Inactivos			
TOTAL	CV (-)	Act. in vitro (-)	%
	todos los modelos		
5-4	8	7	87,50

Resumen de los Resultados obtenidos

No. Nombre	Actividad frente a:	Producción por el modelo
087 Nicotina	Cervicales	13
014 Nicotina	Epiglotarica	14
027 Nicotina	Cervicales	14
004 Nicotina	Epiglotarica	14
219 Nicotina	Cervicales	14
006 Nicotina	Epiglotarica	16
004 Meliponina	Plasmotoma	19
004 Nicotina	Amphiboloma	13
007 Triclorina	Triclorina Argentina	13

No. Nombre	Actividad frente a:	Ensayo in vitro
087 Nicotina	Cervicales	0
014 Nicotina	Epiglotarica	0
027 Nicotina	Cervicales	0
004 Nicotina	Epiglotarica	0
219 Nicotina	Cervicales	0
006 Nicotina	Epiglotarica	0
004 Meliponina	Plasmotoma	0
004 Nicotina	Amphiboloma	0
007 Triclorina	Triclorina Argentina	-

Tabla. Ejemplos de fármacos comerciales desarrollados por QCAR. (Modificado de la tabla en ref. 5). (Ref. 5, citado en ref. 2 y 3).

Compuesto	Nombre comercial (Compañía farmacéutica)	Uso	Método computacional	Ref.
Trifluorometil	NORADON [®] (Korfa Pharmaceuticals)	Antidopaminérgico	QCAR	Engel, 1980 SC000100.52 8
Capogrel	CAPOFINAS [®] (Capfin)	Antidopaminérgico	QCAR	
Levamisol	COZGAR [®] (ZofPac (BMS) Merck)	Antidopaminérgico	Modelado molecular y QCAR	Dennis, 1991 ©Citado en 5)



**SEDES MADRILEÑAS DE LA ESCUELA DE
VETERINARIA: ARQUITECTURA Y PROFESIÓN
(RECOLETOS, SAN FRANCISCO, CURTIDORES Y
EMBAJADORES)**

ILMO SR. DR. D. ÁNGEL SALVADOR VELASCO

*Dr. en Farmacia por la Universidad Complutense de Madrid y
Dr. en Veterinaria por la Universidad de Extremadura*

D.^a LAURA R. SALVADOR GONZÁLEZ

*Licenciada en Arquitectura por la Universidad Politécnica de Madrid
14 de noviembre de 2016*

RESUMEN

El veterinario militar Espeso del Pozo encuentra en el Museo Municipal de Madrid una litografía de la fachada de la Escuela de Veterinaria de Madrid en el Paseo de Recoletos, que publica en 1948, realizando de ella una bella descripción: “*Este edificio tiene dividido su frente en dos alas iguales, a las que sirve de unión una torre cuadrangular. En ella un reloj cuenta las horas nuevas que la profesión ha empezado a vivir*”. Es reproducida a partir de entonces con profusión por ser la única representación conocida de la primitiva Escuela de Veterinaria.

Al mostrar a mi hija esta litografía cuando aún se encontraba cursando sus estudios de arquitectura, me advierte de que el edificio ha

sido realizado en dos tiempos ya que en el ala derecha se observa un volumen adosado, que el ala izquierda está oculta por árboles que no permiten determinar la simetría y que la puerta de entrada sugiere la existencia de un patio interior. Esto me llevó al convencimiento de que es necesario incorporar al relato historiográfico veterinario una visión arquitectónica, y está en el origen de las comunicaciones sobre los cuatro edificios que albergaron la Escuela de Veterinaria de Madrid presentadas conjuntamente a los sucesivos Congresos de Historia de la Veterinaria desde 2013.

Entre la primitiva ubicación en Recoletos de la Escuela de Veterinaria, pronto convertido en centro neurálgico de la ciudad y que supone la principal dificultad para mantener su estratégica situación, hasta que en Embajadores, el barrio más deprimido del Madrid del momento, se levanta por primera vez un centro específicamente construido para la enseñanza de la Veterinaria, las vicisitudes contra las que sus catedráticos han de luchar son numerosas.

Estos trabajos tienen su culminación en esta conferencia impartida por ambos en la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España, enriquecida ahora con nuevas búsquedas realizadas en diferentes archivos y bibliotecas, que tienen como fruto tanto el conocimiento de la inédita planimetría de los cuatro edificios como de los esfuerzos realizados por directores y catedráticos para mejorar las condiciones docentes, que en algunos momentos llegan a ser dramáticas.

Palabras clave: Veterinaria, Arquitectura, Francisco Jareño, Recoletos, Embajadores, San Francisco, Curtidores

PROLEGÓMENOS DE LA ESCUELA DE VETERINARIA DE MADRID

A través de Antonio Porlier, secretario del Despacho de Gracia y Justicia, sabemos que en la Junta de Estado celebrada a 1 de septiembre de 1788 se trata sobre el establecimiento en España de Escuelas de Veterinaria¹. Este acuerdo, es el origen de la real orden dictada unos días después, el 9 de septiembre, por la que se encarga a los veterinarios militares Segismundo Malats e Hipólito Estévez la elaboración de un

¹ SALVADOR VELASCO A., *El inicio de la Veterinaria en España*, Ed. Colegio Oficial de Veterinarios de Sevilla, Madrid 2015, I, pp. 189-190. Antonio Porlier dirige su oficio al conde de Floridablanca, primer secretario de Estado y del Despacho Universal. Reproducción del documento en p. 190.

plan para la instauración de dos Escuelas de Veterinaria, una en Madrid y otra en Córdoba, las dos ciudades que cuentan con Reales Caballerizas. Representa el compromiso oficial de la instauración en España de la enseñanza metódica de la medicina veterinaria.

La real orden se dicta tres meses antes del fallecimiento de Carlos III, y poco más de un mes desde que Malats y Estévez, respectivos mariscales mayores de los Regimientos de Dragones de Lusitania y Almansa, hayan regresado a España desde la Escuela de Veterinaria de Alfort con su formación veterinaria concluida.

A 12 de enero de 1789, solo días después de ser entronizado Carlos IV, Malats y Estévez presentan el “plan” para la Escuela de Veterinaria que les ha sido solicitado. Está basado en el vigente en la Escuela de Veterinaria de Alfort, si bien se le proporciona un carácter militar, lo que no resulta difícil dada la rigurosidad normativa existente en la escuela francesa, entre monacal y castrense. Pero realizan algunas modificaciones en el plan docente, que hemos calificado de “ocurrencias”. Aduciendo la falta de profesores suficientemente preparados, Malats y Estévez desestiman la propuesta de apertura de una escuela en Córdoba, comprometiéndose ambos a impartir todas las asignaturas en el único centro de enseñanza que a su juicio es conveniente implantar (recordemos que la mayor parte de Escuelas de Veterinaria abiertas en Europa se constituyen con un único veterinario formado en Alfort o Lyon). Se da traslado al rey de este “plan”, siendo evacuado al Consejo de Castilla para su examen.

En 1790 el Consejo de Castilla nombra una comisión formada por el barón de Albalate, Josef Le Bailly y Pedro Pablo Pomar, los mismos “expertos” que ya fueron designados para valorar el resumido reglamento para una Escuela de Veterinaria realizado por Bernardo Rodríguez en 1784². En esta ocasión, su cometido es evaluar las “propuestas” enviadas por Alonso de Rus directamente al rey en mayo de 1787³, el “reglamento” publicado en prensa por Bernardo Rodríguez en

² Sobre los componentes de esta comisión, véase: SALVADOR (2015), I, pp. 152-153.

³ De Rus promueve la apertura de cinco escuelas de veterinaria, elevando al rey un extenso informe a 1 de mayo de 1787. Véase: *Diario de Madrid*, 8 y 9 de febrero de 1789, 39 y 40, pp. 153-154 y 157-158.

junio de 1788⁴, y el “plan” formado por Malats y Estévez en enero de 1789.

Entre los tres trabajos evaluados, más allá de su contenido, hay una diferencia fundamental: mientras la realización de uno ha sido ordenada oficialmente, los otros dos parten de una iniciativa propia dada a conocer públicamente.

La comisión de “expertos” se forma para dar una pátina de imparcialidad a una decisión tomada de antemano: la orientación militar que se ha decidido tenga la Escuela de Veterinaria lleva a la inequívoca designación de Malats y Estévez como los dos militares que han de ejercer su dirección. Se elige una forma suave de exclusión de sus teóricos competidores, Bernardo Rodríguez y Alonso de Rus. El primero, considerado un excelente profesional y situado en un puesto de relevancia como es la asistencia clínica y el herrado de los mejores caballos de Carlos IV, la misma labor que anteriormente ha realizado para Carlos III y posteriormente hará para Fernando VII; y el segundo, un reputado profesional, con exitosa obra publicada, que ejerce como mariscal en el Real Cuerpo de Guardias de Corps, una acreditada unidad que se encarga de la seguridad personal del rey.

Por real orden de 11 de junio de 1791, el Consejo de Castilla determina que el reglamento presentado por Malats y Estévez debe ser el adoptado como base para el gobierno y enseñanza de la Escuela de Veterinaria de Madrid, encargándose un informe sobre su contenido y antecedentes al príncipe de Monforte y al duque de la Cañada, nombrados por el rey comisionados para el establecimiento de la Escuela de Veterinaria (no protectores como se les ha venido denominando). El príncipe de Monforte es el militar representante del Supremo Consejo de Guerra, y el duque de la Cañada lo es del Consejo de Castilla, de forma que en la Escuela están representadas dos de las más altas instituciones

⁴ *Correo de Madrid*, 30 de junio de 1788, pp. 1-31. Sin el número correlativo que le corresponde en la colección del periódico por tratarse de un número extraordinario, se publica “*Reglamento que se debe seguir en una escuela veterinaria: sacado con la mayor precisión del que se observa en las reales escuelas veterinarias de Francia*”, firmado por “Don B.R.M.”, que se corresponde con su nombre completo, Bernardo Rodríguez Marinas. Tiene 31 páginas, hecho muy destacable teniendo en cuenta que cada número ordinario del *Correo* durante ese año tiene 4 u 8 páginas. El que se trate de un número extraordinario y el elevadísimo número de páginas que excede el habitual, nos lleva a pensar en una financiación de la edición cuanto menos parcial por parte del propio Bernardo Rodríguez.

de la Nación. Los comisionados, tras la apertura de la Escuela, pasarán a denominarse protectores de la misma.

Los comisionados encargan a Malats y Estévez la búsqueda en la periferia madrileña del lugar más adecuado para ubicar la Escuela de Veterinaria, teniendo en cuenta que deberá situarse “*en las extremidades de Madrid donde se podrá establecer cómodamente sin perjuicio de la salud, policía, y aspecto público*”. Los futuros directores de la Escuela de Veterinaria realizan la elección del terreno dentro de unos límites acotados de antemano, situándola en el eje Prado-Recoletos pero en el punto más alejado del mismo, ciñéndose de este modo a la orden recibida. Como veremos a continuación, se sitúa en el máximo exponente ilustrado en la Corte.

En un completo informe remitido a 30 de julio de 1791, dado a conocer por el académico Pérez García, Malats y Estévez consideran que, tras un análisis cuidadoso y reflexivo de los factores que estiman necesarios y teniendo en cuenta los condicionantes previos, el terreno situado a la derecha de la Puerta de Recoletos como el más apropiado para su establecimiento. Creen que la huerta perteneciente a la congregación de San Felipe Neri no presentará problemas de adquisición dada la poca utilidad que se le obtiene; que el terreno existente es suficiente para levantar además del edificio principal, el hospital y las oficinas; con capacidad incluso para ensayos y experimentos de agricultura y economía rural; con agua suficiente, cercado por una muralla y separado del vecindario; con una situación cercana a la Escuela de Química y Metalurgia y no distante del Real Jardín Botánico, “para que puedan los alumnos concurrir a dichas lecciones”; y finalmente, su situación de relativa proximidad permite que los caballos y mulas enfermos pertenecientes tanto a la Real Caballeriza como a los habitantes de Madrid, sean atendidos en la Escuela de Veterinaria⁵.

Esta última razón nos parece especialmente relevante, pues pone de manifiesto tanto la vocación de servicio público que se quiere dar a través de su caballeriza-hospital, como la conexión con la Real Caballeriza, no circunscrita únicamente a la pertenencia de sus dos directores a ambas instituciones. Los comisionados se muestran de acuerdo con la

⁵ PÉREZ GARCÍA, J.M., “La primera Escuela de Veterinaria”. En: *Libro de actas IV Congreso de Historia Militar, Guerra y milicia en la España del X Conde de Aranda*, Ed. Departamento de Cultura y Turismo del Gobierno de Aragón, Zaragoza 1998, pp. 264-285, p. 272. Originales en: ARCHIVO GENERAL DE LA ADMINISTRACIÓN (A.G.A.), sección educación, caja 32/16360.

situación y condiciones del lugar elegido, poniendo en conocimiento del rey los sólidos argumentos esgrimidos por Segismundo Malats y por Hipólito Estévez para la elección, a los que no se puede negar sentido práctico y olfato inmobiliario. Que la designación de Malats y Estévez como directores de la Escuela de Veterinaria está realizada de antemano, queda demostrado con el encargo expreso por el Gobierno del proyecto de reglamento para la Escuela, con la encomienda de la elección del terreno para ubicarla, y con la designación del reglamento a pesar de las “ocurrencias” que contiene el plan docente⁶.

Si bien las riendas del proyecto no se entregan a Segismundo Malats y a Hipólito Estévez (sin olvidarnos que el segundo está subordinado al primero), la supervisión por parte de los comisionados hasta la apertura de la Escuela es absoluta, como evidenciamos en las numerosas y profundas modificaciones a su proyectado reglamento.

El 23 de febrero de 1792 se emiten una batería de resoluciones que determinan el futuro de la Veterinaria española. Por real orden de ese mismo día se ordena al conde de la Cañada la adquisición de la casa y los terrenos señalados.

La Escuela de Veterinaria se instala en el recinto de huerta y edificio pertenecientes a la congregación de San Felipe Neri, y en un pequeño terreno colindante que cuenta con una edificación accesoria perteneciente a los Agustinos Recoletos, en este último caso también a propuesta de Malats y con la finalidad de proporcionar linealidad al espacio. Una dependencia más es adquirida a los Padres Recoletos pues los directores consideran de gran aprovechamiento la casa contigua. Los detalles de la adquisición encomendada al comisionado conde de la Cañada, son descritos por Pérez García⁷ y posteriormente analizados por la académica Mañé Seró⁸. Según Mesonero Romanos, el Colegio de

⁶ SALVADOR (2015), I, pp. 205-214.

⁷ PÉREZ GARCÍA, J.M., “Aportación a la historia de la fundación y establecimiento de la antigua Escuela de Veterinaria de Madrid en el siglo XVIII”. En: *Libro de actas VIII Congreso Nacional de Historia de la Medicina*, III, Murcia-Cartagena 1986, pp. 1672-1679, p. 1675. Documentación original en: A.G.A., sección educación, caja 32/16360. También se incluye la referencia a la designación del terreno realizada por Malats y Estévez, en el punto 36 del informe emitido por el príncipe de Monforte y el conde de la Cañada a 15 de septiembre de 1791.

⁸ MAÑÉ SERÓ, M^a C., SALVADOR VELASCO, A., PÉREZ GARCÍA, J.M., CASTAÑO ROSADO, M^a, VIVES VALLÉS, M.A., “La ubicación física de la primera Escuela de Veterinaria. Problemas: entonces como ahora”. En: *Libro de actas XVI Congreso Nacional de Historia de la Veterinaria*, Córdoba 2010, pp. 319-323. El

Veterinaria tiene “*la enorme superficie*” de 523.716 pies⁹, es decir, 40.475 m² (1 pie castellano = 0,28 m).

La situación elegida para ubicar la Escuela conecta con las intervenciones urbanísticas que se llevan a cabo en el eje Prado-Recoletos, que agrupa a las instituciones científicas más sobresalientes de la Ilustración española: Academia de Bellas Artes de San Fernando, Hospital General, Observatorio Astronómico, Jardín Botánico, Academia de Ciencias, Gabinete de Máquinas, Gabinete de Historia Natural y Colegio de Cirugía de San Carlos. La Escuela de Veterinaria queda así ubicada en el entramado de *Colina de las Ciencias-Salón del Prado-Prado de Recoletos* que, de acuerdo con el también académico Moreno Fernández-Caparrós¹⁰, sitúa a la evolucionada profesión veterinaria al mismo nivel que las ciencias consideradas como más desarrolladas. Pero, como comprobaremos más adelante, tan espléndida ubicación tendrá sus consecuencias.

LA ESCUELA DE VETERINARIA EN EL PASEO DE RECOLETOS (1793-1862)

Se encarga al arquitecto Francisco Sabatini, que en ese momento ejerce como inspector general del Real Cuerpo de Ingenieros (*Director Comandante de Caminos, puentes, edificios de arquitectura civil y canales de riego y navegación e Inspector General de los ramos de Academias y Fortificaciones*) la realización del presupuesto, el desarrollo del proyecto y la ejecución de la obra del edificio destinado a Escuela de Veterinaria. El proyecto comienza a ejecutarse inmediatamente después de la adquisición de terrenos y casas a las congregaciones de San Felipe Neri y de Agustinos Recoletos.

El cargo que detenta Sabatini le lleva a intervenir en los proyectos correspondientes a la Secretaría de Guerra, institución de la que depende la Escuela de Veterinaria. Diez años antes, el ingeniero y ar-

importe de adquisición, sin incluir la última casa de los Padres Recoletos, es de 589.998 reales y 16 mr.

⁹ DE MESONERO ROMANOS, R., *El antiguo Madrid, paseos histórico-anecdóticos por las calles y casas de esta villa*, Ed. Establecimiento Tipográfico de Don F. de P. Mellado, Madrid 1861, pp. 251-252.

¹⁰ MORENO FERNÁNDEZ-CAPARRÓS, L.A., “Influencia de la ciencia y la técnica del Madrid de los Borbones en la creación del Real Colegio-Escuela de Veterinaria durante el siglo XVIII”. En: CID DÍAZ, J.M. (dir.), *Temas de Historia de la Veterinaria*, I, Ed. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Murcia, Murcia 2000, pp. 211- 232.

quitecto favorito de Carlos III (título éste último otorgado por concesión real) desarrolla su proyecto de Caballeriza Regalada situada junto al Real Palacio de Madrid, un enorme y funcional edificio con planta poligonal irregular dotado de pesebres para 500 équidos¹¹, cuyas obras concluyen en 1789. Este edificio agrupa a una parte de los 2000 caballos y mulas pertenecientes a la Real Caballeriza, ampulosa institución durante los reinados de Carlos III y Carlos IV, que sí alberga la totalidad de sus casi 400 équidos durante los reinados de Fernando VII e Isabel II.

El terreno en el que se establece la Escuela de Veterinaria está situado a la derecha de la Puerta de Recoletos¹², sobresaliendo de esa Puerta una parte de la huerta de San Felipe Neri pero estando siempre bordeada por la cerca que rodea Madrid, lo que hace poco afortunada la clásica situación de “extramuros”. En ese tramo, el recorrido exterior de la cerca que llega hasta la puerta de Alcalá se conoce como *Ronda de la Veterinaria* (actual Calle de Serrano). La ubicación de la Escuela en el conjunto del Madrid de aquél momento fue analizada por el académico De Juana Sardón, en conferencia a la que asistí en esta misma institución¹³.

Para el edificio de la Escuela de Veterinaria, Francisco Sabatini adapta el edificio ya existente, que corresponde al utilizado por los miembros de la Congregación de San Felipe Neri como descanso y retiro, al que adosa una nueva construcción. Se cumple así la previsión de Malats y Estévez en su informe de julio de 1791: “*con muy poco coste puede empezarse la instrucción de los discípulos y mientras se puede ir completando el establecimiento*”. Para dotar a la Escuela de las dependencias necesarias y obtener la finalidad docente requerida, tanto para el profesorado como para el alumnado, Sabatini deberá seguir el “plan” elaborado por Malats y Estévez, basado en el vigente en la Escuela de

¹¹ MADOZ, P., *Diccionario Geográfico-Estadístico-Histórico de España y sus posesiones de ultramar*, Madrid 1847, pp. 769-770. SALVADOR VELASCO, A., SALVADOR GONZÁLEZ, L.R., “La Real Caballeriza de Carlos III y Francisco Sabatini”. En: *Libro de actas XIX Congreso Nacional de Historia de la Veterinaria*, Madrid 2013, pp. 429-431.

¹² MUSEO DE HISTORIA DE MADRID, *Arquitectura madrileña de los siglos XVII y XVIII*, p. 136. Planta y alzado de la Puerta de Recoletos, dibujo de Juan de Villanueva, año 1756.

¹³ DE JUANA SARDÓN, A., *Cartografía histórica de los emplazamientos de la Real Escuela de Veterinaria de Madrid. Su entorno cultural*, conferencia pronunciada a 7 de marzo de 2011 en la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España.

Veterinaria de Alfort, manteniendo para ello diversas reuniones con los futuros directores.

Solo ocho meses después de comenzadas las obras, a 10 de diciembre de 1792, y aunque el edificio de la Escuela de Veterinaria no está concluido ni equipado, el alcalde de Casa y Corte Gutiérrez Baca de Guzmán otorga en nombre del rey la posesión del edificio y de sus pertenencias a Segismundo Malats¹⁴, nombrado director primero de la Escuela de Veterinaria por real orden de 23 de febrero de 1792¹⁵.

La primera Escuela de Veterinaria española comienza albergando mayoritariamente alumnos internos, todos ellos militares y residentes en la propia Escuela, lo que hace que el espacio dedicado para este cometido ocupe un ala completa del edificio, precisamente la que en su inicio se dedica a docencia.

En palabras de Pérez García, la nueva institución tiene una organización militar, con gobierno, disciplina y uniforme castrenses¹⁶. Los alumnos civiles se irán incorporando lenta y paulatinamente. La Escuela es considerada un centro militar de enseñanza, permaneciendo incluida en el Estado Militar de España hasta que por real orden de 11 de diciembre de 1841 se suprime el cargo de protector, nombrado por el rey a propuesta de la Junta de Caballería y el Ministerio de Guerra, pasando a depender de la Dirección General de Estudios, que en ese momento se encuentra adscrita a Secretaría de Estado y del Despacho de la Gobernación del Reino (denominación oficial del Ministerio de la Gobernación).

¹⁴ SALVADOR VELASCO, A., “Nacimiento de la primera Escuela de Veterinaria de España”. En: *VIII Jornadas de Historia de la Veterinaria*, “Memorial José Manuel Cid Díaz”, Murcia 2010. Disponible en <http://www5.colvet.es/ahv/index.html>

¹⁵ Por real orden de 12 de febrero de 1793 se ordena a la Real Cámara de Castilla que expida el nombramiento de directores primero y segundo a Malats y a Estévez, usando en ellos el tratamiento de Don, y concediéndoles privilegio de hidalguía. La real orden se comunica por el secretario del Despacho de Guerra al secretario del Despacho de Gracia y Justicia, para que desde allí se expidan los títulos.

¹⁶ PÉREZ GARCÍA, J.M., “Nuevas aportaciones a la vida y obra de D. Segismundo Malats, Mariscal fundador y Director del Real Colegio-Escuela de Veterinaria de Madrid”. En: *Libro de actas de II Jornadas Nacionales de Historia de la Veterinaria*, Madrid 1996, pp. 1-11, p. 3. MORENO FERNÁNDEZ-CAPARRÓS, L.A., PÉREZ GARCÍA, J.M., “La Escuela de Veterinaria en la publicación *Estado Militar de España*”. En: *Libro de actas de I Jornadas Nacionales de Historia de la Veterinaria*, Madrid 1995, pp. 50-55.

A medida que el comienzo del curso previsto para el 1 de octubre de 1793 se aproxima, hay una dificultad que cada vez se hace más evidente: la imposibilidad física de ubicar en el interior de la Escuela a los alumnos internos previstos para los dos primeros años. Inicialmente se contempla la llegada de 24 alumnos provenientes de los ocho regimientos de Dragones, y de igual número pertenecientes a los doce regimientos de Caballería de Línea y a los dos de Caballería Ligera, que junto con otros 48 alumnos civiles alcanzarían los 96 alumnos señalados.

El 5 de mayo de 1793, como solución práctica, Monforte y Codina proponen que *“no siendo posible por la estrechez de la casa que se está actualmente habilitando”*, al primer curso concurren 14 alumnos pertenecientes a regimientos de Caballería, uno por cada regimiento existente, y se reducen a 16 los alumnos “dragones” previstos, pasando de tres a dos por cada regimiento. Tal y como está ordenado deben saber leer, escribir y tener entre 16 y 21 años, asignándoles 200 ducados (2000 reales) a cada uno de los fondos de la institución para su manutención, y facilitándoles alojamiento en una casa situada en las inmediaciones de la Escuela mientras ésta termina de habilitarse. Se aprueba la propuesta por real orden de 11 de mayo de 1793.

Los comisionados Monforte y Codina, cumpliendo con la orden recibida, presentan a 8 de junio de 1793 la Instrucción provisional para el gobierno de la Escuela de Veterinaria, que es aprobada y convertida en definitiva. Se establece que el curso comience con 42 alumnos: 16 pertenecientes a regimientos de Dragones, 14 a Caballería, todos con asignación de 2.200 reales anuales, y 12 externos, sin asignación económica¹⁷.

Con ligero retraso, la Escuela de Veterinaria de Madrid, primera de España, abre sus puertas el 18 de octubre de 1793. ¡Por fin hay Escuela!

Sobre la firme y unánime voluntad política inicial con la que cuenta la instauración de la metódica enseñanza veterinaria no debe quedarnos ninguna duda. Las instituciones intervinientes y la consecución de fechas lo demuestran. Si lo comparamos con el desarrollo de las

¹⁷ SALVADOR (2015), I, pp. 241-245. El libro de matrícula de la Escuela en sus primeros años contiene anotaciones deficientes, siendo Pérez García quién más y mejor ha indagado sobre el alumnado, aunque nos parece un asunto no totalmente resuelto.

otras ciencias sanitarias afianzamos la aseveración, recordemos que el Colegio de Cirugía de San Carlos se funda en 1780 y no comienza sus actividades hasta 1787, una vez vencida la oposición a su instauración, y que el Colegio de Farmacia de San Fernando comienza sus clases en 1806, trece años después de la Escuela de Veterinaria.

Diferente es que el absolutismo recalcitrante de Fernando VII, agravado por la desaparición del Real Tribunal del Protomedicato, terminará por convertir al Real Tribunal del Protoalbeitarato en símbolo absolutista, anteponiéndolo a la Escuela y desapareciendo la inicial disposición política favorable a la Escuela de Veterinaria¹⁸.

En el momento de apertura de la Escuela, el príncipe de Monforte y Domingo Codina, que ha sustituido al conde de la Cañada, son nombrados oficialmente protectores de la Escuela de Veterinaria.

Hemos escrito que la zona del edificio en la que inicialmente se imparte docencia se corresponde con el edificio preexistente. Cuando se concluye el cuadrilátero que conforma la totalidad del edificio de la Escuela de Veterinaria, ese espacio, que es el ala sur, se readapta como zona de residencia de los alumnos militares internos.

El veterinario militar Espeso del Pozo encuentra en el Museo Municipal de Madrid (hoy Museo de Historia de Madrid) una estupenda litografía de la fachada de la Escuela de Veterinaria en el Paseo de Recoletos, que publica en 1948, realizando de ella una bella descripción: *“Este edificio tiene dividido su frente en dos alas iguales, a las que sirve de unión una torre cuadrangular. En ella un reloj cuenta las horas nuevas que la profesión ha empezado a vivir”*¹⁹. La imagen es reproducida dos años después por García Alfonso²⁰ y a partir de entonces difundida con profusión por ser la única representación conocida de la primitiva Escuela de Veterinaria.

¹⁸ SALVADOR (2015), II, pp. 244-252.

¹⁹ ESPESO DEL POZO, G., “De Colegio Nacional a Facultad de Veterinaria (Estampas de hace dos siglos)”, *Ciencia Veterinaria. Revista*, 50, febrero de 1948, pp. 80-89.

²⁰ GARCÍA ALFONSO, C., “Historia de la Facultad de Veterinaria de Madrid”, *Anales de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Madrid y del Instituto de Investigaciones Veterinarias*, II, 1950, pp. 1-20.



Esposito y García publican la imagen de la litografía con el pie “Real Colegio de Veterinaria”, sin embargo, el original anónimo y sin datar del Museo Municipal, que reproducimos²¹, tiene el pie “Escuela Nacional de Veterinaria de Madrid”, misma imagen y epígrafe de la litografía incluida en el magníficamente editado libro de José Loubet, de 1843, por lo que debe ésta ser considerada hasta hoy como la primera y única reproducción de la Escuela²².

Al mostrar a mi hija esta litografía cuando aún se encontraba cursando sus estudios de Arquitectura, me advierte de que el edificio ha

²¹ MUSEO DE HISTORIA DE MADRID, *Escuela Nacional de Veterinaria*, inventario 1544, datación anónima. Tenemos constancia de que este original fue el reproducido en *Libro Conmemorativo del Bicentenario de la Facultad de Veterinaria (1793-1993)*, SUÁREZ FERNÁNDEZ, G. (coord.), Editorial Complutense, Madrid 1993, p. 39.

²² LOUBET, J., *Colección de herraduras o demostración del arte de herrar para corregir las enfermedades y defectos del casco*, Establecimiento de Litografía de la Calle de Preciados nº 16, Madrid 1843. Loubet es oficial mayor de fragua de la Escuela de Veterinaria de Madrid, su obra contiene 27 cuidadas litografías con numerosos tipos de herraduras que ofrecen solución a diversidad de imperfecciones y afecciones (por gentileza del profesor Vives Vallés).

sido realizado en dos tiempos ya que en el ala derecha se observa un volumen adosado, que el ala izquierda está oculta por árboles que no permiten determinar la simetría contada por Espeso y que la puerta de entrada sugiere la existencia de un patio interior. Esto me llevó al convencimiento de que en este tema es necesario incorporar al relato historiográfico veterinario una visión arquitectónica, y está en el origen de las comunicaciones sobre los cuatro edificios que albergaron la Escuela de Veterinaria de Madrid presentadas conjuntamente a los sucesivos Congresos de Historia de la Veterinaria desde 2013, incorporadas a los respectivos libros de actas, y que tienen su culminación en esta conferencia impartida por ambos en la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España, enriquecida ahora con nuevas búsquedas realizadas en los archivos de la Universidad Complutense, de la Villa de Madrid y de la Real Academia de Bellas Artes de San Fernando.

Los comienzos de nuestras investigaciones no fueron fáciles. Las búsquedas sobre la sede de Recoletos se dirigieron al Archivo Histórico del Colegio Oficial de Arquitectos de Madrid, al Archivo Histórico Nacional y a la Biblioteca Nacional de España, resultando en todos los casos infructuosos. Hemos de agradecer al Dr. arquitecto Moleón Gavilanes, profesor de la E.T.S.A.M. y estudioso especialista en el edificio de la Biblioteca Nacional, su sugerencia de acudir al Archivo General de la Administración, obteniendo, ahora sí, evidentes resultados positivos.

El edificio principal es de fábrica de ladrillo, de planta rectangular y 1660 m² de ocupación en planta. Se accede a él por una espaciosa puerta de madera de doble hoja situada en la fachada este, y consta de planta baja, planta primera o principal, zona de buhardillas y un limitado sótano. Se articula alrededor de un gran patio central solado de piedra de cuña de 750 m² de superficie. En planta baja, el lado norte cuenta con un aula de 22,30 m de largo por 6,50 m de ancho, que si bien hoy no la entenderíamos como la disposición ideal para impartir docencia, sí que tiene suficiente capacidad para albergar a los alumnos de cada uno de los cursos. El lado oeste está dedicado a la asistencia clínica. La primera planta o principal cuenta en su lado sur con dos alargadas dependencias, de 19,3 por 4,90 m y de 20,40 por 4,70 m respectivamente, en las que se disponen en forma de hilera las camas de los alumnos militares internos, a este espacio se llega a través de una escalera exenta o exclusiva que arranca en la planta inferior, estando situado el espacio de cocinas contiguo a las dependencias.

La primera referencia directa que hasta ahora conocemos de las dependencias de la Escuela pocos años después de ser inaugurada, la realiza M. H. Giesker en 1811, veterinario jefe del Real Colegio Superior Sanitario en Braunschweig, en Alemania²³. Su opinión, en general favorable a las condiciones en las que se encuentra la Escuela, nos parece importante porque se trata por su cargo de un buen conocedor de la actualidad veterinaria europea y sus opiniones respecto a la escuela española en nada le comprometen.

Como en otros edificios de la capital de España, la Guerra de la Independencia dejará su impronta en la Escuela, especialmente en su vallado exterior, al ser uno de los puntos por los que la tropa napoleónica accede a la ciudad²⁴. Su interior, a pesar del deterioro y de sufrir el general saqueo francés, se mantiene en un aceptable estado de conservación, impartándose enseñanzas durante la práctica totalidad del periodo de ocupación, si bien tanto su director, profesorado y resto de empleados padecen graves apuros económicos que dan lugar a angustiosas misivas de ayuda²⁵. En cambio, el vecino Convento de los Agustinos Recoletos corre peor suerte, ya que sí es utilizado como cuartel por la tropa francesa²⁶.

Tras concluir la guerra contra los franceses los establecimientos públicos van poco a poco recuperándose de los desperfectos sufridos, y la Escuela de Veterinaria no es ajena a ello. El duque de Alagón, protector de la Escuela de Veterinaria desde marzo de 1825 y presentado por la historiografía como perteneciente al círculo íntimo del rey, remite un oficio a 1 de marzo de 1827 al corregidor interino de la Villa de Madrid, comunicándole que ante el mal estado en el que se encuentra la valla que separa la Escuela del *Prado de Recoletos*, y la necesidad de que dicho cierre y la nueva portada que se proyecta hacer tengan una disposición más regular, propone que pared y verja se adelanten a la segunda fila de árboles del Paseo para lograr regularidad en la forma, lo que implica la cesión de 6.558 pies de terreno perteneciente a la Villa, y derribar algunos árboles cercanos. El corregidor interino acepta la ce-

²³ LLEONART ROCA, F., "Informe sobre la Escuela Real Española de Veterinaria de Madrid (I parte)", *Terapéutica y Veterinaria Biohorm*, 24, 1974, pp. 122-127.

²⁴ *Diario de Madrid*, 22 de noviembre de 1814, 326, p. 569. PÉREZ GALDÓS, B., *Napoleón en Chamartín. Episodios Nacionales*, Ed. Círculo de Lectores S.A., Barcelona 1986, pp. 180 y 183.

²⁵ SALVADOR (2015), II, pp. 230-238.

²⁶ DE MESONERO ROMANOS, R., *Manual de Madrid. Descripción de la Corte y de la Villa*, Ed. Imprenta D.M. de Burgos, Madrid 1833, p. 154.

sión del terreno, siempre que se abonen los 9.837 reales en valoración realizada por el arquitecto mayor municipal, pues las “*cesiones gratuitas*” no son factibles. A 28 de marzo Alagón contesta que la Escuela de Veterinaria tiene muchas y urgentes atenciones por lo que no dispone de ese importe, aunque agradece la iniciativa del Ayuntamiento.

El protector de la Escuela no se rinde. Dirige a 20 de junio su nueva solicitud al secretario del Despacho de Hacienda (equivalente al actual ministro), que tras estudiar el informe emitido por la Dirección General de Propios y Arbitrios del Reino y de la Junta de Propios y Sisas del Ayuntamiento de Madrid, comunica la “*cesión gratuita a favor de dicho establecimiento*” por real orden de 18 de julio. El 9 de agosto de 1827 desde el Ayuntamiento se informa al duque de Alagón del corte de los 15 árboles comprendidos en la porción de terreno cedido, realizado con trabajadores y carruajes propios de la Villa²⁷.

El nombramiento del duque de Alagón como protector de la Escuela, como hemos mostrado en trabajos anteriores, va mucho más allá del cargo regalado a un amigo, trascendiendo incluso al reinado de su preceptor, actuando Alagón en defensa de los intereses veterinarios en todo momento. Entre sus primeros movimientos a favor de la enseñanza metódica de la veterinaria está promover la Ordenanza aprobada por el rey a 29 de septiembre de 1827 y la renovación del edificio docente. Se construyen el anfiteatro anatómico y las fraguas, dos edificios de nueva planta situados a una cierta distancia del principal, así como el nuevo jardín botánico formado para la enseñanza de los alumnos. De esta forma, en torno al edificio principal van surgiendo una serie de edificaciones periféricas.

El 9 de enero de 1834 la reina regente M^a Cristina de Borbón acude a la Escuela, adquiriendo el compromiso ante el protector y los catedráticos de efectuar la absorción del Real Tribunal del Protoalbeitarato por la Escuela, convierten la visita en crucial para el futuro veterinario. Los detalles de este proceloso acontecimiento, en el que el marqués de Cerralbo, caballero mayor de la reina, y el duque de Alagón,

²⁷ ARCHIVO GENERAL DE LA VILLA DE MADRID (A.G.V.M.), sig. 1-118-51. Oficio del duque de Alagón al corregidor interino de la Villa fechado a 1 de marzo de 1827. Oficio de contestación de Antonio José Galindo a 23 de marzo. Oficio del duque de Alagón a 28 de marzo. Real orden de 18 de julio, comunicada a 27 de julio al corregidor interino.

protector de la Escuela, tienen un papel preponderante, los detallamos en un trabajo anterior²⁸.

Una ocasión única para documentar el edificio de la Escuela de Veterinaria en la sede de Recoletos podría haber sido la monumental maqueta de Madrid realizada en 1830 con dirección de Gil de Palacio, que asombra por su fidelidad y recreación en el detalle, situada desde su reapertura en 2015 en lugar preferente del Museo de Historia de Madrid²⁹. Pero la obra es manual, por lo tanto humana y como tal imperfecta, y su imperfección la encontramos precisamente en el edificio correspondiente a la Escuela, que no refleja correspondencia alguna con la planimetría del edificio principal levantada por el arquitecto Francisco Jareño de Alarcón, ni tampoco su situación sobre el terreno es la señalada en los sucesivos planos geométricos de Madrid de 1812 y 1855, y del plano de ordenación urbanística de 1857.

La amplia extensión del terreno ocupado por el edificio y la huerta de la Escuela de Veterinaria, en el cada vez más céntrico y elitista Paseo de Recoletos, hacen del establecimiento un bocado muy apetecible.

El paso del tiempo es enemigo de lo construido si no se acompaña de adecuadas labores de mantenimiento. En escrito fechado a 1 de julio de 1853, Nicolás Casas de Mendoza, director de la Escuela de Veterinaria desde 11 marzo de 1847, se dirige al Ministro de Fomento dándole cuenta del estado “*indecoroso*” en el que se encuentra el exterior de la Escuela. Afirma que la fachada es la original, manteniéndose prácticamente sin retoque alguno; y que la verja que la rodea, no se ha renovado desde hace 25 años. Tampoco el interior se salva del paso del tiempo, siendo varias las estancias cuyos techos “*amenazan una ruina pronta*”, revistiendo especial gravedad la Sala de Concursos. Con todo, por tratarse de un edificio del Estado situado en “*uno de los puntos mas concurridos de la capital*”, es el aspecto exterior lo que más preocupa a Casas de Mendoza. Acompaña su solicitud de un presupuesto con las

²⁸ SALVADOR VELASCO, A., DE ANDRÉS TURRIÓN, M^aL., SÁNCHEZ DE LOLLANO PRIETO, J., “El proceso de absorción del Real Tribunal del Protoalbeitarato por la Escuela de Veterinaria de Madrid (1792-1855)”. En: *Asclepio. Revista de Historia de la Medicina y de la Ciencia*, 2010, LXII, 2, pp. 541-577.

²⁹ MUSEO DE HISTORIA DE MADRID, *Modelo de Madrid, 1830*. “*Se construyó esta maqueta de extraordinaria fidelidad al modelo original en 23 meses, bajo la dirección del Teniente Coronel del Cuerpo de Artillería D. LEÓN GIL DE PALACIO*”.

reparaciones que considera estrictamente indispensables para mantener “la decencia y decoro de la primera escuela del Reyno”³⁰.

A pesar de la angustiada misiva y de los escasos recursos reclamados, nada obtiene el veterinario para su establecimiento. La suerte de la Escuela está echada, la agonía del edificio hace tiempo que ha comenzado.

El primer objetivo es su huerta. Por real orden de 18 de enero de 1856 se determina el establecimiento en ella de la Casa de la Moneda, trasladada desde el vetusto edificio de la calle de Segovia. El proyecto y ejecución se encomienda a los arquitectos Francisco Jareño y Nicomedes Mendivil, profesores en la Escuela Técnica Superior de Arquitectura de Madrid, concluyéndose en 1861. Entre la nueva Casa de la Moneda y la Escuela de Veterinaria se crea la Calle de la Moneda, después de Jorge Juan, y hoy de la Armada Española³¹.

No es esta la única merma de terreno. El vallado que debía comenzar en la Calle de la Moneda y separar lo que queda de huerta del Paseo de Recoletos, se derriba para convertirla en parque público. Este breve comentario publicado por Serrano Tomé³² lo hemos podido confirmar a partir de uno de los planos realizados por Francisco Jareño en 1862.

La administración lo tiene decidido desde hace tiempo. Basándose en la planimetría custodiada en el Archivo de la Villa, Ruíz Palomeque nos muestra las construcciones existentes en 1857 y las nuevas calles proyectadas con sus nuevas alineaciones³³. La correspondiente a la manzana 276, en la que se encuentra la Escuela de Veterinaria, queda delimitada en sus cuatro lados (con nomenclatura actual) por el Paseo

³⁰ SALVADOR VELASCO, A., SALVADOR GONZÁLEZ, L.R., “Escuela de Veterinaria de Madrid: Planimetría del arquitecto Jareño”. En: *Libro de actas XIX Congreso Nacional de Historia de la Veterinaria*, Madrid 2013, pp. 237-244. El presupuesto presentado por Nicolás Casas se ciñe a revoco y pintura de la fachada, verja, persianas y vidrieras.

³¹ Los Jardines del Descubrimiento, en la Plaza de Colón en Madrid, están en el lugar ocupado por la huerta de la Escuela de Veterinaria.

³² SERRANO TOMÉ, V., “La Escuela y Facultad de Veterinaria de Madrid”, *Revista Veterinaria Española*, Ed. Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid, I, 1975, pp. 32-33.

³³ RUÍZ PALOMEQUE, E., *Ordenación y transformaciones urbanas del casco antiguo madrileño durante los siglos XIX y XX*, Ed. Instituto de Estudios Madrileños, Madrid 1976, p. 353, adición del plano 90.

de Recoletos, Calle de Goya, Calle de Serrano y Calle de Villanueva, dividiéndose este enorme espacio por la Calle de la Armada Española. El robusto crecimiento demográfico de Madrid conlleva un cambio en su fisonomía urbanística, y la zona elegida como foco de atracción para el asentamiento de la cada vez más numerosa y pudiente burguesía es el ensanche nordeste de la ciudad, que se lleva por delante el edificio de la Escuela de Veterinaria. El plan Castro de 1860 es perfectamente explicativo, la *huerta de la Veterinaria*, ahora Casa de la Moneda, es la punta de lanza del proyectado desarrollo de los barrios en los que se desarrollarán la zona financiera y de palacetes del Paseo de la Castellana y el denominado barrio de Salamanca, y en ese desarrollo una Escuela de Veterinaria con el ir y venir de animales y el necesario espacio para prácticas de pradicultura y zootecnia no tiene cabida. La zona que en 1792 era el extrarradio de la capital se ha revalorizado hasta el extremo.

El 18 de febrero de 1861, ante el pésimo estado que presenta el edificio ocupado por la Escuela de Veterinaria en el Paseo de Recoletos, el ministro de Fomento comunica a su homólogo de Hacienda la conveniencia, término oficial que podríamos traducir como “imperiosa necesidad”, del traslado de la Escuela de Veterinaria desde su ubicación original en el Paseo de Recoletos, a la Carrera de San Francisco nº 13, sede del Departamento de Grabado y Máquinas de la Casa de la Moneda.

Se aprueba que concluido el traslado del Departamento de Grabado y Máquinas al nuevo edificio de la Casa de la Moneda, la Escuela de Veterinaria ocupe su lugar. Pero el ministro de Hacienda, que tiene informes sobre el verdadero estado del edificio de la Carrera de San Francisco, se anticipa a lo que inexorablemente ocurrirá: quiere que el edificio vuelva a la pertenencia de Hacienda una vez la Escuela de Veterinaria lo tenga que abandonar, pues “*su estado de vida, capacidad y distribución*” lo llevan a considerarlo únicamente como sede provisional³⁴.

El solar que ocupa la Escuela en Recoletos, que en ese momento tiene 27.515,40 m², ya tiene destino concreto. Por real orden de 20 de mayo de 1861 se aprueba el anteproyecto del edificio propuesto por Francisco Jareño de Alarcón destinado a Ministerio de Fomento, Biblioteca Nacional y Museo Arqueológico, determinándose la prepara-

³⁴ SALVADOR, SALVADOR (2013). Original en: A.G.A., sección construcciones civiles, caja 31/8117, leg. 8883, exp. 1.

ción del proyecto definitivo con el consiguiente presupuesto económico³⁵.

Como veremos, el curso académico 1862-63 da comienzo a 16 de septiembre ya en la nueva sede.

El estricto Casas, siempre atento a cubrir las necesidades de “su” Escuela, solicita a 6 de agosto de 1863 al director general de Obras Públicas que se designe oficialmente a quién debe entregar las llaves de la sede de Recoletos, y que se inventaríen todos los efectos que pertenecientes a la Escuela de Veterinaria no se han podido trasladar a la nueva sede³⁶. El 7 de agosto se autoriza a Francisco Jareño a hacerse cargo de las llaves y efectos de la antigua Escuela de Recoletos, realizando un muy exhaustivo y minucioso inventario del contenido de las dependencias del edificio que no ha sido trasladado y que concluye un mes después, firmado por él y por Casas de Mendoza.

El momento del derribo definitivo se acerca, el proyecto para levantar en su lugar un edificio que albergue una Biblioteca y un Museo Nacionales, obra del propio Francisco Jareño, es inminente, pero antes, el arquitecto realiza una completa planimetría del edificio existente: del solar, de la planta baja y de la planta primera o principal³⁷. Estos dos últimos, son hasta el momento los únicos planos existentes del interior del edificio de la Escuela de Veterinaria de Madrid.

Por real orden de 18 de diciembre de 1863 se aprueba el proyecto presentado por Jareño de demolición del edificio de la antigua Escuela de Veterinaria de Recoletos y de explanación del solar donde se situará el nuevo edificio de Biblioteca y Museo Nacionales. A 21 de abril de 1866 la reina Isabel II preside el acto de la ceremonia de colocación de la primera piedra del edificio, en cuyo proyecto el arquitecto sigue realizando modificaciones, hasta su defenestración, acontecimiento sobre el que volveremos más tarde.

³⁵ SALVADOR, SALVADOR (2013). Original en: A.G.A, sección educación, caja 31/8156.

³⁶ ARCHIVO GENERAL DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE (A.G.U.C.M.), caja V/01-020. Oficio de Nicolás Casas al director general de Obras Públicas, a 6 de agosto de 1863.

³⁷ SALVADOR, SALVADOR (2013). Original en: A.G.A., sección construcciones civiles, caja 31/8120, leg. 8884, exp. 3.



Para concluir el relato de la Escuela de Veterinaria en la sede del Paseo de Recoletos queremos mostrar dos planos realizados por el arquitecto Francisco Jareño sobre el mismo solar. El situado a la izquierda está realizado en 1862 y corresponde a los perfiles del terreno delimitado por las cuatro calles que rodean el edificio de la Escuela que Jareño señala como “Veterinaria”³⁸. El plano de la derecha está realizado por Jareño en 1865 y corresponde a la variación del edificio de la Biblioteca Nacional respecto a su primera ubicación situándolo en el centro del solar, lógicamente delimitado por las mismas cuatro calles³⁹. Esta prueba documental rebate la redacción de la placa existente en el exterior de la verja que rodea actualmente el edificio: “*Aquí se levantaba el convento de los Agustinos Recoletos...*”, y que sin duda debería ser sustituida, o cuanto menos complementada por otra que indique que ese es el lugar exacto en el que se levantó la primera Escuela de Veterinaria de España, asunto en el que la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España nos consta que ha realizado algunas gestiones.

LA ESCUELA DE VETERINARIA EN LA CARRERA DE SAN FRANCISCO (1862-1877)

Es Francisco Jareño de Alarcón, arquitecto del Ministerio de Fomento y profesor de la Escuela Técnica Superior de Arquitectura de

³⁸ A.G.A., caja 31/8120, leg. 8884/3.

³⁹ BIBLIOTECA NACIONAL DE ESPAÑA, *De pasadizo a Palacio. Las casas que albergaron la Biblioteca Nacional*, exposición celebrada de 3 de octubre de 2012 a 27 de enero de 2013. Original en: A.G.A., caja 31/8156.

Madrid⁴⁰, quien a 3 de julio de 1861 remite a la Junta Consultiva de Caminos, Canales y Puertos la memoria facultativa, proyecto de obras, presupuesto estimado, programa de necesidades y planos para habilitar el edificio de la Carrera de San Francisco nº 13 como Escuela Profesional de Veterinaria, cuyo importe asciende a 404.698 reales. Se adjuntan seis planos, tres de la distribución del edificio en ese momento, y tres de la distribución que tendrá tras la reforma. La junta aprueba por unanimidad el proyecto y el presupuesto presentados⁴¹.

Por real orden de 3 de agosto, comunicada tres días después a Jareño por la Dirección General de Obras Públicas, la aprobación se hace oficial, y por real orden de 23 de septiembre el Ministerio de Fomento se hace cargo del edificio que anteriormente pertenecía al de Hacienda. Las trabas administrativas se solventan sobre la marcha. El estado del edificio del Paseo de Recoletos que alberga la Escuela de Veterinaria es ruinoso y ya no permite demoras. Además, como ya hemos dicho, el solar que ocupa la vieja sede veterinaria ya tiene destino.

Las obras en el edificio de la Carrera de San Francisco comienzan de inmediato. El arquitecto Jareño elabora su proyecto teniendo en cuenta las apreciaciones de uso realizadas por Casas de Mendoza, director de la Escuela de Veterinaria, siendo varios los documentos firmados conjuntamente por ambos. Describimos detalladamente el proyecto de Jareño por el interés histórico que representa conocer los elementos que Casas de Mendoza considera imprescindibles para “su escuela” y las consideraciones que realiza, en definitiva, el grado evolutivo de la veterinaria del momento⁴².

⁴⁰ Francisco Jareño de Alarcón (Albacete 24-01-1818, Madrid 8-10-1892), como iremos viendo está vinculado con la Historia de la Veterinaria a través de los cuatro edificios que albergan la Escuela de Veterinaria de Madrid. En los tres proyectos que ejecuta se consensuan las necesidades docentes con el claustro, constando en ellos tanto la firma de Francisco Jareño como de los respectivos directores veterinarios: Casas de Mendoza, Llorente Lázaro y Muñoz y Frau.

⁴¹ SALVADOR GONZÁLEZ, L.R., SALVADOR VELASCO, A., “Proyecto de rehabilitación del edificio de la Carrera de San Francisco nº 13 como Escuela de Veterinaria de Madrid por el arquitecto Francisco Jareño”. En: *Libro de actas XX Congreso Nacional de Historia de la Veterinaria*, Soria 2014, pp. 363-364. Original en: A.G.A., sección construcciones civiles, caja 31/8117, leg. 8883, exp. 1.

⁴² SALVADOR GONZÁLEZ, L.R., SALVADOR VELASCO, A., “Sede de la Escuela de Veterinaria de Madrid en la carrera de San Francisco”. En: *Libro de actas XX Congreso Nacional de Historia de la Veterinaria*, Soria 2014, pp.

El edificio que Jareño debe rehabilitar se sitúa en un solar de planta trapezoidal, cuya superficie total alcanza los 1500 m². De sus cuatro lindes, las dos perpendiculares entre sí conforman las fachadas de la esquina entre la Carrera de San Francisco y la actual Calle de San Isidro Labrador; las otros dos, con geometría más irregular, funcionan como medianeras hacia el interior de la manzana. El edificio está formado por cuatro volúmenes: el principal, de tres alturas más buhardilla, con planta en forma de ele que completa la esquina; y otros tres de menor tamaño adosados a las medianeras, es decir, situados hacia el interior del solar sin contacto directo con la calle.

Todos ellos se relacionan entre sí mediante dos patios interiores: uno principal, de 150 m², y otro de servicio, situado al fondo, de 93 m². De este modo, queda garantizada una mejor iluminación y ventilación natural en los tres volúmenes menores y las dos fachadas interiores del volumen principal. Además, éste último, cuenta con dos pequeños patios de luces propios, uno de 17 m² que recorre el edificio en toda su altura y otro de 33 m², que arranca en el primer piso, pues en la planta baja se acomodará la sala de autopsias con cubierta acristalada, con requerimientos especiales de ventilación.

Respecto a las entradas al edificio, éste cuenta con tres puntos de acceso: la puerta principal, situada en la fachada de 22 metros que da a la Carrera de San Francisco, y otras dos, en la fachada de 49 metros abiertos a la Calle de San Isidro Labrador. Asociados a dos de estos tres accesos surgen los dos núcleos de comunicaciones verticales existentes, que conectan las diferentes plantas.

Para que el edificio se adecúe a su nueva función, éste deberá incluir en su programa de usos: una conserjería y una habitación para el portero; una cuadra "*espaciosa y ventilada*" para 14 o 16 équidos aquejados de enfermedades contagiosas; otra cuadra para 4 o 6 que padezcan muermo o lamparones, debiendo estar ambas lo más separadas posible de la enfermería general; algunas plazas para reses vacunas y lanares; un espacio "*donde colocar los animales locos*"; una perrera semejante a la que existe en la escuela de Recoletos; una cuadra donde se coloquen dos potros para los animales con fracturas, parálíticos, etc.; un lugar para la caldera, que permita "*tener agua de malvas caliente a todas horas*" y cocer la comida de los perros enfermos; un cuarto con

153-158. Original en: A.G.A., sección construcciones civiles, caja 31/8117, leg. 8883, exp. 1.

alcoba para los alumnos de guardia; una pieza para recibir a las personas que lleven animales enfermos a la escuela y para realizar la consulta pública de pequeños animales; un cuarto para los profesores de clínica, en el que también se conserven los vendajes y el instrumental diario; un patio donde se reconozca a los animales y se puedan examinar al trote en caso de cojera, que servirá también para la clínica externa e instrucción de los alumnos; una cátedra espaciosa, para 150-170 “*discipulos para las clinicas y operaciones*”, que además servirá para la enseñanza de Anatomía; una sala de disección, con una pieza próxima donde trabaje “*el constructor de piezas artificiales*”; un patio donde se puedan macerar los huesos para construir esqueletos y sacar moldes; una pieza para el botiquín, dotada de hornillo; una fragua semejante a la de Recoletos “*para enseñar el arte de herrar y forjar*”, con herradero próximo y potro para animales inquietos, con una pieza para el profesor de Fragua y otra para almacén de material de herrado e instrumental; un patio cubierto y fácil de ventilar para hacer las autopsias; otras dos cátedras al menos tan espaciosas como la primera, con un cuarto contiguo para “*estancia y descanso del profesor antes y después de salir de clase*”; un salón para actos públicos, oposiciones y exámenes de curso; una sala para tribunal de reválida; una biblioteca para los estantes que ya existen [trasladados desde Recoletos]; un gabinete anatómico, con estantería para exponer las piezas naturales y artificiales; otro local para esqueletos con estantería para la osteología comparada; una pieza para arsenal de instrumentos; un gabinete de Física, Química e Historia Natural, utilizable también para la enseñanza de Agricultura y Zootecnia [son todas las materias prácticas de segundo ciclo, la enseñanza en las facultades subalternas de Zaragoza, León y Córdoba constan de un curso menos, hasta que el decreto de 2 de julio de 1871 iguala toda la enseñanza]; despachos para el director y para el secretario; una pieza para el oficial de secretaría y el escribiente, y para archivo; dos piezas, una para el portero y otra para reunión de los catedráticos; habitaciones para el conserje, el primer bedel, el portero de la secretaría y dos palafreneros; un lugar para depósito de estiércol y de animales muertos, relativamente retirado; pajar, carbonera, leñera, excusados...; huerta y jardín botánico, con extensión conjunta de 5 o 6 fanegas de tierra, para la enseñanza de Agricultura y Botánica aplicadas, cultivo de plantas forrajeras, con casa de labor y habitación para el capataz⁴³.

⁴³ Ibidem.

Con el objetivo de adecuar las características espaciales de partida del edificio a los complejos requisitos programáticos nuevos, Jareño organiza las tres partes en las que se puede seccionar el programa de usos de manera que éstas puedan funcionar de modo independiente entre sí, pero a su vez, al establecer lugares comunes entre todas ellas, permiten formar un conjunto único.

Así, además de disponer los espacios y circulaciones propias de cada uno de los tres programas: el docente, asociado a alumnos, profesores y visitantes; el residencial o de viviendas de parte del personal de la escuela; y el ocupado por animales, se establecen espacios en los que, con sus correspondientes circulaciones, los tres programas entran en relación.

El primero, de espacios meramente docentes, se desarrolla desde el acceso principal en la Carrera de San Francisco y a través de la escalera asociado a éste, en las tres plantas del volumen principal y en la segunda del cuerpo de tamaño intermedio, que cuentan con los espacios de mejores condiciones lumínicas por estar abiertos hacia la calle o tener doble fachada, es decir, ventanas abiertas hacia el exterior o hacia los patios interiores o de luces en dos de sus caras opuestas.

De este mismo modo, el segundo programa, el residencial, se desarrolla también en el volumen principal, que supone la ventaja de dar a las viviendas iluminación y ventilación desde ambas caras de dicho cuerpo. Como el programa anterior, éste cuenta también con su propia entrada de acceso, pero en este caso, desde la Calle de San Isidro Labrador, que conecta directamente con las escaleras de subida a las viviendas situadas en los pisos superiores: la del primer bedel, la más pequeña, en la primera planta; y la del conserje, de un tamaño intermedio, y la del director, de mayores dimensiones, en la segunda planta.

Por último, el tercer programa, asociado a las estancias ocupadas por animales, cuenta también con acceso propio desde la Calle de San Isidro Labrador, pero éste de mayores dimensiones que los dos anteriores, y se desarrolla en la planta baja de los tres volúmenes menores situados en la parte trasera del solar, que aunque con una buena ventilación a través de los dos patios, no requiere la calidad lumínica de los otros dos programas.

Los espacios que sirven de charnela entre los tres programas son: el patio principal, que pone en contacto a alumnos y profesores con

dependientes y animales; y el vestíbulo de la primera planta, que conecta el programa docente con el recibidor de la vivienda del director.

Casas relata las necesidades mínimas imprescindibles para ofrecer una enseñanza de calidad, pero sabe perfectamente que en el edificio de la Carrera de San Francisco no pueden cumplirse todas, pues ni en el patio del que dispone puede examinar a un caballo al trote, ni tiene capacidad suficiente para funcionar como hospital clínico, ni tiene huerta cercana con tamaño para fines docentes, ni el edificio dispone de espacio suficiente para albergar a los más de quinientos alumnos matriculados sin realizar sacrificios por parte de profesores y estudiantes. Finalmente, el recinto dispone de las tres cátedras o aulas requeridas pero de un tamaño ligeramente inferior, pues tienen capacidad para 130 alumnos, y además de las habitaciones solicitadas por Casas dispone de vivienda para el director⁴⁴.

A 10 de diciembre de 1861 Jareño presenta un presupuesto adicional motivado por obras ya ejecutadas por importe de 84.527 reales, algunas promovidas a iniciativa de Casas. Inicialmente la Junta Consultiva no encuentra justificación ni para las variaciones efectuadas ni para el mayor gasto, lo que obliga a Jareño a brindar más explicaciones.

La consignación económica inicialmente realizada a 15 de octubre de 1861 por importe de 400.000 reales se agota a 8 de marzo de 1862. El presupuesto inicial de 404.698 reales está para entonces ya consumido, y se paralizan las obras. Solo tres días después se aprueba la dotación extraordinaria de 84.527 reales⁴⁵, la misma solicitada en diciembre por Jareño e inicialmente rechazada.

A 19 de julio de 1862 Francisco Jareño informa que las obras de remodelación han concluido, ya se pueden equipar las diferentes dependencias de la Escuela de Veterinaria. Afirma haber gastado la totalidad del presupuesto, no pudiendo satisfacer los sueldos y gratificaciones de diferentes empleados.

A 30 de agosto de 1862 el arquitecto Bruno Fernández de los Ronderos realiza la recepción provisional de las obras de reparación y reforma del edificio. Remite al director general de Obras Públicas el acta de recepción y la liquidación final realizada por Francisco Jareño,

⁴⁴ A.G.U.C.M., caja V/01-063.

⁴⁵ SALVADOR, SALVADOR (2014). Original en: A.G.A., sección construcciones civiles, caja 31/8120, leg. 8884, exp. 2.

arquitecto director de las mismas. Según el acta, todas las obras están ejecutadas, estando valoradas en 521.208 reales y se han satisfecho 489.229 de ellos. Esto supone un desvío presupuestario del 28,8%. Cuando el acondicionamiento de todas las dependencias con el material fijo y docente que se precisa ha concluido, el presupuesto final, incluidos los 6.451 reales de honorarios del arquitecto, asciende a 607.745 reales.

El curso académico 1862-63 da comienzo a 16 de septiembre en la nueva sede. El esfuerzo realizado por el director de la Escuela de Veterinaria ha sido ímprobo, y le es reconocido de forma oficial. Desde marzo de 1863 se autoriza al director de la Escuela y a sus sucesores en el cargo a llevar al cuello, como distintivo de su empleo, una medalla dorada pendiente de un cordón amarillo y negro⁴⁶.

El director, que reside en el propio edificio, solicita a 10 de agosto de 1863 la adquisición de un reloj de torre, “indispensable para el orden interior del establecimiento”, no pudiéndose trasladar el existente en el antiguo edificio por no soportar el peso de máquina y campana ninguna de las fachadas del edificio actual⁴⁷. Este reloj, “de horas y cuartos”, designará a los catedráticos, alumnos y dependientes las horas de sus respectivas obligaciones. El 22 de agosto se autoriza a Nicolás Casas su adquisición. Pudiera entenderse como el imprescindible detalle final de un proyecto administrativo meditado en la forma y acertado en el fondo, la guinda del pastel, pero nada más lejos de la realidad.

Conocemos el estado de la biblioteca de la Escuela de Veterinaria durante su estancia en la Carrera de San Francisco. En noviembre de 1863 el total de volúmenes de los que dispone la biblioteca es de 4.375⁴⁸. A 19 de junio de ese mismo año, Nicolás Casas informa de la

⁴⁶ A.G.U.C.M., caja V/01-063. Real orden de 24 de marzo de 1863, insertada en la Gaceta de Madrid de 2 de abril.

⁴⁷ PÉREZ GARCÍA, J.M., Primera sede del Real Colegio-Escuela de Veterinaria de Madrid primada de España (1792-1863). Nuevas investigaciones, conferencia impartida a 26 de febrero de 2003, Real Academia de Ciencias Veterinarias de España. Original en: A.G.U.C.M., caja V/01-020. También, A.G.A., sección construcciones civiles, caja 31/8117, leg. 8883, exp. 1.

⁴⁸ SALVADOR GONZÁLEZ, L.R., SALVADOR VELASCO, A., “La Escuela de Veterinaria de Madrid en la Ribera de Curtidores (Casino de la Reina, 1877-1882)”. En: Libro de actas XXI Congreso Nacional de Historia de la Veterinaria, Baeza 2015, pp. 257-263, p. 261.

colocación en la biblioteca del busto del fallecido catedrático Guillermo Sampedro, “*al lado de los bustos de hombres honra de nuestra profesión*”⁴⁹.

La enseñanza de la Botánica aplicada a la Veterinaria y el cultivo de plantas pratenses son conocimientos a los que se otorga gran importancia en la época, y al contrario de lo que sucedía en la ubicación del Paseo de Recoletos con su espléndida huerta, ahora en la *huerta de San Francisco* es imposible su práctica, por lo que se recurre desde septiembre de 1864 al alquiler de la *huerta de Belén*, en la Real Posesión de la Florida, a la que acuden los estudiantes y el catedrático de Agricultura y Zootecnia⁵⁰.

El acta de recepción definitiva de las obras de reparación, reforma y equipamiento de la Escuela de Veterinaria de Madrid en la Carrera de San Francisco se firma a 30 de noviembre de 1863 por el director de la Escuela, el arquitecto director de las obras y el arquitecto receptor⁵¹.

Aunque se realizan obras destinadas a mejorar su acondicionamiento, como la llegada de agua del canal de Isabel II en octubre de 1865, lo cierto es que tanto el edificio como su ubicación en la ciudad presentan deficiencias insalvables. En la Escuela de Veterinaria se admiten pocos animales enfermos mientras está en la Carrera de San Francisco. Una medida derivada, es que se ve obligada a acreditar a varios traperos para obtener en los muladares de animales muertos los huesos descarnados y pezuñas que se necesitan para la docencia.

Ante esta situación, podemos imaginar cómo es recibida la consulta sobre aprovechar el terreno y las diferentes construcciones existentes en el conocido como *Casino de la Reina* para ubicar la nueva Escuela de Veterinaria, espacio recién adquirido por el Estado. Casas de Mendoza dirige de su puño y letra a 9 de junio de 1865 su respuesta al director general de Instrucción Pública: comienza exultante “*cuyo sitio parece como llamado por la naturaleza para transformarle en escuela de veterinaria*”, proyecta modificaciones en las construcciones existentes para su aprovechamiento por la Escuela, y concluye reflexionando

⁴⁹ A.G.U.C.M., caja V/01-063.

⁵⁰ Ibidem. La dirección general de Instrucción Pública arrienda desde septiembre de 1864 la *huerta de Belén* a la administración patrimonial de la Real Casa de Campo, Florida, Montaña del Príncipe Pío y Meaques.

⁵¹ A.G.A., sección educación, caja 8117, leg. 8883, exp. I.

sobre el beneficio que supondría para España la construcción de un edificio destinado expresamente para Escuela de Veterinaria⁵².

Silencio oficial por respuesta.

Son ahora los catedráticos quienes se dirigen al ministro de Fomento a 16 de abril de 1866. “*Consideran un asunto vital*” el establecimiento de la nueva Escuela de Veterinaria, y no quieren que se tome una decisión sin haber expresado abiertamente su posición. Invocan no solo razones docentes sino económicas, aseguran que la contribución de la Veterinaria al gran proyecto de centralización en marcha, que hemos abordado en el punto precedente, puede cifrarse entre los 8 y 9 millones de reales a que asciende el valor de los edificios destruidos y sus terrenos en Recoletos, “*esta no es razon legal para reclamar nada; pero si la creemos una consideración no desatendible*”. El edificio de la Carrera de San Francisco, a pesar de la inversión para su reforma “*es lo cierto que no sirve para el objeto*”, pues la planta baja cuenta con un espacio muy reducido lo que la inhabilita para los ejercicios teóricos, pero la dificultad aumenta cuando se trata de cualquier ejercicio práctico como “*reconocer una cojera en un caballo*”, lo que obliga a salir a la calle con los alumnos a verificarlo⁵³.

Estos son los primeros pasos, poco significativos si se quiere, pero que, como iremos viendo, tras un largo y sinuoso recorrido acompañado de un estado de imperiosa necesidad, darán su fruto.

Tras el pacto de Ostende firmado en 1866 el ambiente político español está crispado, lo que unido a

la grave crisis económica lleva a una creciente impopularidad de la reina Isabel II. La situación desemboca en el pronunciamiento militar de septiembre de 1868 secundado por diferentes focos populares por todo el territorio nacional. La Revolución de septiembre de 1868, también conocida como *La Gloriosa*, que consigue así la abdicación de Isabel II, tiene inmediata repercusión oficial en el organigrama de la Escuela. El ministro de Fomento, Manuel Ruíz Zorrilla, en orden comunicada al director general de Instrucción Pública, cesa a 17 de noviembre de ese mismo año a Casas de Mendoza como director de la Escuela de Veterinaria, nombrando ese mismo día a Ramón Llorente

⁵² A.G.U.C.M., caja V/01-058.

⁵³ A.G.U.C.M., caja V/02-009.

Lázaro para sustituirlo⁵⁴. Nicolás Casas de Mendoza fallece a 31 de diciembre de 1872⁵⁵. No tarda Llorente en dirigirse al rector de la Universidad Central. A 14 de diciembre de 1868 le expone la dificultad para la actividad docente que representa mantenerse en la Carrera de San Francisco; que no entiende las dificultades de traslado al *Casino de la Reina* y que debería asignarse a la Escuela todo el espacio del recinto sin repartirlo con institución alguna⁵⁶.

Hemos comprobado que las solicitudes de baja por enfermedad de Llorente son muy frecuentes. Padece una fiebre reumática que le impide ejercer sus actividades docente y directiva, siendo el catedrático José María Muñoz y Frau quien le sustituye en ambas. Es el propio Llorente quien en octubre de 1870 solicita al rector de la Universidad Central el nombramiento de Muñoz como vicedirector de la Escuela, siendo nombrado ese mismo mes por el regente del Reino “*para que lo sustituya en ausencias y enfermedades y le auxilie en los asuntos facultativos y administrativos del establecimiento*”⁵⁷.

En febrero de 1874 la Escuela de Veterinaria regala al Museo de Ciencias Naturales el esqueleto de eland que posee. La cesión del gran antílope se justifica porque “*no siendo de absoluta necesidad por no ser animal domestico y tener perfecta aplicación en la sección de anatomía comparada del expresado Museo*”, aunque en realidad se trata de una compensación por la cesión por parte del Museo de una “*buena colección*” de minerales y rocas característicos de los diferentes tipos de terreno⁵⁸.

Por real orden de 19 de mayo de 1866 el Gobierno destina a Escuela de Veterinaria y a Instituto de Industria el *Casino de la Reina*, espacio constituido por un jardín y varias edificaciones, situado en la Calle de Embajadores, adquirido por el Estado para dotación de servi-

⁵⁴ A.G.U.C.M., caja 20/06-004.

⁵⁵ A.G.U.C.M., caja V/01-023. Oficio de 2 de enero 1873 del director general al ministro de Fomento.

⁵⁶ A.G.U.C.M., caja V/01-058.

⁵⁷ A.G.U.C.M., caja 20/06-004. Real orden comunicada por la dirección general de Instrucción Pública al director de la Escuela de Veterinaria a 29 de octubre de 1870.

⁵⁸ SALVADOR, SALVADOR (2015), p. 261. Ramón Llorente Lázaro solicita permiso a 9 de febrero de 1874 para la cesión, que le es concedido cinco días después desde el negociado de Escuelas Especiales de la dirección general de Instrucción Pública.

cios de Instrucción Pública⁵⁹. Se encomienda el proyecto al arquitecto Francisco Jareño de Alarcón⁶⁰, que mantiene así su vínculo con los edificios que sucesivamente acogen la Escuela de Veterinaria madrileña.

La premonición que hiciera el ministro de Hacienda, basada en los datos que sus técnicos le proporcionan, tarda poco tiempo en cumplirse. El 26 de mayo de 1876 se informa del estado de ruina en el que se encuentra el edificio, a pesar de lo cual el curso 1876-77 da comienzo en la Carrera de San Francisco. La situación es insostenible, la integridad del edificio corre serio peligro. En junio de 1877 el Ministerio de Fomento ordena la demolición del edificio cuando quede vacío, aunque finalmente opta por venderlo a finales de ese mismo año. El 5 de julio de 1877 se ordena oficialmente la instalación de la Escuela de Veterinaria de Madrid en la *casa de familia* del *Casino de la Reina*⁶¹.

En esa misma fecha se nombra director a José María Muñoz y Frau, que toma posesión de su cargo cuatro días después, y que de forma interina lo ocupaba desde 24 de febrero tras la dimisión presentada de forma voluntaria por Ramón Llorente Lázaro⁶². El 11 de agosto, el director José María Muñoz y Frau entrega las llaves del viejo edificio a la Administración.

Contrariamente a nuestro relato, Pérez García adelanta el cambio de sede⁶³. Por el mal estado del edificio de Carrera de San Francisco se suspenden las clases el 16 de enero de 1877, reanudándose a final de mes en el *Casino de la Reina*, siendo este el motivo de la dimisión de Llorente Lázaro. Dejamos constancia de su escrito, aunque ningún dato

⁵⁹ SALVADOR, SALVADOR (2014), p. 157. Francisco Jareño es el arquitecto responsable de la obra de construcción en octubre de 1865 de una valla de separación en el espacio del *Casino* que se prevé sea destinado a establecer la Escuela de Veterinaria y el Instituto de Industria, por importe de 91.646 escudos.

⁶⁰ A.G.A., sección construcciones civiles, caja 31/8118, leg. 8883, exp. 1.

⁶¹ A.G.A., sección construcciones civiles, caja 31/8118, leg. 8883, exp 2.

⁶² FERNÁNDEZ ISASMENDI, E., *Antigüedad de la Veterinaria e historia del periodismo de esta Ciencia*, Ed. Bailly- Bailliere e hijos, Madrid 1893, pp. 153-156. *La Veterinaria Española*, 1877, 712, XXI. En el número correspondiente a la primera decena de julio de 1877 se agradece a Llorente su labor al frente de la Escuela, “cuyo nombre pronunciará siempre con orgullo la clase veterinaria”, y se da la bienvenida a Muñoz, que representa “nuestra redención profesional y política”.

⁶³ PÉREZ GARCÍA, J.M., *Carlos Luis de Cuenca en la historia de la Facultad de Veterinaria de Madrid*, Libro Jubilar en honor del profesor Dr. Carlos Luis de Cuenca, Ed. Illera Martín, Serrano Tomé y Cid Díaz, Madrid 1986, pp. 31-36, p. 32.

oficial ni referencia en prensa profesional hemos hallado hasta ahora que confirme las fechas de cambio de sede.

Si del edificio del Paseo de Recoletos tanto profesores como alumnos de la Escuela de Veterinaria tienen que salir de prisa, del edificio de la Carrera de San Francisco se ven obligados a salir corriendo.

LA ESCUELA DE VETERINARIA EN LA RIBERA DE CURTI- DORES (1877-1882)

Durante el último trimestre de 1865 encontramos los primeros expedientes sobre obras de mejora en el *Casino de la Reina* con destino a la construcción de la Escuela de Veterinaria. El conocido como *Casino de la Reina* es un amplio espacio destinado al esparcimiento, situado entre las calles de Embajadores, Casino (con diferente trazado al actual), Ribera de Curtidores y Ronda de Toledo⁶⁴, que cuenta con extensas zonas ajardinadas, invernaderos, fuentes, ría navegable con dique para atracar falúas, estanque, conjuntos escultóricos, gruta artificial o cenador, un palacete como edificio noble y una *casa de familia* en la que viven los empleados, tanto de servicio en el palacete como en el mantenimiento de los amplios jardines, junto con sus respectivas familias. La grandiosa puerta principal de entrada a los jardines, situada en Ronda de Toledo, es la actualmente conocida como Puerta de la Independencia en el madrileño Parque de El Retiro, entrada principal desde la Puerta de Alcalá. Esta finca, inicialmente concebida para el recreo, es adquirida por el Estado para dotación de servicios de instrucción pública.

Aunque por real orden de 19 de mayo de 1866 el Gobierno de España destina oficialmente a Escuela de Veterinaria y a Instituto de Industria prácticamente la mitad de este espacio, encomendándose el proyecto al arquitecto Francisco Jareño de Alarcón, el aparente carácter previsor no resulta ser real. La profunda crisis financiera que comienza en España en 1866 y se prolonga hasta dos años después, termina afectando a todas las clases sociales y también a la inversión pública.

A 22 de marzo de 1867 Casas de Mendoza, defendiendo los derechos de la Escuela, comunica al director general de Instrucción Pública su enorme malestar por la “*caprichosa*” división del terreno adjudicado al futuro Instituto Industrial, que le es “*beneficiosísima*”, frente al

⁶⁴ Plano parcelario de Madrid, año 1874, autor Carlos Ibáñez e Ibáñez de Ibero.

de la Escuela de Veterinaria, que resulta “perjudicialísima”⁶⁵. La oposición de la Escuela de Veterinaria a compartir con otra institución un terreno que precisa para la instrucción práctica de los alumnos, tiene un papel determinante en la reconsideración de la inicial distribución del terreno tomada por el Gobierno.

Sorpresivamente para nosotros, pues ninguna noticia teníamos sobre ello, a final de 1869 desde la dirección general de Instrucción Pública se solicita a Llorente Lázaro un informe sobre las condiciones que debe reunir el edificio de nueva planta destinado a Escuela de Veterinaria, que se pretende construir en *La Moncloa*. Tras consultar al claustro, en diciembre de 1869 el director Llorente Lázaro enumera las instalaciones necesarias para cubrir las necesidades docentes de una nueva Escuela de Veterinaria: una cuadra de 26 a 30 plazas para équidos con enfermedades no contagiosas; otra cuadra, espaciosa y contigua a la anterior, para los animales “*vertiginosos ó locos*”; otra más, equipada con dos potros destinados a sujetar los équidos que padezcan hernias, dislocaciones o fracturas; un patio empedrado de extensión suficiente para que los animales cojos que han de ser reconocidos “*judicial o extrajudicialmente*” puedan hacerlo al paso, trote y galope, todo ello en presencia de 200 alumnos a los que sirva de práctica; una cuadra de cuatro plazas “*completamente instalada*” para animales con enfermedades contagiosas como el muermo; otra cuadra de igual capacidad e instalaciones destinada a animales sarnosos; una perrera “*con muchas separaciones*” para no contagiosos, contagiosos y sospechosos de rabia, con una habitación contigua donde viva el encargado de la perrera; un baño para caballos; una noria y un gran estanque destinado a riego y al baño de animales; un estanque pequeño para baño de perros y équidos con enfermedades contagiosas; una fragua “*con buenas luces*” y de 6 a 8 hogares con otros tantos yunques, para impartir la enseñanza práctica de herrado y forja; un herradero cubierto, dotado de un potro en el que sujetar animales indóciles o que hayan de sufrir operaciones dolorosas; una cátedra de Cirugía, que podrá usarse también para clases de Anatomía, en forma de anfiteatro, con buenas luces y en planta baja para que los animales puedan entrar por su pie, con capacidad para 150-200 alumnos “*pudiendo ver bien todos ellos las operaciones*”; una sala de disección, en planta baja, de la misma capacidad y dotada de las condiciones higiénicas de luz, ventilación, limpieza y aislamiento, que permita trabajar sobre cadáveres; dos cátedras de la misma capacidad situadas

⁶⁵ A.G.U.C.M., caja 20/06-004.

en planta baja o alta y no necesariamente en anfiteatro; salón de actos públicos donde celebrar oposiciones, grados, y apertura de cursos; un gabinete anatómico; un gabinete para arsenal de instrumental y aparataje de cirugía; otro de Física, Química e Historia Natural; biblioteca; despacho del director; habitaciones para secretaría y archivo; para conserjería y recaudación; para descanso de los profesores; y habitaciones para residencia del conserje, del jefe de caballerizas, alumnos de guardia, porteros y palafreneros. Argumentan extensamente los catedráticos la necesidad de disponer de una “*Escuela botánica*”, en la que los alumnos puedan estudiar práctica y teóricamente las plantas de interés para la Veterinaria, tanto medicinales, como alimenticias o venenosas⁶⁶.

Un año después, a 24 de noviembre de 1870, cumpliendo con lo ordenado tres meses antes por la dirección general de Obras Públicas del Ministerio de Fomento, desde el negociado 3º de Construcciones Civiles de la provincia de Madrid se remiten al director de la Escuela: planos, memoria y presupuesto del edificio de nueva planta destinado a Escuela de Veterinaria en *La Moncloa*, para que “*informe detenidamente si dicho proyecto satisface las necesidades de la enseñanza*”. Ramón Llorente Lázaro devuelve a 2 de diciembre la referida documentación, afirmando que no encuentra nada que objetar “*por estar desarrollado con acuerdo a los datos suministrados por el Claustro de profesores*”⁶⁷.

A 28 de enero de 1871 es la dirección general de Instrucción Pública desde la que se vuelve a solicitar al director de la Escuela el informe anterior, ya que no les consta que haya sido enviado. Llorente, que tiene copia de su escrito, no se da por aludido. Es ahora la dirección general de Agricultura, Industria y Comercio quien a 13 de septiembre de 1872 reitera nuevamente la solicitud del informe, siendo contestada por Llorente a 18 de septiembre de 1872 con la remisión de una copia de su contestación original⁶⁸.

El cruce de oficios se alarga durante dos años y nos sirve como medida de la falta de determinación en el avance del nuevo edificio destinado a Escuela de Veterinaria.

⁶⁶ A.G.U.C.M., caja V 20/06-004.

⁶⁷ A.G.A., sección educación, asuntos generales de la Escuela de Veterinaria, caja 32/16360. Y también, A.G.U.C.M., caja 20/06-004.

⁶⁸ A.G.U.C.M., caja 20/06-004.

El nuevo emplazamiento de la Escuela de Veterinaria está relacionado con el traslado desde Aranjuez a Madrid de la entonces denominada Escuela Central de Agricultura, decretado a 28 de enero de 1869, asignándole para su nueva sede la finca *La Moncloa*. El edificio de nueva planta, al que hay que unir un conjunto de instalaciones agrícolas, no se concluye hasta 1880. Se trata de un intento de ubicar en un espacio de 500 hectáreas dos nuevas Escuelas con algunas enseñanzas complementarias. Cuando todo parece preparado, y la clase docente veterinaria muestra su aprobación, la administración cambia de criterio y la Escuela de Veterinaria se mantiene en la Carrera de San Francisco. Lo que no alcanza entonces la Escuela, lo logrará tiempo después la Facultad.

El Museo Arqueológico Nacional corre mejor suerte. Se crea por real orden de 20 de marzo de 1867, instalándose en el palacete del *Casino de la Reina* (hoy centro social comunitario). Es inaugurado por Amadeo I en julio de 1871, permaneciendo allí hasta su traslado en 1893 a su actual ubicación, precisamente en el solar del Paseo de Recoletos que anteriormente ocupaba la Escuela de Veterinaria.

No es hasta diciembre de 1875 cuando la Dirección General de Instrucción Pública ordena que, con la mayor urgencia, se realice un proyecto para el traslado provisional de algunas dependencias de la Escuela de Veterinaria desde la Carrera de San Francisco al *Casino de la Reina*, hasta que se construya “*el edificio de nueva planta que se proyecta levantar*”⁶⁹. Ocupado el palacete, el único edificio de la finca con capacidad para albergar aunque sea de forma provisional la Escuela de Veterinaria es la *casa de familia*. Este edificio, con planta de trazado irregular y perímetro quebrado formado por dos alas alargadas y estrechas en esquina, tiene su fachada principal abierta hacia la zona ajardinada de la finca, extendiendo el alzado lateral correspondiente al ala menor por la Ribera de Curtidores, de forma que su patio llega a limitar con la calle Mira el Sol. Si bien la casa de familia tiene un acceso desde la calle Peña de Francia, en el proyecto de Jareño se habilita una puerta exterior en el vallado de la Ribera de Curtidores, quedando así situado el edificio a la izquierda de esa puerta, facilitándose la entrada desde el jardín.

El arquitecto Francisco Jareño de Alarcón firma a 30 de marzo de 1876 la memoria facultativa que contiene el proyecto de obras de

⁶⁹ SALVADOR, SALVADOR (2015), p. 259.

adaptación y reforma del edificio de la *casa de familia*. El director Ramón Llorente Lázaro otorga con su firma conformidad al proyecto⁷⁰.

En abril se aprueban proyecto y presupuesto de las imprescindibles obras de adecuación. Además de la importante remodelación interior, que veremos a continuación, se embellecen e introducen considerables cambios en los dos alzados exteriores. En la fachada a Ribera de Curtidores las pequeños aberturas existentes se sustituyen por grandes ventanales que proporcionen luz natural al espacio dedicado a museo; se realza la puerta exterior de acceso mediante su enmarcación entre pilastras, entablamento y frontispicio triangular superior con mástil para bandera; y se añaden cornisa, líneas de imposta, zócalo y dinteles y molduras en los vanos. La gran fachada orientada al jardín se embellece con estos mismos elementos ornamentales, y es rematada con la colocación del imprescindible reloj que marca las rutinas lectivas de profesores, alumnos y empleados de la Escuela de Veterinaria. La adecuación incluye también la transformación en aula de la antigua construcción auxiliar situada a la derecha de la puerta exterior de entrada al recinto, dotándolo de dos aulas y una estancia para los profesores, adosando además el necesario potro de inmovilización. Ya hemos relatado que en mayo de 1876 se da cuenta del estado de ruina en el que se encuentra el edificio de la Carrera de San Francisco. La necesidad de abandonarlo es imperiosa. El 5 de julio de 1877 se ordena oficialmente la instalación de la Escuela de Veterinaria de Madrid en el *Casino de la Reina*.

El curso académico 1877-78 da comienzo en la nueva sede, acondicionada apresuradamente por falta de previsión. Vuelve a tratarse de una ubicación provisional, en espera de la construcción de un edificio definitivo para albergar la Escuela de Veterinaria de Madrid, ahora sí expresamente diseñado para la enseñanza metódica de la medicina veterinaria.

La entrada a la Escuela de Veterinaria, por tanto, se realiza desde la Ribera de Curtidores. Tras cruzar el umbral de la puerta exterior, a la izquierda se sitúa el antiguo edificio ahora reformado, de 1200m² de superficie en planta, y a la derecha el aula, de 195m². Si la Carrera

⁷⁰ SALVADOR GONZÁLEZ, L.R., SALVADOR VELASCO, A., Proyecto de reforma del edificio en la Ribera de Curtidores como Escuela de Veterinaria de Madrid, firmado por Francisco Jareño de Alarcón y Ramón Llorente y Lázaro. En: *Libro de actas XXI Congreso Nacional de Historia de la Veterinaria*, Baeza 2015, pp. 265-268.

de San Francisco ya era una ubicación céntrica, la actual está en el Madrid castizo⁷¹.

El edificio reformado tiene dos plantas y buhardilla, excepto: en la sala de operaciones formada por un patio de 75m² a doble altura con gradas perimetrales e iluminación cenital, pues está cubierto con cristales; y el espacio de 120m² destinado a museo, que también cuenta con una doble altura.

En la alargada fachada al jardín se abren ocho puertas que dan acceso a las diferentes estancias interiores: tres asociadas a los espacios ocupados por animales; tres asociadas al programa residencial, de las que dos dan paso a viviendas en planta baja y la otra a la escalera de servicio para acceder a las viviendas de la planta superior; una más, correspondiente a la entrada de alumnos, que desemboca en un amplio vestíbulo con la escalera principal al fondo; y la última, por la que se accede a la farmacia.

En cuanto al desarrollo del programa de usos, en la planta baja además de la sala de operaciones y el museo ya comentados, encontramos: conserjería, cuarto de alumnos y botica con un laboratorio contiguo; una cuadra dotada de 17 pesebres, perreras y dos pequeñas cuadras de enfermedades contagiosas; viviendas de portero, jardinero y encargado de las perreras; y espacios para almacenamiento de leña y paja. En la planta primera o principal están: biblioteca, gabinete quirúrgico, gabinete de física y química⁷², y cátedra; secretaría y dirección; cuartos para profesor y bedeles; viviendas del sota, conserje y portero de secretaría; además de espacios administrativos y de mantenimiento.

Junto al antiguo estanque, que se mantiene, se levantan las fraguas y el herradero, y junto al invernadero pequeño, que también se mantiene, la anterior fuente circular se transforma en un baño para caballos.

⁷¹ MESONERO ROMANOS, R., *Paseos histórico-aneecdóticos por las calles y casas de esta Villa*, Establecimiento tipográfico F. de P. Mellado, Madrid 1861, pp. 181-185. La Plazuela del Rastro (hoy de Cascorro) y Ribera de Curtidores (que anteriormente no conectaba con la Ronda de Toledo sino que terminaba en la Calle de Mira el Sol) ya eran desde mucho antes lugar de compra-venta de productos de segunda mano.

⁷² La cátedra de Física y Química aplicadas a Veterinaria se crea por real decreto de 19 de febrero de 1854. En: A.G.A., sección educación, asuntos generales de la Escuela de Veterinaria, caja 32/16361.

El espacio destinado a museo es modesto si atendemos a sus dimensiones, pero no lo es tanto si lo comparamos con el de la totalidad de las instalaciones de la Escuela.

Ahora sí hay espacio más que suficiente para huerta. De muy ajustado podemos considerar el espacio disponible para la asistencia clínica, anunciándose como es costumbre su acceso al público de forma gratuita, con el solo abono de los medicamentos y vendajes precisos. La sede se asume como provisional, dotándola del mínimo necesario para poner en marcha la enseñanza de la medicina veterinaria de forma precaria, tanto, que sólo la actitud voluntariosa del director, de los profesores y de los propios alumnos, lleva a solventar la enorme falta de medios. La ilusión por el futuro edificio, ya debidamente equipado, permite sobrellevarlo.

El comienzo de la dirección de Muñoz y Frau al frente de la Escuela es prometedor, así se lo reconoce la prensa profesional al otorgarle el mérito de la construcción de la nueva sede en Embajadores; de lograr la prohibición de simultanear varios cursos académicos, que es especialmente lesivo para la carrera veterinaria; y lograr la seriedad precisa en los exámenes de admisión a primer curso. Concluye el artículo con un “¡Bien, muy bien, señor Muñoz!”⁷³. Ciertamente solo hace dos meses de su toma de posesión, aunque han transcurrido seis desde que comienza a ejercer interinamente, pero a estas alturas de relato podemos calificar de injusta exageración atribuir el mérito de la nueva sede a Muñoz. La gestación se produce con Casas de Mendoza en la dirección, se asegura su construcción con Llorente Lázaro, se pone la primera piedra con Muñoz y Frau y se edifica con López Martínez al frente, pero en ningún momento la clase veterinaria lleva la iniciativa, es la Administración quien marca los tiempos.

En febrero de 1878 la portada de *La Veterinaria Española* destaca en grandes caracteres y en negrita: “*El Director de la Escuela de Veterinaria. En su nombre y en el del claustro de catedráticos se hace constar que Rafael Espejo y del Rosal no es tal catedrático, y sí simplemente Disector anatómico*”, que es convenientemente respondido en el número siguiente por el aludido, también en primera página y en negrita⁷⁴. El enfrentamiento entre el profesorado se extrapola a los alumnos y además se hace público, la tensión en la Escuela de Veterinaria es

⁷³ *La Veterinaria Española*, 717, 1877, XXI, pp. 4323-4324.

⁷⁴ *La Veterinaria Española*, 731 y 732, año 1878, XXII, pp. 4405 y 4413-4414.

cada vez mayor. Desde el Ministerio de Fomento se aparta a Muñoz de la dirección, pero sin destitución oficial, y se recupera a Ramón Llorente para que pilote la Escuela como vicedirector provisional hasta la llegada de un nuevo director, sirviéndole de apoyo en los primeros instantes pues no en vano conoce perfectamente la institución y es un hombre templado.

A propuesta del ministro de Fomento es nombrado por real decreto de 17 de enero de 1879 Miguel López Martínez delegado regio y director de la Escuela de Veterinaria de Madrid⁷⁵. Toma posesión tres días después y ejercerá el cargo hasta 1905, sucediéndole Santiago de la Villa. El mismo día se produce la destitución efectiva de José María Muñoz y Frau. La explicación de este nombramiento la resume García Alfonso “*por no funcionar bien la Escuela*”⁷⁶, si bien el académico Vives Vallés ahonda en las causas: el enfrentamiento producido entre Rafael Espejo del Rosal, profesor de Anatomía y director de la *Revista Médico-Veterinaria*, y Juan Téllez Vicén, vicedirector de la Escuela, presidente de La Unión Veterinaria y fundador de *El Eco de la Veterinaria*⁷⁷. Este enfrentamiento es recogido ampliamente por todas las publicaciones periódicas de la época, llegando a la intervención del ministro de Fomento⁷⁸.

El 20 de febrero de 1879 el director general de Instrucción Pública comunica la aceptación de la dimisión de Llorente, es su último servicio prestado a la Escuela de Veterinaria de Madrid. Ramón Llorente Lázaro fallece en Madrid a 27 de agosto de 1880⁷⁹.

⁷⁵ *Gaceta de Madrid*, 18, 18 de enero de 1879, p. 169. Real decreto firmado por Francisco Queipo de Llano. Miguel López Martínez es senador del Reino, vocal del Consejo Superior de Agricultura, Industria y Comercio, director de *Gaceta Agrícola* editada por el Ministerio de Fomento, secretario general de la Asociación General de Ganaderos, miembro de la comisión de defensa de la filoxera, presidente de la Asociación de Productores de España, directivo de Asociación General de Agricultores, y conocedor profundo de la temática ganadera.

⁷⁶ GARCÍA ALFONSO (1950), p.7.

⁷⁷ VIVES VALLÉS, M.A., “*Rafael Espeso del Rosal (1825-1893)*”, *Semblanzas Veterinarias*, III, Ed. Consejo de Colegios Veterinarios de España, Bilbao 2011, pp. 83-90.

⁷⁸ Un superficial resumen de los acontecimientos, los discursos de vicedirector anterior y nuevo director, y las primeras medidas tomadas, se pueden consultar en: *Gaceta Agrícola*, enero a marzo de 1879, X, pp. 226-230, pp. 625-626 y pp. 745-746.

⁷⁹ A.G.U.C.M., caja V/01-023.

El delegado regio y nuevo director cuenta con la total confianza del ministro, y se nota en la Escuela. A 6 de febrero de 1879 López Martínez remite al director general de Instrucción Pública el acuerdo adoptado por el claustro, referente al envío a la biblioteca desde el depósito del Ministerio de Instrucción Pública de una colección de libros de las diversas materias relacionadas con las asignaturas que se imparten en la Escuela de Veterinaria. Se atiende con extrema prontitud la solicitud realizada por el profesorado, remitiendo éstos a 21 de febrero una nota al Ministerio “*con grandes muestras de júbilo y agradecimiento*”⁸⁰.

En la sesión de claustro de catedráticos presidida por López Martínez a 28 de febrero de 1879 se acuerda premiar al mejor alumno de cada uno de los años de estudio con “*media bolsa de instrumentos*” o con el regalo de la matrícula y obras de texto, con el fin de lograr una mayor motivación; estudiar la organización de los estudios en el extranjero para valorar las reformas a introducir; y realizar excursiones pecuarias con los alumnos. Se comunica que ha dado inicio el curso gratuito de idioma francés con casi 100 alumnos matriculados. En la sesión de 15 de marzo se comunica la adquisición de 3 reses lanares: churra, merina y rasa, a las que se someterá a un régimen de alimentación para deducir las consecuencias económicas de su estabulación; y que han comenzado las visitas a mataderos de los alumnos de tercer año, acompañados por el delegado regio y el profesor Leandro de Blas y Martínez, que explica las lesiones orgánicas de las canales y “*hace observaciones con el microscopio*”⁸¹.

Con asistencia del director general de Instrucción Pública, el domingo 26 de octubre de 1879 se realiza en la Escuela la entrega de premios a los alumnos más destacados del curso anterior. Tras los discursos del delegado regio y del director general, toma la palabra el profesor Téllez Vicén “*con la animada elocuencia que le es peculiar*”, que agradece a las autoridades presentes y al ministro de Fomento por “*convertir en realidad las que hasta ahora podían considerarse ilusiones de un visionario*”, añadiendo que era la primera vez que un acto semejante se celebraba en la Escuela y que “*desde el duque de Alagón*” no se había apoyado tanto a la Escuela de Veterinaria⁸². Sin ahondar en las causas del enfrentamiento entre Espejo y Téllez, es claro que éste

⁸⁰ A.G.U.C.M., caja V/01-023.

⁸¹ *La Veterinaria Española*, 770 y 771, año 1879, XXII, p. 770.

⁸² *Gaceta Agrícola*, octubre a diciembre de 1879, XIII, pp. 241-242.

último sale victorioso. Además, nos consta que Téllez está próximo al pensamiento profesional del nuevo director, no en vano es asiduo conferenciante de temáticas relacionadas con la agricultura impartidas en el Conservatorio de Artes y Oficios, en las que López Martínez colabora y asiste invariablemente.

Las precarias condiciones en las que se desarrolla la enseñanza de la Veterinaria no arredra a los estudiantes de querer incorporarse a la disciplina, tenemos constancia de que en el curso 1876-77 el número de estudiantes que pretenden ingresar en la Escuela de Veterinaria de Madrid es mayor que los que puede albergar, lo que hace necesario realizar una prueba de ingreso a la que se presentan 175 aspirantes, de los que 94 se aprobados y 81 suspendidos⁸³; y en el curso 1880-81, son 175 los aspirantes, de los que 137 son admitidos en el primer curso de la carrera y 38 suspendidos⁸⁴.

La Escuela de Veterinaria es deficiente en espacio construido con destino docente, especialmente el dedicado a asistencia clínica, pero le sobra espacio destinado a huerta y jardín. En ese espacio, por iniciativa propia y de manera sorprendentemente rápida, se construye un picadero destinado a la enseñanza de equitación. El delegado regio comunica en junio de 1879 al ministro de Fomento la puesta en marcha del picadero, iniciativa tomada por el claustro de catedráticos y levantado “*con los pobres recursos de la Escuela*”, contando con la desinteresada ayuda del acreditado profesor de equitación José Hidalgo tanto en la ejecución del proyecto como en el préstamo de caballos, habiéndose iniciado ya las clases de equitación pero sin recibir el profesor remuneración alguna, por lo que solicita al ministro el nombramiento de Hidalgo como profesor de equitación interino y una compensación económica.

Antes de finalizar el mes, la inauguración del picadero se convierte en un acto social de primera clase. Al acontecimiento asisten: el ministro de Fomento, el director general de Instrucción Pública, Agricultura e Industria, el de Obras Públicas y Comercio, marqueses, condes, “*elegantes damas*”, periodistas, aficionados y 300 alumnos⁸⁵. No cabe duda de que el ministro apoya al delegado regio y director de la Escuela de Veterinaria, y no pierde ocasión de demostrarlo, pero tam-

⁸³ *La Veterinaria Española*, 721, 1877, XXI, p. 4346.

⁸⁴ A.G.U.C.M., caja V/02-007.

⁸⁵ *Gaceta Agrícola*, abril a junio de 1879, XI, pp. 616-619.

bién es evidente que además de devolver la paz a la Escuela el nombramiento ha resultado ser un magnífico revulsivo.

Como tal entendemos la llamativa iniciativa aprobada en junta de claustro de junio de 1880, de instalar en los terrenos no utilizados del jardín de la Escuela un *Jardín Zoológico de Aclimatación*, cuyo destino final sería la de perfeccionar las razas autóctonas. El encargo de recabar información para su puesta en marcha es asumido por el Ministerio de Fomento, que solicita la colaboración del ministro de Estado, no tardando en llegar comunicaciones a la Escuela de Veterinaria desde diferentes puntos del mundo. Santiago de la Villa y Martín, catedrático de Anatomía y Exterior, comunica que se han recibido misivas de las gestiones realizadas por el cónsul en París respecto al precio de compra de un macho y una hembra de yaks según la información proporcionada por el director del *Jardín Zoológico de Aclimatación del bosque de Boulogne*, en París. También el embajador español en Turquía comunica el precio de adquisición de una pareja de asnos de Persia, según se trate de las razas kerman, mashed y tauris. Y por último, el cónsul general en El Cairo comunica el precio de adquisición de los que considera mejores asnos del país, que son los de Sint, en el Alto Egipto⁸⁶.

En la primavera de 1880 se celebra en Madrid una Exposición de Ganados, que si bien cuenta con la asistencia de los reyes, el público en general acude en escaso número. En ella, la Escuela de Veterinaria presenta una colección de gallinas de diferentes razas, y logra con un mastín el segundo premio del concurso canino.

A 15 de octubre de 1880 el claustro de catedráticos, encabezado por el delegado regio, acuerda establecer de forma definitiva la enseñanza de Equitación y Doma impartida desde el mes de noviembre a los alumnos de 5º curso, así como aumentar a cuatro horas diarias las prácticas de herrado y forja⁸⁷. De frenética actividad podemos calificar todas las variaciones enumeradas y que se han producido en poco más de año y medio tras el nombramiento de López Martínez.

En noviembre de 1880 es Muñoz y Frau quien dirige un amargo comunicado al director general de Instrucción Pública, en el que le da cuenta del “*estado deplorable*” en el que se encuentra el local donde imparte las clases de herrado y forjado, pues en los días de lluvia se

⁸⁶ Ibidem, pp. 730-731. *Gaceta Agrícola*, enero a marzo de 1870, XIV, pp. 685-688.

⁸⁷ *El Liberal*, 16 de octubre de 1880, 482, p. 2. *Gaceta Agrícola*, octubre a diciembre de 1880, XVII, pp. 355-356.

filtra el agua por diferentes sitios afectando al material de enseñanza, no pudiendo afrontar la Escuela el desembolso económico que supone la reparación integral del local⁸⁸.

Debió hacerse especialmente largo para profesores y alumnos el último curso impartido en la Ribera de Curtidores, pues a su situación se une la cercana visión del nuevo edificio prácticamente concluido. Lo explica el delegado regio en febrero de 1882: “*No cabe situación más anómala y angustiosa que la de esta Escuela*”, sin el número de aulas necesarias, sin local para impartir la enseñanza clínica ni las preparaciones y demostraciones anatómicas, intentando los catedráticos enfrentarse a esas dificultades insuperables con la mejor voluntad. Pero no pueden trasladarse al nuevo edificio por “*falta de graderías en las cátedras, de estanterías indispensables en los gabinetes y del mobiliario adecuado*”⁸⁹. Según Pérez García⁹⁰, este escrito pudiera estar motivado por el conocimiento del delegado regio de la solicitud realizada el día anterior por el gobernador civil de Madrid de cesión del edificio de la Escuela como hospital provisional, episodio sobre el que nos detendremos más adelante.

Cuando en septiembre de 1882 se inauguren las nuevas dependencias de la Escuela de Veterinaria en la Calle de Embajadores, la instalación que queda libre en la antigua *casa de familia* de la Ribera de Curtidores es cedida por la dirección general de Instrucción Pública al Conservatorio de Artes y Oficios, instalándose una sección destinada a la enseñanza de artesanos⁹¹.

EL PORQUÉ DE LA SITUACIÓN

Hemos mostrado documentalmente cómo ya en julio de 1853 el estado de la Escuela de Veterinaria en el Paseo de Recoletos es calificado por su director, Nicolás Casas de Mendoza, como “*indecoroso*” para una institución de su categoría. Cómo el paso por la sede de la Carrera de San Francisco es fruto de la dejadez administrativa, que espera a sobrepasar lo prudencial para acometer la mera reforma de un edificio ya ruinoso, convirtiéndose en un mal menor que nunca debió

⁸⁸ A.G.U.C.M., caja V/01-023.

⁸⁹ A.G.U.C.M., caja V/01-023. Oficio del delegado regio de la Escuela de Veterinaria al director general de Instrucción Pública, a 15 de febrero de 1882.

⁹⁰ PÉREZ GARCÍA (1986), p. 32-33.

⁹¹ A.G.U.C.M., caja V/01-236 y caja V/01-023.

haberse producido. La inacción administrativa se mantiene, solo reacciona ante hechos consumados como la ruina inminente del edificio que acoge a profesores, alumnos y dependientes de la Escuela de Veterinaria, y determina una solución pasajera como es la básica adecuación de una construcción ya existente para que sirva a unos fines docentes. Tras casi treinta años de penalidades consecutivas, la Escuela de Veterinaria se ha ganado el derecho a disponer de un edificio proyectado *ad hoc* para la enseñanza metódica de la medicina veterinaria.

¿El número de alumnos de la Escuela es tan escaso que lleva a la administración a poder argumentar que no le compensa realizar inversión alguna para fomentar el estudio de la Veterinaria?

¿Los números rojos que se producen en las cuentas de la Escuela cada anualidad desaniman a la administración ante cualquier inversión destinada a fomentar el estudio de la Veterinaria? Veámoslo.

En el curso escolar 1864-65, el presupuesto de gastos de personal de la Escuela Profesional de Veterinaria de Madrid asciende a 213.301 reales, y los gastos ordinarios incluyendo la compra de paja y cebada a 68.000 reales, lo que supone un total de 281.301 reales. Del primer concepto, dos terceras partes corresponden al profesorado: el sueldo anual del director es de 22.000 reales, a los que hay que sumar 4.000 de gratificación por su destino; el de un catedrático, 22.000 reales; el de otro catedrático, 20.000 reales; otro, con 16.000 reales; dos más con 14.000 reales anuales cada uno; un disector anatómico, 10.000 reales; tres catedráticos supernumerarios, 8.000 reales al año cada uno; y un profesor de fragua, también 8.000 reales.

Analizamos ahora el presupuesto de ingresos del curso: derechos de matrícula de 580 alumnos a 100 reales cada uno, 58.000 reales; derechos de examen de reválida de veterinario de primera clase, 100 a 1.500 reales, 150.000 reales; derechos de examen de reválida de veterinario de segunda clase, 26 a 1.200 reales, 31.200 reales; derechos de examen de herrador de ganado vacuno, 14 a 600 reales; 8.400 reales; derechos de examen de castrador, 10 a 800 reales, 8.000 reales. Hacen un total de 255.600 reales, a los que hay que sumar los ingresos procedentes de la atención clínica y el herrado prestados a los animales pertenecientes a propietarios particulares. El importe percibido por la venta de productos de la huerta de la Escuela, que cada año se situaba de forma global entre los 20.000 y 25.000 reales, al abandonar la sede de Recoletos se ve muy disminuido. A la vista de estos números, podemos

afirmar que la diferencia entre gastos e ingresos de este servicio público es, a lo sumo, de una leve pérdida.

Durante el curso 1867-68, ahora con las cifras expresadas en escudos, el presupuesto total de gastos, tanto de personal como ordinarios, avalados con la firma de Nicolás Casas de Mendoza, asciende a 26.430 escudos. Los ingresos presupuestados, con 530 alumnos matriculados, incluyendo asistencia clínica y herrado, son de 29.100 escudos. Hablamos ahora de una pequeña ganancia.

Un ejemplo más. Durante el curso 1868-69, el presupuesto de gastos asciende a 27.681 escudos, correspondiendo 22.481 escudos a gastos de personal, 4.800 a gastos ordinarios y 400 a extraordinarios. Los ingresos presupuestados ascienden a 25.050 escudos, asignando 24.800 a matriculas, reválidas y expedición de títulos, y 250 a fragua y enfermería⁹².

Ante las cifras expuestas, queda demostrado que la formación de los más de 500 alumnos anuales que cursan sus estudios en la Escuela de Veterinaria de Madrid no supone prácticamente coste alguno para el Estado. Descartada así la motivación económica, es el desinterés y la falta de apoyo de la clase política la principal causa del abandono al que la Escuela de Veterinaria de Madrid se ve sometida.

LA ESCUELA DE VETERINARIA EN LA CALLE DE EMBAJADORES (1882-1958)

El arquitecto Francisco Jareño de Alarcón firma a 1 de mayo de 1877 el proyecto de nueva planta de Escuela de Veterinaria a construir en el *Casino de la Reina*. Está formado por una memoria descriptiva, estados de cubicación, precios simples y compuestos, condiciones facultativas y económicas, y seis planos, estando presupuestado en 474.174 pesetas y 68 céntimos⁹³. Se presenta por duplicado en el negociado de Construcciones Civiles, sección de Obras Públicas, del Ministerio de Fomento. Ese mismo día se remiten copias a la Junta Consultiva de Caminos, Canales y Puertos, y a la Real Academia de Bellas Ar-

⁹² A.G.U.C.M., caja V/01-058.

⁹³ SALVADOR GONZÁLEZ, L.R., SALVADOR VELASCO, A., La Escuela de Veterinaria de Madrid en la calle de Embajadores. En: *Libro de actas XXII Congreso Nacional de Historia de la Veterinaria*, León 2016, pp. 251-258. Original en: A.G.A., sección educación, caja 31/8118, leg. 8883, exp. XX.

tes de San Fernando, para que emitan sendos informes sobre el proyecto.

Los planos están firmados por Jareño con fecha 30 de abril de 1877, acompañando a la firma del arquitecto la del director de la Escuela José Muñoz y Frau, que incluye la textual y explicativa frase “*conforme con la distribución*”. Sin embargo, no son estos los primeros planos realizados por Jareño y firmados por Muñoz, existen otros planos anteriores, fechados a 30 de marzo que contienen alguna variante significativa, como son: disminución de un 29% de la superficie de ocupación en planta; disminución del desarrollo de las gradas de los dos anfiteatros y cambio en la orientación en uno de ellos; redistribución de los usos y reorganización de compartimentos de la mitad posterior, incluida la fachada, a la que añade nuevos vanos.

A 17 de julio la sección 1ª de la Junta Consultiva de Caminos, Canales y Puertos dictamina que el proyecto de Jareño “*es aprobable*”, así como el presupuesto de ejecución material. Considera que Jareño “*ha tenido presentes los adelantos introducidos en el extranjero*”, y únicamente apunta la conveniencia de separar el pliego de condiciones económicas de las facultativas⁹⁴.

En sesión celebrada el 31 de julio de 1877 por la sección de Arquitectura de la Real Academia de Bellas Artes de San Fernando, el arquitecto y académico Simeón Ávalos presenta su informe sobre el proyecto de edificio realizado por el también académico Francisco Jareño. Considera que el sistema de construcción adoptado “*es bueno*” y se corresponde con la situación y exposición del edificio, con su destino y con la estructura y composición de su planta general “*por demás elemental y sencilla*”. También se muestra de acuerdo con los estados de cubicación, cuadros de precios y presupuesto. En cuanto a los planos considera que “*pueden aprobarse introduciendo en ellos algunas modificaciones no escasas de importancia para la buena estructura, aspecto y uso ó servicio del edificio*”, es decir, estima que para ser aprobado el proyecto son necesarios severos cambios. Aceptando el emplazamiento de las cátedras en sendos cuerpos salientes, considera que se ha de proveer a éstos de un desarrollo mayor, que a la vez que acreciente su importancia les dote de mayor unidad y enlace con el resto del edificio. En relación a la colocación de la escalera contigua a la principal, “*por las múltiples y sencillas razones que omite en gracia á la ilustración del*

⁹⁴ SALVADOR, SALVADOR (2016), p. 252.

autor del proyecto” considera que debe variarse su ubicación o en caso contrario instalar otra escalera más. Los ejes del pabellón octogonal, anteriormente destinado a noria para riego que en el proyecto se destina a herradero y forja, no se corresponden con los de la planta del edificio y no considera justificada su conservación, debiendo desmontarse su armadura y cubiertas, y aprovechando sus materiales, montarse de nuevo sobre los correspondientes apoyos, coincidiendo sus ejes con los de la planta de aquél se puede lograr una mejora apreciable con un ligero incremento de gasto.

Ávalos es un convencido academicista, que pretende la prevalencia de un rigor geométrico del proyecto en planta exacerbado, por encima de la funcionalidad y economía del edificio de Jareño. Examinado el informe de Simeón Ávalos por la sección de Arquitectura, se aprueba por unanimidad, siendo el mismo Ávalos quien firma la resolución como secretario interino de ella, siendo evacuado al director general de Obras Públicas⁹⁵.

Corresponde al negociado de Construcciones Civiles valorar las sugerencias expuestas por ambas instituciones. Tras su estudio, el 19 de agosto de 1877 informa sobre lo indiferente que resulta separar el pliego de condiciones económicas y facultativas, pues considera que de la forma en la que han sido presentadas ya son dos documentos; que el aumento de tamaño de los pabellones de las cátedras (anfiteatros) ocasionaría la pérdida de locales ya distribuidos, además de un aumento del gasto presupuestado; que la escalera de servicio interior está mejor colocada cerca de la principal para así evitar el paso por ésta de los dependientes que habitan en el piso alto, resultando de su traslado la inutilización de dependencias destinadas a servicios importantes, siendo además imposible al disponer el edificio de una única crujía con su galería correspondiente en tres de sus lados. Recomienda el negociado de Construcciones Civiles aprobar el proyecto, y que se anuncie oficialmente la subasta de la obra para que se ejecute por el sistema de contrata.

A 19 de agosto de 1877 se aprueba por real orden el proyecto de obras realizado por Francisco Jareño para la construcción de la Escuela de Veterinaria, aceptando los dictámenes de la sección 1ª de la Junta Consultiva de Caminos, Canales y Puertos, y de la sección de Arquitect-

⁹⁵ REAL ACADEMIA DE BELLAS ARTES DE SAN FERNANDO (R.A.B.A.S.F.), archivo general, sig. 2-42-4.

tura de la Real Academia de Bellas Artes de San Fernando⁹⁶. Esta es la redacción oficial, pero lo que realmente se aprueba es el proyecto íntegro presentado por Francisco Jareño, arquitecto del Ministerio de Fomento, que cuenta con el dictamen favorable del negociado de Construcciones Civiles del Ministerio de Fomento.

Pero el proyecto no llega a ejecutarse exactamente como Jareño lo plantea. El motivo es que, como veremos enseguida, los vecinos logran la modificación de la ubicación del edificio, motivo por el cual el pabellón octogonal que ya existe no puede situarse en el centro del edificio, según lo proyectado inicialmente por el arquitecto. Además, hemos detectado una leve modificación que afecta al ornato de la fachada principal, posiblemente también relacionado con el traslado del proyecto a la Calle de Embajadores, donde la fachada principal pierde en visibilidad por la estrechez de la calle: se reducen los ocho altorrelieves previstos a solo cuatro, no realizándose los dos situados en cada uno de los extremos laterales.

Se trata de un edificio de planta rectangular simétrica, de 2460 m² de superficie en planta, con un gran patio central cuadrado de 30 m de lado, en torno al que circula una galería continua que da paso a los diferentes espacios de la banda perimetral y a los dos pabellones de geometría octogonal situados sobre el eje menor. De composición neoclásica, con una tipología funcional que garantiza las adecuadas condiciones lumínicas y de ventilación a todos sus espacios, es uno de los ejemplos sobresalientes del neomudéjar madrileño, citando Jareño como ejemplo de estilo inspirador la plaza de toros de Fuente del Berro o de Goya, inaugurada en Madrid en 1874 y considerada como la precursora de este estilo historicista.

En la memoria facultativa presentada por Jareño a 9 de febrero de 1878 y dirigida al alcalde del Ayuntamiento de Madrid, solicita la licencia de construcción y explica los materiales que forman parte de su proyecto: cimentación de mampostería de pedernal y mortero de cal; zócalo de sillería de piedra berroqueña; muros, tanto de fachadas como de carga y divisorios, de ladrillo recocho, descubierto en sus fachadas y en los abultados de repisas, jambas, guardapolvos, impostas y cornisas, *“á semejanza de la construcción y decorado empleado en la nueva pla-*

⁹⁶ A.G.A., sección educación, caja 31/8119, legajo 8884, exp. 1. Oficio comunicado por el departamento de Construcciones Civiles del Ministerio de Fomento al director general de Obras Públicas.

za de toros de Madrid”; entramados horizontales y oblicuos en madera de Cuenca, forjados con alfarería hueca y mortero de yeso; y cubierta de teja árabe⁹⁷.

El edificio cuenta con dos plantas principales de 6 y 7 metros de altura, y de un piso bajo con funciones de sótano que aprovecha el desnivel de la parcela. Las extensas fachadas de ladrillo visto y ornamentación sencilla, están recorridas por vanos de perfil carpanel en planta baja y de medio punto en la superior. Además cuenta con un discreto zócalo de piedra berroqueña, dos líneas de imposta y cornisa de arquillos ciegos a lo largo de todo el edificio. Sobre seis de los vértices de los pabellones octogonales se sitúan sendos pináculos. Para remarcar la entrada principal al edificio se colocan bajo la cornisa cuatro medallones o altorrelieves y sobre ella, un remate superior de perfil escalonado, que contiene el obligado reloj.

Al atravesar la gran puerta central se ingresa en un espacioso vestíbulo de planta cuadrada, de 12 m de lado, cubierto con nueve bóvedas de arista, que da paso a la galería de circulación y tiene anexo la escalera principal. Esta mitad delantera de la planta baja se dedica a: salas y gabinetes de profesores, salas de alumnos de guardia, conserjería, portería, farmacia y consulta pública.

En la mitad opuesta, que es la zona del edificio inicialmente dedicada a hospital clínico, existe un acceso al jardín en cada uno de los laterales. Encontramos: potrero, establo de vacas lecheras, cuadra de caballos, cuadra de aislamiento por enfermedades contagiosas, espacio con jaulas, perrera, y espacio para observación de posibles perros con rabia.

Entre las dos mitades, se encuentran las dos grandes cátedras en los pabellones octogonales de 160 m² cada una.

Un pabellón más, también de geometría octogonal pero de mayor profundidad que los dos existentes, se anexiona con posterioridad en la fachada trasera⁹⁸. No podemos determinar cuándo se realiza este añadido destinado a aumentar el número de alumnos capaz de albergar

⁹⁷ A.G.V.M., sig. 7-248-52.

⁹⁸ Actualmente, en el edificio que fuera Escuela de Veterinaria se encuentra el I.E.S. Cervantes. Queremos dejar constancia de nuestro agradecimiento a Julia Pérez, directora del centro, y a César Molina-Prados, profesor de Geografía e Historia del Arte, por su amabilidad y por dedicarnos su tiempo.

la Escuela de Veterinaria, pero sí que se incorpora después de 1895, cuando el espacio destinado a hospital clínico se traslada al exterior del edificio, y 1929, con constancia fotográfica de su presencia.

No conocemos la distribución de la planta superior, pero podemos situar en ella el resto del programa de usos docentes, tanto teórico como experimental. Deducimos por la estructura y dimensiones del edificio que, a diferencia de las tres sedes anteriores, el programa residencial queda muy reducido.

En la página 3 del nº 205 del Boletín Oficial de la provincia de Madrid del lunes 27 de agosto de 1877, se publica por la dirección general de Obras Públicas, Comercio y Minas, la convocatoria de subasta pública de las obras de construcción de la Escuela de Veterinaria de Madrid, que tendrá lugar el 19 de septiembre.

“Los propietarios de casas del distrito de la Inclusa”, a los que hoy denominaríamos como Asociación de Vecinos, expresan a 2 de septiembre su oposición a que el proyecto se lleve a cabo en la ubicación designada de la Ribera de Curtidores, pues entienden que la nueva Escuela representa un obstáculo para las mejoras de que es susceptible la zona⁹⁹, impidiéndose la evidente necesidad de *“dar vida y condiciones higiénicas a aquel barrio”*, añadiendo con castizo desparpajo que, si bien los inconvenientes desaparecerían en su totalidad situándola en el Paseo de Atocha (a 2,5 km), si el emplazamiento se hace en el vértice del ángulo que forman la Calle de Embajadores con la de Ronda (actual Ronda de Toledo), *“frente a la fabrica de cigarros”*, los muchos inconvenientes disminuirían en gran medida¹⁰⁰.

También hay quien intenta aprovechar la oportunidad. Si el edificio se levanta en la ubicación propuesta por Jareño, a continuación de la *casa de familia*, se necesitaría además terreno colindante, que se revalorizaría. Así lo entiende el propietario de la casa y el terreno de la calle Mira el Sol nº 9, situados junto a la, en ese momento, Escuela de Veterinaria, que cede la titularidad de sus propiedades *“á cambio de otros solares edificables en el Retiro, de los que allí posee el Estado”*¹⁰¹.

⁹⁹ MESONERO (1861), pp. 181-185. Según el cronista oficial, en ese momento este barrio es el *“más infeliz y abandonado distrito de la villa”*.

¹⁰⁰ SALVADOR, SALVADOR (2016), p. 253. Original en: A.G.A., sección educación, caja 31/8118, leg. 8883, exp. XX.

¹⁰¹ Ibidem. Sobre esta propuesta, realizada por Baltasar Mata y García a 7 de septiembre, se pide informe a Francisco Jareño.

La solicitud de Jareño para realizar “*la tira de cuerdas*” y disponer de las alineaciones y rasantes con arreglo a las ordenanzas municipales tiene fecha de 12 de septiembre¹⁰².

El notario de Madrid Juan Vivó presenta el acta de la subasta celebrada el 20 de septiembre. Comienza dando a conocer que se ha aceptado la solicitud realizada por el grupo de vecinos y se varía la ubicación del nuevo edificio: se construirá en el ángulo que forma el jardín del antiguo Casino de la Reina con las calles Embajadores y Ronda, “*paralelamente al Museo Arqueológico*”. Se presentan tres propuestas, aceptándose la realizada por Mariano Benito de Miguel, que se compromete a ejecutar la obra con un presupuesto de 545.280 pesetas¹⁰³. La escritura de la contrata se firma ante el notario Juan Vivó a 8 de octubre de 1877.

Se comienza derribando el embarcadero y el estanque, situados exactamente en el lugar elegido para la nueva Escuela; un pabellón que sirve como almacén de piezas pertenecientes al Museo Arqueológico; y se arrancan la mayor parte de los árboles y arbustos existentes.

Luis González Martínez, notario del Ilustre Colegio de Madrid, levanta acta de la colocación a las 2 de la tarde del 30 de noviembre de 1877 de la primera piedra del edificio que ha de construirse para albergar la Escuela de Veterinaria de Madrid. Asisten al acto oficial el conde de Toreno, ministro de Fomento, que lo hace en representación del rey Alfonso XII; Esteban Garrido y Martínez, director general de Obras Públicas; José de Cárdenas y Uriarte, director general de Agricultura, Instrucción Pública e Industria; Manuel Ríos y Pedraja, rector de la Universidad Central; José Muñoz y Frau, director de la Escuela de Veterinaria; Francisco Jareño de Alarcón, arquitecto del Ministerio de Fomento y autor del proyecto constructivo; Juan de Dios de la Rada y Delgado, jefe de segundo grado del Museo Arqueológico Nacional; y los catedráticos de la Escuela de Veterinaria¹⁰⁴. El ministro de Fomento coloca en el hueco practicado a una piedra de granito, que se sitúa en la zanja hecha para el cimiento, una caja de plomo en la que se depositan: varias monedas de oro, plata y bronce acuñadas en el año corriente; un

¹⁰² A.G.V.M., sig. 7-248-52. Solicitud firmada por Francisco Jareño y dirigida al Alcalde-Presidente del Ayto. de Madrid.

¹⁰³ El contratista Pío Ballesteros presupuesta 545.290 pesetas, y Lorenzo García 545.300 pesetas.

¹⁰⁴ SALVADOR, SALVADOR (2016), p. 254. Original en: A.G.A., sección educación, caja 31/8119, leg. 8884, exp. II.

ejemplar de la *Gaceta y Diario Oficial de Avisos* de ese mismo día; varias medallas alegóricas a actos solemnes del reinado de Alfonso XII; y varias cabeceras madrileñas de periódicos del día. Se sella la caja de plomo, colocándose sobre ella una lápida de mármol con la inscripción: “*Reinando Alfonso XII, Ministro de Hacienda, Conde de Toreno, arquitecto Francisco Jareño, 30 de noviembre de 1877*”. Antes del cierre de la caja se deposita en ella una copia del presente acta¹⁰⁵.

Tras el acto, el ministro y sus acompañantes se dirigen a la sede provisional de Ribera de Curtidores. “*Desde que se la obligó á salir del local que ocupaba en el paseo de Recoletos, ha venido representando el más tristísimo papel en el ramo de Instrucción Pública*”, esta es la valoración que como apostilla del acto se incluye en prensa profesional¹⁰⁶.

Los actos oficiales y la realidad de la situación no suelen caminar juntas, dos meses después de que el ministro ponga la simbólica primera piedra del edificio aún no hay licencia municipal de obra. A 9 de febrero de 1878 Jareño solicita al Ayuntamiento la obligada licencia para la construcción del edificio y demás obras accesorias. El informe favorable a la solicitud lo emite el arquitecto de la Comisión de Obras a 28 de febrero¹⁰⁷.

No tardan en surgir problemas económicos. A 5 de agosto de 1878 el contratista expone que el importe de las obras ejecutadas de marzo a mayo asciende a 113.725 pesetas, que no le ha sido abonado, y solicita la rescisión de la contrata con sus correspondientes intereses e indemnización ante la falta de seguridad en los pagos y carecer de recursos. Vuelve a repetir a 23 de octubre la solicitud de rescisión de contrata y pago de daños y perjuicios.

El propio negociado de Construcciones Civiles informa a 29 de noviembre de la necesidad de la continuación de la obra, porque “*basta una sola visita al edificio en que hoy se halla la mal llamada Escuela de Veterinaria para comprender que no es posible la continuación en él de la enseñanza de este ramo de la instrucción pública*”, aunque admite la escasez de recursos destinados a construcciones civiles. En ese mo-

¹⁰⁵ SALVADOR, SALVADOR (2016), p. 254. Original en: A.G.A., sección educación, caja 31/8118, leg. 8883, exp. XX. La cuenta de gastos de este acto oficial asciende a 709,19 pesetas, en valoración del arquitecto Francisco Jareño.

¹⁰⁶ *La Veterinaria Española*, 725, 1877, XXI, pp. 4367-4368.

¹⁰⁷ A.G.V.M., sig. 7-248-52. Solicitud firmada por Jareño que se acompaña de plano de planta de la fachada y la memoria exigida por la ordenanza de Policía Urbana.

mento en Madrid están en ejecución la Biblioteca Nacional de España, la Escuela Superior de Ingenieros Agrónomos (en otros momentos denominada Escuela General de Agricultura e Instituto Agrícola Alfonso XII) y la Estación Agronómica (precursora del INIA).

También relata que, al iniciarse la nueva edificación, se acordó extraoficialmente contar con los recursos económicos obtenidos por la venta de la antigua sede de la Escuela en la Carrera de San Francisco, siendo el Ministerio de Hacienda el encargado de llevarlo a cabo. Realizada la subasta unos días antes, se constata que por esta vía no se van a obtener ingresos, siendo necesarias nuevas subastas y nuevas tasaciones¹⁰⁸. El resultado de la falta de fondos no puede ser otro que la ralentización, casi total, de la obra.

El negociado de Construcciones Civiles hace referencia a un “acuerdo extraoficial” que permite aumentar los recursos para la nueva edificación. Entendemos que se emplea esta expresión para explicar rápidamente cómo el importe de la venta de un edificio que pertenece al Ministerio de Hacienda se ingresa en una institución como la Escuela de Veterinaria, que pertenece al Ministerio de Fomento. Podría interpretarse como una compensación por el grave perjuicio ocasionado, el producto de una “mala conciencia”. De forma oficial, por real orden de 10 de julio de 1877 se había mandado enajenar el edificio de la Escuela Especial de Veterinaria en la Carrera de San Francisco con la mayor brevedad posible *“para aplicar su producto á la construccion de la nueva Escuela de Veterinaria, cuyas obras han empezado ya ha ejecutarse”*¹⁰⁹. Finalmente el edificio se derriba y el terreno es dividido en tres solares para facilitar su venta, siendo adjudicado en subasta pública a 5 de octubre de 1882¹¹⁰. Han transcurrido cinco años desde la primera subasta, se logra la venta cuando el nuevo edificio ya está concluido.

Por fin se aprueba un presupuesto adicional a 21 de abril de 1879 de 162.439,11 pesetas. Un año después, el nuevo presupuesto adicional asciende a 225.417,94 pesetas. Y el aprobado a 30 de septiembre de 1881 es de 52.627,81 pesetas.

¹⁰⁸ A.G.A., sección educación, caja 31/8118, leg. 8883, exp. XX.

¹⁰⁹ A.G.A., sección educación, Construcciones Civiles, caja 31/8118, leg. 8883, 2ª parte. Oficio del Ministerio de Fomento al ministro de Hacienda, a 17 de noviembre de 1877.

¹¹⁰ *La Iberia*, 6 de octubre de 1882, 8027, p.3. *Revista de la Sociedad Central de Arquitectos*, 30 de julio de 1882, p. 8.

En agosto de 1880 el contratista Mariano Benito informa de la imposibilidad de terminar la obra el 31 de ese mes, fin del plazo concedido, aduciendo el efecto de los temporales del duro invierno; el retraso producido en los pagos; y la tardanza “*en la llegada desde el extranjero*” de las vigas de hierro para los forjados de las cátedras. El negociado está de acuerdo en las causas expuestas, además del importante detalle de carecer del fondo económico necesario para afrontar el pago, por lo que estima conveniente la concesión de una prórroga.

El “*suntuoso edificio*” de la futura Escuela de Veterinaria es visitado a 21 de septiembre de 1880 por el ministro de Fomento y el director general de Obras Públicas, mereciendo arquitecto y contratista su felicitación por “*las condiciones de solidez, belleza, elegancia y armonioso conjunto*” que se perciben¹¹¹.

Habíamos dejado anotado que la ceremonia de colocación de la primera piedra del edificio de la Biblioteca Nacional, con proyecto de Francisco Jareño, se realiza en abril de 1866. Los sucesivos y prolongados parones en la ejecución de la obra llevan a que no finalice su construcción hasta 1892, formando parte de los actos del cuarto centenario del descubrimiento de América, abriendo al público como biblioteca cuatro años más tarde. A 8 febrero de 1881, poco más de cuatro meses después de recibir Jareño la felicitación del ministro de Fomento Fermín Lasala por su trabajo en la Escuela de Veterinaria, se produce la sustitución del gobierno conservador de Cánovas del Castillo por el liberal de Mateo Sagasta, siendo nombrado como nuevo ministro de Fomento José Luis Albareda, que dos meses después destituye como arquitecto director de la Biblioteca Nacional a Jareño y nombra a Álvaro Rosell y José María Ortiz para sustituirlo, ambos son ayudantes de dirección facultativa de Jareño y el primero hijo de su consuegro¹¹², siendo el arquitecto Antonio Ruíz de Salces quien concluye el edificio introduciendo modificaciones parciales en el proyecto de Jareño.

El revés profesional sufrido por Francisco Jareño sin duda es importante, el que su proyecto de Escuela de Veterinaria esté próximo a concluirse solo en parte puede resarcirle. Por real orden de 24 de marzo de 1881 se forma una Junta de Obras conformada por cuatro miembros:

¹¹¹ *La Iberia*, jueves 23 de septiembre de 1880, 7323, p. 3.

¹¹² BIBLIOTECA NACIONAL DE ESPAÑA, *De pasadizo a Palacio. Las casas que albergaron la Biblioteca Nacional*, exposición celebrada de 3 de octubre de 2012 a 27 de enero de 2013.

Miguel López Martínez, delegado regio de la Escuela de Veterinaria, como presidente; Santiago de la Villa, catedrático de la Escuela, como secretario e interventor; y Francisco Martínez Echeverría, ingeniero jefe de la provincia de Madrid, y Francisco Jareño de Alarcón, arquitecto director de la obra, como vocales. El 11 de abril queda formalmente constituida la Junta de Obras.

A 6 de diciembre de 1881 la Junta de Obras remite para su aprobación el acta de la recepción provisional de las obras, que se ha realizado a 21 de octubre. El 19 de diciembre se aprueba el acta de recepción provisional.

El delegado regio y director se reúne con el ministro de Fomento el 12 de enero de 1882 trasladándole un plan completo de las obras necesarias para poder comenzar la labor docente. El plan está consensuado con el claustro de catedráticos y aprobado por la Junta de Obras, y situaría a la institución española como puntera en Europa, ya que recoge los avances de las escuelas de veterinaria europeas visitadas por López Martínez¹¹³.

A 18 de marzo de 1882 la Junta de Obras remite para su aprobación la liquidación económica de la obra, valorada en 985.236 pesetas. El 22 de marzo la Junta remite un presupuesto de 141.231,01 pesetas, dividido en 15 presupuestos parciales, destinado a la compra de material fijo (valorando también su instalación) y la compra de mobiliario. A 18 de abril se indica a la Junta de Obras que el importe de la compra de mobiliario corresponde a Instrucción Pública y no a Obras Civiles. El delegado regio, por acuerdo de la Junta de Obras, presenta un presupuesto destinado a la adquisición de material fijo, sin incluir el mobiliario, de 73.086,43 pesetas.

La recepción definitiva se aprueba por la Junta de Obras a 28 de marzo, constando en el acta la firma de sus cuatro miembros y la del contratista de la obra, produciéndose la aprobación del acta de recepción definitiva del edificio de la Escuela de Veterinaria de Madrid el 22 de abril de 1882¹¹⁴. Ese mismo día, el delegado regio pone en conoci-

¹¹³ *La Correspondencia de España*, 12 de enero de 1882, 8696, p.3. *EL DÍA*, 12 de enero de 1882, 600, p. 2.

¹¹⁴ SALVADOR, SALVADOR (2016), pp. 256. Original en: A.G.A., sección educación, construcciones civiles, caja 31/8118, leg. 8883, exp. XX.

miento del ministro de Fomento la noticia¹¹⁵. La obra está oficialmente terminada.

El gran día se acerca. El *Diario Oficial de Avisos de Madrid* publica a 18 de agosto el contenido de la *Gaceta* del día anterior: la matrícula de todas las asignaturas impartidas en la Escuela de Veterinaria estará abierta de 1 a 30 de septiembre¹¹⁶.

En septiembre de 1882 comienza a impartirse el nuevo curso en la Escuela de Veterinaria de Madrid¹¹⁷. ¡Por fin la enseñanza de la Veterinaria se realiza en la capital de España en un edificio construido expresamente para esa finalidad!

El esperado momento, tan deseado por la clase veterinaria, queda eclipsado para el conjunto de la sociedad. El motivo es que los reyes Alfonso XII y María Cristina habían inaugurado el 10 de junio de 1882 el Museo de Instrucción Primaria que se ha instalado provisionalmente en el edificio de la Escuela de Veterinaria de Madrid, acontecimiento que tiene un amplio reflejo en la prensa periódica, que más adelante relataremos, y que a la postre sirve como inauguración oficial de un edificio ya concluido pero en pleno proceso de equipamiento docente con fines veterinarios. Ninguno de los diarios madrileños que hemos consultado se hace eco del comienzo del curso en la Escuela, pero más difícil de creer es que *La Veterinaria Española* tampoco refleje el acontecimiento.

Una de las primeras solicitudes al recién inaugurado establecimiento parte del gremio de vaqueros de Madrid, y que apelando al mantenimiento de la salud pública aspira a que se instale en sus dependencias un “*hospital clínico de vacas lecheras enfermas*”¹¹⁸. Son numerosas las lecherías existentes por entonces en la capital, y aún habrían de

¹¹⁵ A.G.U.C.M., caja V/01-023. Oficio firmado por Miguel López Martínez a 22 de abril de 1882.

¹¹⁶ *Diario Oficial de Avisos de Madrid*, 18 de agosto de 1882, 230, p. 1.

¹¹⁷ Son prácticamente unánimes las publicaciones que adelantan al curso 1881-82 el inicio de las clases en Embajadores, y respecto a la estancia en Carrera de San Francisco y Ribera de Curtidores las inexactitudes aumentan. En el corto espacio de tiempo transcurrido entre el XXII Congreso Nacional de Historia de la Veterinaria y esta conferencia, se han producido modificaciones en las breves reseñas históricas incluidas en las páginas web de instituciones que el público asimila como “oficiales”, caso de la Facultad de Veterinaria y el Museo Veterinario de la U.C.M., aunque se sigue contemplando 1881 como inicio del curso en la sede de Embajadores.

¹¹⁸ *El Debate*, 27 de octubre de 1882, 360, p.3.

serlo más pues la costumbre de tomar leche de vaca se ha ido extendiendo y no es fácil encontrar veterinarios especialistas en vacas lecheras afincados en la capital. Pero esta necesidad ya ha sido tenida en cuenta por los catedráticos y el director, que entre las instalaciones iniciales cuentan con establo de vacas lecheras.

En paralelo a la construcción del nuevo edificio se produce la remodelación urbanística de la zona. Se forma la Glorieta de Embajadores, proporcionando amplitud de espacio y ganando en vistosidad para el nuevo edificio. Para lograrlo, también la Escuela ha de ceder terreno al Ayuntamiento, en concreto 8.424 pies. El director sabe que nada puede hacer para evitarlo, pero no por ello deja de defender los derechos del establecimiento que dirige, argumenta que en ese espacio se pretendía realizar un baño para caballos, y aunque se puede elegir otro lugar *“ha de ser bajo la promesa de que en los actuales ó futuros proyectos”* no se cercenará nuevamente el terreno perteneciente a la Escuela de Veterinaria¹¹⁹.

La liquidación de la obra de construcción de la Escuela de Veterinaria se aprueba oficialmente a 8 de noviembre de 1882 por un importe de 987.842,92 pesetas, habiendo percibido el contratista Mariano Benito de Miguel la cantidad de 985.236,92 pesetas, abonándosele con posterioridad la diferencia entre ambas cifras.

Conocemos con pulcra exactitud los honorarios percibidos por Francisco Jareño por su intervención profesional en la ejecución de la Escuela de Veterinaria: el sueldo percibido desde 1 de diciembre de 1877 hasta 21 de abril de 1882, días anteriores a las respectivas fechas oficiales de inicio y final de la obra de edificación, es decir, 4 años y 141 días a razón de 4.000 pesetas anuales, es de 17.545,20 pesetas; por formación de proyectos y planos, a razón de 1,50% sobre el presupuesto final de 857.205 pesetas, el importe es de 13.715,28 pesetas; por la formación de presupuesto, a razón de 0,20% sobre el presupuesto, 1.714,41 pesetas; por honorarios de un auxiliar facultativo para los trabajos de gabinete, mediciones y copias, a razón de 3.000 pesetas/año, supone un importe de 13.158,90 pesetas; por un escribiente a 1.095 pesetas/año, 4.803 pesetas; y por un vigilante de obra a 1.095 pesetas/año, 3.957 pesetas. La suma total de conceptos supone un importe

¹¹⁹ A.G.U.C.M., caja V/01-023. Oficio remitido por el director general de Obras Públicas al director de la Escuela de Veterinaria, a 29 de noviembre de 1880; y contestación de éste al director general de Obras Públicas, a 10 de diciembre.

de 54.893,79 pesetas, del que hay que deducir las 11.077,65 percibidas a 9 de julio de 1883¹²⁰.

La Junta de Obras, formada a 24 de marzo de 1881, se disuelve a 10 de febrero de 1883. Pero se ordena nuevamente su formación el 19 de abril, con los mismos componentes desempeñando los mismos cargos, que toman posesión por segunda vez a 11 de mayo de 1883. Tienen como cometido expreso la revisión de todas las adjudicaciones pendientes.

Ya hemos comentado que en la fachada principal del edificio Francisco Jareño prevé la colocación de ocho medallones o altorrelieves, según consta en el plano inicial del arquitecto (cuatro sobre la puerta de entrada y dos en cada uno de los extremos). Finalmente se ejecutan los cuatro situados encima de la puerta principal, en el remate superior del edificio, pero sin determinar las figuras a quienes se dedica cada uno de ellos por no tratarse de un elemento constructivo sino decorativo. No hemos encontrado ninguna partida presupuestaria específica destinada a este asunto ni tampoco ningún acta de claustro de catedráticos en el que se adopten resoluciones al respecto, porque estimamos que el acuerdo sobre los bustos de los ilustres albéitares y veterinarios que se colocaron en los espacios reservados para ello fue adoptado en junta de catedráticos presidida por el delegado regio y realizada en la Escuela de Veterinaria de Madrid. Conocemos a un único ilustre veterinario como protagonista de esos medallones, es Carlos Risueño Mora, cuya imagen reproduce Cesáreo Sanz Egaña en la biografía que le dedica en *Ciencia Veterinaria*¹²¹. Introducir en la fachada medallones de figuras históricas de la Veterinaria como decoración escultórica conmemorativa, también fue la solución propuesta por Francisco Jareño en la fachada de la Biblioteca Nacional, en este caso once medallones de literatos consagrados.

Hasta ahora no nos consta ninguna evidencia más en este asunto, aunque si atendemos a la *Historia de la Facultad de Veterinaria de Madrid* escrita en 1950 por Cristino García Alfonso, decano de la Facultad en ese momento, al referirse a los albéitares que por sus publicaciones han alcanzado fama mundial cita a Francisco de la Reyna, Fernando Calvo y Martín Arredondo, con quienes todos los historiadores

¹²⁰ SALVADOR, SALVADOR (2016), pp. 258. Original en: A.G.A., sección educación, construcciones civiles, caja 31/8118, leg. 8883, exp. XX.

¹²¹ SANZ EGAÑA, C., *Ciencia Veterinaria*, boletín, 1942, III, p. 148.

convendríamos, por lo que no resulta expuesto afirmar que estas tres figuras acompañaron a Risueño. Más allá de esta conjetura, solo la glosa que hace de Nicolás Casas de Mendoza como discípulo de Risueño y defensor constante del carácter científico del veterinario, lleva a pensar en Casas como poseedor de otro altorrelieve, si bien la proximidad de su fallecimiento en el momento del diseño lo hace descartable. Entre nosotros se encuentran académicos que estudiaron en la Escuela de Embajadores, y aunque es entendible lo difícil de tomar constancia de los hechos que en cada momento asumimos como continuos y persistentes, he de apelar a ellos por si de forma directa o indirecta pueden aportar alguna evidencia.

Para engalanar las nuevas salas de la Escuela el delegado regio recurre a solicitar en febrero de 1883 a través del Ministerio de Fomento, la cesión de algunos cuadros de titularidad del Museo del Prado. La solicitud es aprobada, y a 31 de agosto se remite al director del museo de pinturas una relación de los cuadros recibidos en la Escuela de Veterinaria¹²². Según *La Época* son 19 cuadros¹²³. La ausencia del arquitecto Francisco Jareño, que acude a Granada para dirigir la reparación de los desperfectos ocasionados por un terremoto y posteriormente cae enfermo de cierta importancia, son las causas esgrimidas a 28 de abril de 1885 por el delegado regio para explicar el retraso en la terminación de las obras de instalación del mobiliario fijo. A 23 de febrero de 1886 se aprueba la recepción definitiva de esas obras, disolviéndose definitivamente la Junta de Obras.

Ya hemos hablado anteriormente de la imponente puerta de acceso a la Escuela de Veterinaria por la Ronda de Toledo, que es sustituida en agosto de 1885 por la puerta que fue del Monte de Piedad, y que actualmente está situada en el acceso al parque de El Retiro desde la Puerta de Alcalá, conocida como Puerta de la Independencia¹²⁴. Por el contrario, la verja que rodea actualmente el conjunto del *Casino de la Reina* procede del Retiro madrileño, siendo instalada para sustituir el vallado inicial de cemento.

Las obras destinadas a completar y mejorar las instalaciones de la Escuela de Veterinaria comienzan pocos meses después de concluida oficialmente su edificación. En septiembre de 1886, al comenzar el

¹²² A.G.U.C.M., caja V/01-236.

¹²³ *La Época*, 17 de diciembre de 1883, 7740, p. 2.

¹²⁴ A.G.U.C.M., caja V/01-023.

nuevo curso, el director de la Escuela de Veterinaria considera imprescindible para el buen funcionamiento de la institución la reparación de la techumbre del taller de herrado y forja, así como su ampliación; la construcción de “*un baño perfecto para animales solípedos*”, instalación a la que, como en el resto de la Escuela, llega el agua del canal de Isabel II; y pavimentar un cuarto colindante con los retretes y urinarios “*convertido hoy en una fosa inservible y peligrosa*”. El encargo se realiza al arquitecto José María Ortiz, siendo realizada la recepción definitiva de las tres obras en diciembre de 1889¹²⁵.

Durante el curso 1888-89 hay 652 alumnos matriculados en la Escuela. 198 cursan el primer año, 121 el segundo, 111 el tercero, 102 el cuarto y 120 el último. El número total de matrículas por asignaturas es de 2.843, con el resultado en los exámenes ordinarios para los 652 alumnos de 116 sobresalientes, 149 notables, 351 buenos, 940 aprobados y 253 suspensos. En los exámenes extraordinarios el número respectivamente es de 5, 4, 5, 470 y 146. Repiten curso por dos o más suspensos 79 alumnos¹²⁶.

Las obras destinadas a la mejora de la docencia continúan. Así, a 5 de marzo de 1891 el delegado regio, Miguel López Martínez, de acuerdo con el claustro, argumenta la imperiosa necesidad de disponer de locales destinados a asistencia clínica, de los que carece la Escuela, siendo indispensable para la formación práctica de los futuros veterinarios la asistencia facultativa a los animales propiedad de particulares, además de para cumplir con la finalidad social en casos de “*dolencias raras, pertinaces y graves de los animales domésticos*”. Ya hemos comentado que en la planta baja está el espacio dedicado al hospital clínico, formado por la suma de diferentes estancias diferenciadas, por lo que apelar a su no existencia es sin duda exagerado y utilizado como un argumento de fuerza, diferente es que el espacio del que se dispone no sea suficiente ni su disposición idónea. Pero da resultado. Por real orden de 12 de marzo se encarga el proyecto al arquitecto José María Ortiz, que lo presenta a 27 de julio. Con algunas modificaciones se aprueba a 19 de septiembre por la Junta de Construcciones Civiles. Con fecha 9 de abril de 1895 se aprueba la recepción definitiva del hospital

¹²⁵ A.G.A., sección educación, caja 31/8118, legajo 8883, exp. XIV. R.A.B.A.S.F., archivo general, leg. 5-79-12.

¹²⁶ A.G.U.C.M., caja V/02-007.

clínico, que cuenta incluso con “*clínica de enfermedades caninas*”¹²⁷. La Escuela ya está completa.

Aquí concluye nuestro objetivo temporal contenido en el título, pero no podemos dejar de reseñar que el edificio en Embajadores de la Escuela de Veterinaria, que desde 1943 pasa a albergar la Facultad de Veterinaria¹²⁸, ha de ser abandonado de forma precipitada en abril de 1958 por amenaza de ruina, trasladándose de forma provisional a la Facultad de Derecho de la Universidad Complutense mientras se construye el nuevo edificio docente¹²⁹. Por no contada, la historia de la profesión se desconoce, y vuelve a repetirse.

LA ESCUELA DE VETERINARIA EN EMBAJADORES Y SUS USOS NO VETERINARIOS

El edificio de la Escuela de Veterinaria es requerido desde el gobierno civil de la provincia de Madrid en dos ocasiones como hospital de apoyo. La primera es en febrero de 1882, con el edificio aún en proceso de ser equipado para la actividad docente, siendo requerido como hospital provisional ante la epidemia de viruela que sufre el vecindario para ser ocupado por los enfermos que no padecen la enfermedad¹³⁰. Dada la completa cronología de fechas que hemos presentado, y los inmediatos acontecimientos posteriores que pasamos a relatar, podemos asegurar que tal uso no llega a producirse.

La sesión inaugural del 1^{er} Congreso Pedagógico Nacional se celebra el 28 de mayo de 1882 en el Paraninfo de la Universidad Central, a cuyo acto están invitados a asistir todos los profesores de facultades, institutos y escuelas de Madrid. El rector Francisco de la Peña también dirige su invitación al director de la Escuela de Veterinaria¹³¹. Pero la relación de la Escuela con ese Congreso es mucho mayor: por real de-

¹²⁷ A.G.A., sección educación, caja 31/8118, leg. 8883, exp. XX.

¹²⁸ Ley de 29 de julio de 1943 sobre ordenación de la Universidad española.

¹²⁹ Con proyecto del arquitecto Mariano Garrigues Díaz-Cañabate, el edificio se concluye en 1968.

¹³⁰ PÉREZ GARCÍA (1986), pp. 32-33. Oficio dirigido desde el Ministerio de la Gobernación al ministro de Fomento, a 14 de febrero de 1882. *La Correspondencia de España*, miércoles 1 de febrero de 1882, 8716, p.2. Recoge el acuerdo adoptado por la junta provincial de Sanidad, presidida por el gobernador civil conde de Xiquena, declarando hospital provisional tanto la Escuela de Veterinaria como el Palacio de Indo (magnífico edificio situado en el Paseo de la Castellana, posteriormente derruido).

¹³¹ A.G.U.C.M., caja V/02-007.

creto de 6 de mayo de 1882 el primer gobierno liberal de la Restauración crea el Museo de Instrucción Primaria (después Museo Pedagógico Nacional), y el 10 de mayo el director general de Instrucción Pública, Juan Facundo Riaño, comunica a Miguel López Martínez que el Museo tiene como sede provisional la nueva Escuela de Veterinaria¹³². La exposición de material docente es inaugurada por los reyes Alfonso XII y María Cristina el 10 de junio de 1882, a los que acompañan el ministro de Fomento, el director general de Instrucción Pública, el gobernador de Madrid, el delegado regio y director de la Escuela de Veterinaria y una comisión de profesores de la misma, constando de 3172 objetos de todo tipo colocados en 12 salas de la Escuela. La inauguración, dado el máximo nivel de los asistentes, es recogida profusamente por la prensa periódica, especificando la naturaleza y ubicación de buena parte de lo expuesto, continuando los comentarios en días sucesivos¹³³. Así, la inauguración del nuevo edificio que alberga la Escuela de Veterinaria de Madrid no tiene relación con ninguna temática veterinaria.

El Museo es una institución puntera a nivel pedagógico promovida por la Institución Libre de Enseñanza, que tiene a Manuel Bartolomé Cossío, discípulo de Giner de los Ríos, como director por oposición desde 1883. Permanece en la Escuela hasta 1886 que concluyen las obras de remodelación de la Escuela Normal de Maestros, su nueva sede.

Por segunda vez, desde el gobierno civil de la provincia se requiere a la Escuela de Veterinaria como hospital de apoyo. Es en 1885, cuando una fuerte epidemia de cólera se extiende por pueblos y ciudades de España. En Madrid deja 1366 fallecidos, y lleva a que en julio de ese año el gobernador de la provincia ordene la conversión del edificio de la Escuela en hospital de coléricos mientras dure la epidemia, por ser el local más adecuado de los que existen “en el barrio del Sur de esta Corte”, comprometiéndose a que sea la Diputación quién se encargue de los gastos de reparación de los desperfectos sufridos¹³⁴. Según refleja la prensa, la situación en Madrid, como en otros puntos de España, es muy grave y lleva a que las habitaciones de la planta baja que dan al

¹³² A.G.U.C.M., caja V/01-023.

¹³³ *El Día*, 9 de junio de 1882, 742, p. 3. *La Correspondencia de España*, 9 de junio de 1882, 8844, p. 2. *Diario oficial de avisos*, 10 de junio de 1882, 161, p.2. *El Liberal*, 10 de junio de 1882, 1070, p. 1. *La Discusión*, 7 de junio de 1882, 998, p. 3.

¹³⁴ A.G.U.C.M., caja V/01-023. La dirección general de Instrucción Pública traslada el oficio del ministro de Fomento al delegado regio de la Escuela de Veterinaria, a 1 de julio de 1885.

extenso jardín de la Escuela se instalen 100 camas con destino a los enfermos infectados del sur de Madrid, situándose la entrada al hospital por la ronda de Toledo¹³⁵. Alberto Bosch, alcalde de Madrid, visita las salas de enfermos el 28 de julio¹³⁶. En todo momento se insta a los vecinos de la calle de Embajadores a guardar la calma ante un posible contagio, pues a los enfermos se les mantiene en régimen de aislamiento. La prensa periódica madrileña publica diariamente el nombre de las nuevas personas ingresadas por haber contraído cólera, su edad y domicilio, así como los datos de las personas fallecidas. El ambiente durante la epidemia debió resultar angustioso, si bien es cierto que en las epidemias de cólera precedentes: 1834, 1855 y 1865, el número de fallecidos en Madrid a causa de la enfermedad fue mucho mayor¹³⁷. El 9 de octubre son dados de alta los tres últimos enfermos ingresados en el hospital de la Escuela, se aproxima el momento de inicio de la vuelta a clase pero se ordena mantener momentáneamente la enfermería en previsión de un rebrote de cólera, que no se reprodujo¹³⁸.

A primeros de octubre se publica el anuncio de la apertura de matrícula del 1 al 15 de ese mes para el nuevo curso en la Escuela de Veterinaria¹³⁹. Dado que las fechas de inicio y final de la epidemia se aproximan mucho a las de final e inicio de curso, en poco más de un mes se ve afectada la enseñanza.

En el mismo año 1885 la Escuela de Veterinaria vuelve a ser protagonista por causa ajena a su actividad natural. La primera “cocina económica” puesta en marcha por iniciativa de la Asociación de Beneficencia Domiciliaria, presidida por la reina María Cristina, inaugura su actividad el 12 de noviembre de 1885 en la Escuela de Veterinaria. A la derecha del acceso de entrada desde Embajadores se ha construido un pequeño edificio que alberga la instalación de las cocinas, donde los 400 pobres e impedidos de todos los distritos de Madrid poseedores de los respectivos bonos recogen 60 gr. de carne, 25 gr. de tocino, 150 gr. de garbanzos, 140 gr. de patatas, 60 gr. de judías, una gran cucharada

¹³⁵ *La Época*, 19 de junio de 1885, 11826, p. 1. *El Globo*, 19 de junio de 1885, 3522, p. 2.

¹³⁶ *La Época*, 28 de julio de 1885, 11864, p. 3.

¹³⁷ JODRÁ TRILLO, E., *Instauración y consolidación de la inspección veterinaria de carnes en Madrid en la primera mitad del siglo XIX*, tesis doctoral dirigida por SÁNCHEZ DE LOLLANO, J., y CASTAÑO ROSADO, M., U.C.M., Madrid 2015, pp. 209-219. “El cólera en Madrid: las primeras epidemias del siglo XIX”.

¹³⁸ *El Globo*, 9 de octubre, 3634, p. 3. *La Época*, 10 de octubre de 1885, 11937, p. 2.

¹³⁹ *El Día*, 6 de octubre de 1885, 1943, p. 2.

de caldo y una libra de pan. Al acto de inauguración acude la reina, a la que acompañan condesas, marquesas y otras socias influyentes, el gobernador de la provincia, el delegado regio y los catedráticos de la Escuela de Veterinaria. Dado el gran espacio existente, al redactor del periódico le parece plausible la construcción de un barracón más para albergar mesas y bancos destinados a ingerir allí mismo los alimentos proporcionados¹⁴⁰.

CONCLUSIONES

- Los cuatro edificios presentados tienen dos características comunes, una es la manifestada dedicación a la enseñanza veterinaria, y la otra es la figura del arquitecto Francisco Jareño de Alarcón. Es el autor de tres de los proyectos de edificios de la Escuela, en Carrera de San Francisco y en Ribera de Curtidores con sendas reformas de adaptación, y en Embajadores con obra nueva específicamente dirigida a cubrir las necesidades de la enseñanza de la Veterinaria. El vínculo de Jareño con el antiguo edificio de Recoletos se produce a partir de los planos realizados antes de su demolición, que son los únicos conocidos hasta ahora de la primera Escuela de Veterinaria española.
- La acertada ubicación de la Escuela de Veterinaria en el Paseo del Prado, convertido en centro neurálgico de la ciudad, hace inviable mantener su estratégica situación y obliga a su abandono.
- El curso 1862-63 se inicia en el edificio de la Carrera de San Francisco. El estado de imperiosa necesidad y la premura de tiempo llevan a su reforma, como solución rápida. Es la representación del desinterés administrativo por resolver un problema ocasionado por la propia Administración.
- Al edificio de la *casa de familia del Casino de la Reina*, al que se accede desde la Ribera de Curtidores, se llega en el curso 1877-78. A pesar de la extrema provisionalidad no es un tiempo perdido, se ponen las bases de la nueva organización interna, que se extenderá a la gratificante nueva época.
- Cinco años después de la colocación de la primera piedra, con un desvío presupuestario del 81%, y habiendo tenido en cuenta la opi-

¹⁴⁰ LA ÉPOCA, 12 de noviembre de 1885, 11968, p. 2. *La Ilustración Española y Americana*, 22 de noviembre de 1885, XLIII, p. 3.

nión de los vecinos para su ubicación, el curso 1882-83 comienza en la sede de Embajadores. Es el primer edificio construido en Madrid enteramente diseñado como Escuela de Veterinaria.

- En este trabajo mantenemos la denominación genérica de Escuela de Veterinaria. La denominación oficial inicial es Real Escuela de Veterinaria de Madrid, pero según los periodos pasará a ser Escuela Especial, Escuela Nacional, Colegio Nacional, Escuela Central, Escuela de Primera Clase, Escuela Profesional y Facultad, pero siempre: DE VETERINARIA.

ANIMALES CERVANTINOS

EXCMO. SR. DR. D. SALVADOR GUTIÉRREZ ORDOÑEZ

Catedrático de Lingüística General del Dpto. de

Filología Hispánica y Clásica

Facultad de Filosofía y Letras de la Universidad de León y

Académico de Número de la Real Academia Española

21 de noviembre de 2016

RESUMEN

La obra cervantina constituye no solo un tesoro literario, sino también un valioso testimonio sobre múltiples aspectos de su época: naturaleza, sociedad, conocimiento, historia, costumbres, creencias, lengua, literatura, etc. Este universo es rico en referencias zoológicas. Aunque los trabajos no son numerosos, se han estudiado los animales que intervienen en el Quijote (algunos con papel de personajes). Sin embargo, fuera de la obra cumbre, son citados otros muchos, cuya recopilación es necesaria para reconstruir el universo cervantino. Su estudio nos informa no solo de su existencia, de sus funciones, de su dimensión (real o literaria), de los oficios, de los objetos, de sus connotaciones...

Esta conferencia es el avance de un trabajo en curso que intenta tener en cuenta todos los animales de la obra cervantina. Aunque en el estudio se abordan diferentes dimensiones (zoológica, culinaria, social...), en la charla se realizará una ordenación por grupos guiada por la relevancia y la población que adquieren en la obra: caballos, asnos y

mulas, ovejas y cabras, perros, aves, cerdos, vacas, animales silvestres y monstruos, animales acuáticos y mariscos, reptiles y batracios, insectos y enfermedades. Se realizará una presentación de cada grupo, con un comentario de los aspectos que puedan resultar más interesantes o que puedan atraer la curiosidad.

RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

DRA. D.^a M.^a ELVIRA LÓPEZ CABALLERO

Doctora en Veterinaria por la Universidad Complutense de Madrid

24 de octubre de 2016

Texto no disponible

**MESA REDONDA SOBRE EL IMAGINARIO ANIMAL EN
EL QUIJOTE**

12 de diciembre de 2016

**COORDINADOR EXCMO. SR. DR. D.
LUIS ÁNGEL MORENO FERNÁNDEZ-CAPARRÓS**
Académico de Número y Presidente de la RACVE

**INTERVENCIÓN DEL EXCMO. SR. DR. D.
MIGUEL ÁNGEL VIVES VALLÉS**
Académico de Número de la RACVE

Texto no disponible

**INTERVENCIÓN DEL EXCMO. SR. DR. D.
LUIS MARDONES SEVILLA**
Académico de Número de la RACVE

Texto no disponible

**INTERVENCIÓN DEL EXCMO. SR. DR. D.
MIGUEL ÁNGEL APARICIO TOVAR**
Académico de Número de la RACVE

Texto no disponible

**INTERVENCIÓN DEL EXCMO. SR. DR. D.
JOSÉ MANUEL PÉREZ GARCÍA**
Académico de Número de la RACVE

Texto no disponible

**SITUACIÓN DEL SECTOR PORCINO ESPAÑOL,
SU COMERCIO EXTERIOR Y SUS RIESGOS SANITARIOS**

EXCMO. SR. DR. D. QUINTILIANO PÉREZ BONILLA

Académico de Número de la RACVE

19 de diciembre de 2016

Texto no disponible

PREMIOS DE LA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS DE ESPAÑA 2016

CONVOCATORIA

La Real Academia de Ciencias Veterinarias de España convoca los siguientes premios para el año 2016:

1. XI Premio de la “Asociación Nacional de Veterinarios Jubilados”.

Tema: “Psicología animal”. Dotación: 1.500 € y diploma.

2. X Premio “Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid”.

Tema: “Libre dentro del ámbito veterinario”. Dotación: 1.500 € y diploma.

3. IV Premio Andrés Pintaluba, S.A. “Carlos Luis de Cuenca y Esteban”.

Tema: “Sustancias para la alimentación animal”. Dotación: 1.000 € y diploma.

4. III Premio Laboratorios Ovejero.

Tema: “Libre dentro del ámbito veterinario”. Asociación Iberoamericana de Academias de Ciencias Veterinarias (AIACIVET). Dotación: 1.500 € y diploma.

5. VI Premio Instituto Tomás Pascual Sanz.

Tema: “Análisis estratégico para la consolidación de la cadena de valor de la leche en España en un entorno de mercado desregulado”.
Dotación: 3.000 € y diploma.

6. III Premio laboratorios Boehringer Ingelheim a la Divulgación Científica.

Tema: “Producción, Sanidad o Bienestar Animal”. Dotación: 2.000 € y diploma.

7. III Premio Fundación CESFAC.

Tema: “Alimentación animal”. Dotación: 1.500 € y diploma.

8. II Premio Cárnicas Tello.

Tema: “Las carnes y productos del cerdo blanco: excelencia gastronómica”. Dotación: 2.000 € y diploma.

9. II Premio SUPER FEED “Catedrático Mariano Illera Martín”.

Tema: “Endocrinología y nutrición en veterinaria”. Dotación: 1.200 € y diploma.

10. I Premio NUTEGA “Memorial Mariano García Martín”.

Tema “Nuevas aportaciones en la alimentación del cerdo ibérico”
Dotación: 2.000 euros y diploma.

BASES GENERALES (Excepto Premio Boehringer Ingelheim a la Divulgación Científica)

1. Los aspirantes, personas físicas españolas o extranjeras, tanto individuales como en grupo, sólo podrán presentar un trabajo en el premio al que opten. Los trabajos que aspiren a los diferentes premios convocados, deberán estar en poder de la Secretaría de esta Corporación (Real Academia de Ciencias Veterinarias de España, Maestro Ripoll, 8. 28006 Madrid, España), antes de las 24 horas del día 30 octubre de 2016. En ningún caso se identificará, implícita o explícitamente, el autor o autores del trabajo.
2. Los trabajos que opten a los premios serán de naturaleza experimental o de revisión, inéditos, (salvo en el Premio laboratorios **Boehringer Ingelheim a la divulgación científica**, cuyos requisitos se

indican en el apartado 16 de las presentes bases), redactados específicamente para esta convocatoria y no podrán ser presentados a otros premios.

- 2.1. Como estímulo al análisis del estado de las ciencias veterinarias, se apreciarán especialmente las revisiones sobre un contexto científico propio (pasado, presente y futuro de una línea de investigación) relacionado con las ciencias veterinarias y afines.
 - 2.2. En el mismo sentido, se aceptan en estas bases trabajos de investigación histórica en todas sus modalidades, relacionados con las ciencias veterinarias.
3. Formato.- Deberán estar escritos a ordenador, en castellano, con un resumen en inglés, en letra Arial 12 puntos en formato UNE A-4, a espacio y medio y presentados por duplicado, en papel, encuadernados para formar un volumen o más en su caso. Asimismo se presentará una copia en soporte informático, formato PDF.

Se recomienda que contenga los siguientes apartados:

- a. Título conciso.
 - b. Resumen en castellano e inglés, de un máximo de 250 palabras.
 - c. Introducción, breve y documentada, donde se limitará con claridad la hipótesis desarrollada o los fines y objetivos que se persiguen.
 - d. Exposición del material y métodos empleados.
 - e. Resultados, discusión crítica y conclusiones.
 - f. Bibliografía citada.
4. Los trabajos serán enviados a la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España por correo certificado o mensajería bajo la modalidad de plica:
- a. En un primer sobre, en cuyo exterior solo figurará el tema elegido, se introducirán: los dos ejemplares del trabajo en soporte papel y encuadernado; un ejemplar del trabajo en un soporte informático (CD o pen drive) en formato "PDF"; y una declara-

ción en la que se especifique la originalidad del trabajo y que este no ha sido publicado ni presentado a otro premio.

- b. En otro sobre, en cuyo exterior también figurará solamente el mismo lema, se incluirá:
- una nota con el nombre del autor o autores, indicando la dirección completa del primer autor, teléfono, dirección postal y dirección de correo electrónico,
 - una declaración formal de cesión de los derechos de publicación e imagen a la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España y a los patrocinadores del premio, y
 - una declaración de la originalidad del trabajo y que no ha sido publicado.

Este segundo sobre sólo se abrirá si el trabajo resultara premiado.

- c. Los dos sobres han de ser incluidos en un sobre grande o en un paquete que ha de ser enviado a la siguiente dirección:

Premio (Indicar el premio al que se concurre)

Real Academia de Ciencias Veterinarias de España

C/ Maestro Ripoll, 8.

28006 Madrid (España)

5. Se recomienda encarecidamente se siga el formato, extensión, estilo y modalidad de la bibliografía de los trabajos actualmente publicados en los Anales de la Real Academia de ciencias veterinarias de España:

http://racve.es/files/2016/01/2015-12-22-Anales-de-la-RACVE_2013-pdf-1-FINAL.pdf

6. La concesión de un premio de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España supondrá que el autor o autores no podrá presentar un nuevo trabajo a la misma convocatoria hasta pasados dos años.
7. No podrán ser concedidos dos premios a la misma persona, equipo o grupo, en la misma convocatoria.

8. Los trabajos premiados pasan a ser propiedad de la Academia y se someterán a la política de publicación de los Anales.
9. Los Académicos de Número no podrán figurar como autores de los trabajos presentados a este Concurso Científico.
10. En cada premio, a propuesta de los Jurados nombrados al efecto por la Junta de Gobierno de la RACVE, se concederá el premio a un solo trabajo, pudiéndose asimismo otorgar un Accésit a otro de los trabajos presentados o declarar desierto el premio. El Accésit no llevará consigo dotación económica.
11. El fallo se hará público antes del 15 de diciembre de 2016.
12. En el caso de que sean varios los autores del trabajo premiado, la nominación e importe en metálico y diploma, se entregará al primer firmante, así como, la presentación del trabajo premiado. El resto de los participantes del trabajo recibirán un certificado acreditativo del premio otorgado.
13. La entrega de premios se realizará en sesión pública, en enero de 2017, en fecha a determinar que se anunciará, en la página web de la Real Academia y en otros medios. En el acto de entrega de premios cada uno de los premiados será presentado por Académico de número designado por la Junta de Gobierno. A continuación, cada uno de los premiados tendrá que exponer un resumen de su trabajo, en un tiempo máximo de 15 minutos.
14. Todos los premios serán acreditados mediante el diploma correspondiente, expedido por la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España.
15. Los trabajos no premiados podrán retirarse por el interesado en los plazos que se indiquen tras la concesión y entrega de los premios. Pasada dicha fecha, se perderá el derecho de recuperación, pasando a los fondos bibliográficos de esta Real Academia, que podrá publicarlos.

Domicilio social: Real Academia de Ciencias Veterinarias de España. C/ Maestro Ripoll, 8 – 28006 Madrid. Tel. 915611799. Correo electrónico: racve@racve.es. Pág.web: <http://www.racve.es/>

16. Bases específicas para el Premio **Boehringer Ingelheim a la Divulgación Científica** de la Real Academia de Ciencias Veterinarias

de España. Este premio tiene el objetivo de promover y reconocer la labor de los veterinarios en la divulgación de los avances que se producen en el ámbito veterinario, en los campos de la producción, sanidad y bienestar animal. El Premio pretende incentivar la divulgación de aquellos trabajos que por su carácter innovador aporten una contribución significativa sobre la producción, prevención, tratamientos y, en general, sobre el bienestar de los animales, tanto de producción como de compañía.

- Los trabajos que opten al Premio podrán ser tanto de base experimental (ensayos clínicos/casos clínicos/pruebas de campo) como de carácter divulgativo (artículos de revisión/opinión).
- Deberán haber sido publicados en, al menos, una revista de divulgación veterinaria española (en formato impreso o digital) durante los 12 meses anteriores a la fecha de publicación de la presente convocatoria.
- No podrán optar a este Premio las traducciones o abstracts de trabajos publicados en revistas extranjeras, los publibreportajes, **ni los trabajos con un contenido comercial explícito.**
- El contenido y formato de los trabajos presentados al Premio deberán coincidir con el del trabajo publicado.
- El envío de los trabajos se realizará según lo indicado en la base 4ª, salvo en lo relativo a la plica, en su lugar se adjuntará una declaración sobre la originalidad del trabajo, una fotocopia de la publicación y una copia en pdf.

GANADORES PREMIOS RACVE 2016

**XII PREMIO ILUSTRE COLEGIO OFICIAL DE
VETERINARIOS DE MADRID**

**HYGIA PECORIS, SALUS POPULI.
LA EVOLUCIÓN HACÍA UNA SOLA SALUD**
D. JOSÉ MANUEL MARTÍNEZ PÉREZ

ÍNDICE

I. RESUMEN	382
I. ABSTRACT	382
II. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN	383
III. LA SALUD Y SUS IMPLICACIONES	384
1. El concepto de Salud	384
1.1. Concepciones de Salud	385
1.2. Características del concepto de Salud	385
1.3. Determinantes de la Salud	386
1.4. La calidad de vida	387
2. Importancia de la Salud Pública	387
IV. LA SANIDAD Y SU ORGANIZACIÓN	388
1. La Sociedad de Naciones	389
1.1. Tras la II Guerra Mundial	389
2. La Constitución de la OMS	389
2.1. Estructura organizativa de la OMS	391
2.2. La agenda de la OMS	393
3. El fenómeno de “emergencia” en las enfermedades y la OMS	394

V. EDUCAR EN MATERIA SANITARIA	395
1. Características de la Educación para la Salud (EpS)	396
1.1. Actuación y finalidad de la EpS	397
2. El marco de la Promoción de la Salud (PS)	398
2.1. La tendencia de la EpS	399
2.2. El desarrollo de la PS	400
VI. ASPECTOS GENÉTICOS EN LA SALUD	401
1. Las anomalías cromosómicas	402
1.1. La enfermedad genética y su impacto	403
2. Genética frente a Salud Pública	404
3. La genotoxicidad	405
4. Los estudios genéticos	406
4.1. El Consejo o Asesoramiento Genético	407
VII. CONSEJOS NUTRICIONALES PARA UNA VIDA SALUDABLE	408
1. Un poco de Historia	409
2. El metabolismo	411
3. Macronutrientes	411
4. Micronutrientes	414
5. Las Ingestas Dietéticas de Referencia	415
6. Alimentación y Salud	416
VIII. LA SALUD FRENTE A LOS RIESGOS FÍSICOS Y QUÍMICOS	418
1. Consecuencias de los riesgos	419
1.1. Niveles de prevención	419
1.2. La vigilancia de la Salud	420
1.3. El análisis de los riesgos	421
1.4. Herramientas	421
1.5. Riesgos físicos	422
1.6. Riesgos químicos	423
IX. ¿QUÉ SON LAS “ENFERMEDADES NO TRANSMISIBLES” (ENT)?	425
1. Factores de riesgo	426
2. Valoración del riesgo	427
2.1. Factores de riesgo comportamentales modificables	428
2.2. Factores de riesgo metabólicos/fisiológicos	428
3. Determinantes de las ENT	428
4. Sistemas de vigilancia	429
5. La OMS y las ENT	430
6. ENT de mayor relevancia	431
X. LA EMERGENCIA EN LAS ENFERMEDADES Y SUS FACTORES	433
1. Factores de emergencia. Modelo de convergencia	436

1.1.	Modificaciones en la demografía y los hábitos de la población	437
1.2.	Cambio climático	437
1.3.	Comercio internacional	437
1.4.	Políticas y medidas sanitarias deficientes	438
1.5.	Desigualdades sociales	438
1.6.	Nuevas tecnologías, Ecología y explotación del terreno	438
1.7.	Aparición de resistencias antimicrobianas (RAM)	439
2.	Principales estrategias de prevención y control	439
XI.	LAS ZONOSIS Y SU REPERCUSIÓN A ESCALA GLOBAL	440
1.	¿Qué zoonosis son emergentes en la actualidad?	442
2.	Algunas de las zoonosis de mayor relevancia actual	444
2.1.	Brucelosis	444
2.2.	Rabia	445
2.3.	Hidatidosis	446
2.4.	Triquinelosis	446
2.5.	Fasciolosis	448
2.6.	Tularemia	449
2.7.	Anisakiosis	449
2.8.	Enfermedades transmitidas por garrapatas	450
2.9.	Virus del Nilo Occidental	452
XII.	LOS ALIMENTOS COMO VECTORES DE PATÓGENOS	453
1.	Nuevos patógenos a tener en cuenta en seguridad alimentaria	455
2.	Factores relacionados con la aparición de brotes alimentarios	455
3.	Algunas intoxicaciones y toxiinfecciones de relevancia	457
3.1.	Campilobacteriosis	457
3.2.	Salmonelosis	458
3.3.	Yersiniosis	459
3.4.	Colibacteriosis	460
3.5.	Shigelosis	461
3.6.	<i>Bacillus cereus</i>	462
3.7.	Clostridiosis	463
3.8.	Botulismo	465
3.9.	Listeriosis	466
3.10.	Estafilococosis	469
3.11.	Vibriosis	470
XIII.	LA SALUD LABORAL	471
1.	Conceptos relacionados	472
2.	Ramas de la Salud Laboral	474
3.	La Ley de Prevención de Riesgos Laborales	474
XIV.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS GENERALES	478
ANEXO		486

I. RESUMEN

Aunque el concepto de “Una Sola Salud” es relativamente reciente, la colaboración entre las diferentes ramas sanitarias tuvo su origen en la época de Louis Pasteur. En la Reunión Sanitaria Internacional de 1851, las naciones presentes se alinearon en dos bloques: los partidarios de las medidas de control de las patologías infectocontagiosas y aquéllos que no querían poner trabas al libre comercio.

Las dos instituciones intergubernamentales cuyo fin en pro de la Salud es indiscutible son la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Oficina Internacional de Epizootias (OIE); la segunda es ahora conocida como Organización Mundial de Sanidad Animal y conserva su anterior acrónimo.

Para dar una idea de la importancia de estas dos instituciones hay que señalar que las enfermedades infectocontagiosas producen entre 14 y 17 veces más víctimas que los conflictos bélicos sufre la humanidad, y provocan perturbaciones de la Salud que incluyen incapacidad y pérdida de calidad de vida, así como causan otras patologías denominadas como “olvidadas” que afectan a unos mil millones de personas anualmente. Por otro lado, se calcula que en los próximos años los primeros puestos de la lista de mortalidad estarán ocupados por cardiopatías y accidentes cardiovasculares, algo que ya se da en los países desarrollados.

Por consiguiente, un enfoque integral hacia “Una Sola Salud” es obligatorio para que los sanitarios puedan abordar eficazmente la prevención, el diagnóstico y el control de las patologías, como sugeriría Charles Mérieux con su frase: “*Sans frontières entre les deux Médecines*”.

Palabras clave: *Salud, Enfermedad, Veterinaria, Medicina, Zoonosis.*

I. ABSTRACT

Although the concept of ‘One Health’ is relatively recent, collaboration among the different health sectors was originated around the epoch of Louis Pasteur. During the International Health Meeting in 1851, the participant nations bifurcated in two different blocks: those in favour of control measures according to the infectious diseases, and those which stand for free trade.

The two intergovernmental institutions whose objective towards Health is indisputable are the World Health Organization (WHO) and the Office International des Epizooties (OIE); the second one is now known as the World Organization for Animal Health and preserves its previous acronym. In order to give an idea of the importance of these two institutions, we must point out that infectious diseases occur between 14 and 17 times more victims than wars suffered by humanity, and they provoke Health disturbances including disability and loss of quality of life, as well as cause other diseases denominated as 'neglected' which affect over one billion people per year. Besides, it is calculated that the top causes of death in the coming years will be from heart and cardiovascular diseases, which already occurs in developed countries.

Therefore, a global approach towards 'One Health' is required so that health professionals can effectively tackle the prevention, diagnosis and control of diseases, as Charles Mérieux suggested with his quotation: *'Sans frontières entre les deux Médecines'*.

Keywords: *Health, Disease, Veterinary, Medicine, Zoonoses.*

II. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

En los últimos dos siglos ha existido un creciente interés por el conocimiento de los factores que afectan a la Salud, en particular por los avances en el campo de la Microbiología. Por un lado está la mejora en las técnicas de diagnóstico, tratamiento y control; por otro, el desarrollo de la higiene alimentaria, el abastecimiento de agua potable o el sistema de recogida de residuos.

Merced a la evolución en estos aspectos, las enfermedades infecocontagiosas se han podido identificar y controlar en parte, pero continúan representando un problema clave para la Salud en las dos vertientes: humana y animal. En este sentido, la eficacia de la vigilancia exige la conjunción de fuerzas. Como diría Rudolf Virchow -"Padre de la Medicina Comparada, la Biología Celular y la Patología Veterinaria"-: *"Entre la medicina animal y humana no hay líneas divisorias – ni deberían existir. El sujeto es diferente, pero la experiencia conseguida constituye la base de toda la medicina"*. También Virchow propuso en 1855 el término "zoonosis" para definir *"aquellas enfermedades de los animales que pueden ser contagiadas al hombre"*. En los años cincuenta del s. XX el veterinario Martin M. Kaplan, miembro del comité de

expertos en zoonosis de la Organización Mundial de la Salud (OMS), había especificado que éstas eran *“la suma de factores enteramente evitables, que causan peligro a la salud (aspecto sanitario), daño a la economía (aspecto económico) y como lamentable consecuencia, una gran preocupación social (aspecto social)”*. Este científico creía en la unión de ambas “medicinas”. La OMS sostendría en 1965 que las “zoonosis” son *“todas las enfermedades e infecciones en que puede existir relación animal-hombre y viceversa, bien sea directamente o a través del medio ambiente, incluidos portadores, reservorios y vectores”*.

Es esencial aunar fuerzas hacia “Una Sola Salud”, estableciendo un cauce común entre medicina humana y veterinaria, como diría Calvin W. Schwabe, epidemiólogo y parasitólogo veterinario, seguidor de las tesis de Virchow y de otros ilustres científicos continuadores, como William Osler, Albert Clement, Daniel E. Salmon, Albert Calmette, Camille Guérin, etc.

III. LA SALUD Y SUS IMPLICACIONES

1. El concepto de Salud

El concepto de Salud va más allá del simple hecho de carecer de patologías concretas. La Enfermedad sería la alteración del estado de Salud normal, entendiéndose como cualquier trastorno del cuerpo o mente que provoca malestar en las funciones normales. En las enfermedades se agruparían una serie de componentes definitorios para diferenciar de los síndromes (conjunto de síntomas) y los síntomas (signos).

Lo que hoy en día es entendido como “Salud” ha atravesado diferentes etapas a lo largo de la historia:

- Primera época (mágica). El mago o brujo era el encargado de sanar a aquéllos considerados como castigados, pues estaban enfermos.
- Segunda época (sacerdotal). En parte es continuación de la anterior, con la diferencia de la sustitución del mago por el sacerdote. La sociedad comienza empaparse de las creencias religiosas.
- Tercera época (de carácter empírico). En aras al estudio y mayor comprensión de la enfermedad, la comunidad científica del s. XVI volvió sus ojos a Hipócrates. El “neohipocratismo” sería puesto en efecto por personalidades como Giorgio Baglivi, Hermann Boerhave o Thomas Sydenham. Este último difundió otro tipo de concep-

ción de la enfermedad, la teoría “miasmática”, donde la patología se fundamentaba en la emanación sucia del suelo, las aguas impuras y el estado de la atmósfera y del medio ambiente. En adelante, ambas teorías convivieron junto con otra ecléctica, conocida como “contagionismo contingente” (teoría de Max Joseph von Pettenkofer).

- Cuarta época (de marcado carácter científico). Aunque la totalidad de los lectores pensarán en primer lugar en Pasteur y Robert Koch, hubo otros científicos que les precedieron. En esta época destacó también Virchow.
- Quinta época (s. XX-XXI). A lo largo del siglo pasado y lo que viene ocurriendo en el presente, se han producido avances espectaculares en el conocimiento y control de la enfermedad. En los países industrializados, se dan las típicas enfermedades de la civilización, es decir, las tres “C” (cáncer, de tipo circulatorio y accidentes de circulación); en los países subdesarrollados, las enfermedades infectocontagiosas y las carenciales.

1.1. Concepciones de Salud

- Holístico - Simbólica. Relaciona lo psíquico-físico con marcadas connotaciones de autodeterminación personal. Estaría relacionado con elementos de bienestar.
- Vinculada a la vida saludable. Relaciona lo físico con connotaciones ambientales. La Salud resulta de determinados estilos de vida. Concepto de carácter colectivo y punto de vista preventivo.
- Médica. Relaciona lo físico. Es la ausencia de enfermedad. Es un concepto de carácter individual y punto de vista curativo.

En España, el art. 43 de la Constitución dice que “*se recoge el derecho a la protección de la salud*” y que “*compete a los poderes públicos organizar y tutelar la salud pública*”. Se completa con la *Ley 14/86, General de Sanidad*, que recoge: “*los medios y actuaciones del sistema sanitario estarán orientados prioritariamente a la promoción de la salud y a la prevención de enfermedades*”.

1.2. Características del concepto de Salud

- Presenta una perspectiva de positividad. Asimismo, se enmarca dentro de un proceso parcialmente dinámico, no es totalmente estático. No se para a pensar que hay diferentes grados de Salud.

- Es responsabilidad de agentes públicos y privados (servicios sanitarios, agencias de Salud Pública y demás organizaciones estatutarias).
- Tiene implicaciones colectivas. Esto es, enlaza tres aspectos: políticas públicas saludables, acción comunitaria en temas de salud y promoción de la salud. Por consiguiente, su evaluación debe monitorizarse para valorar el impacto de las políticas y programas sanitarios, examinar su efectividad, determinar si las necesidades de todos los segmentos de la comunidad se han satisfecho y estimar la contribución de las instituciones participantes, en un contexto de responsabilidad compartida.
- Debe estar incluida dentro del ámbito de Policía Sanitaria, más allá de la mera protección y promoción de la Salud. Es un concepto que hay que proteger en un rango más amplio de miras.
- Presenta unos determinantes que veremos a continuación. Éstos incluyen la asistencia sanitaria, el estilo de vida, el medio ambiente, la carga genética o la respuesta individual biológica, entre otros. La Salud, como refleja la Carta de Ottawa, no es un objetivo en sí mismo, sino un recurso para la vida diaria, un determinante de la calidad de vida, y tiene un valor fundamentalmente instrumental: ser una pieza clave para conseguir bienestar y calidad de vida.
- Equipara el concepto de Salud al bienestar, lo que no siempre es cierto.
- Es un concepto ciertamente subjetivo.

1.3. Determinantes de la Salud

En 1974, el ministro de Sanidad de Canadá, Marc Lalonde, publicó un análisis pormenorizado de los determinantes que afectan a la Salud. Este *Informe Lalonde* estuvo precedido del modelo holístico de H.L. Laframboise de 1973. Según Lalonde, el nivel sanitario comunitario está determinado por la interacción de la biología humana, el medio ambiente, los estilos de vida y los servicios asistenciales sanitarios.

Este informe se complementa con la publicación de *Strategies for Population Health: Investing in the Health of Canadians*, donde se describen los factores con mayor profundidad: a) ingresos y nivel social; b) redes de apoyo a nivel psicosocial; c) educación y cultura; d)

características del empleo y condiciones de trabajo; e) medio ambiente; f) biología y carga genética; g) prácticas individuales sanitarias; h) servicios sanitarios colectivos; y, por último, i) género sexual.

1.4. La calidad de vida

El modelo de Rootman define la calidad de vida como el grado por el que una persona disfruta de las importantes posibilidades de su vida. La satisfacción se considera en tres amplias áreas: Ser, Pertenecer y Llegar a ser.

a) Ser

- Aspecto físico. Comprende la Salud física, la nutrición, los cuidados e higiene personales, la apariencia física, etc.
- Aspecto psicológico. Incluye la Salud mental, la autoestima, etc.
- Aspecto religioso-espiritual. Punto de vista de principios y valores personales.

b) Pertenecer

- Aspecto físico. Nexos entre el individuo y su ambiente físico.
- Aspecto social. Lazos entre el individuo y el ambiente social y familiar.
- Aspecto comunitario. En relación con el acceso a los recursos de la comunidad, en clara unión al aspecto social.

c) Llegar a ser

- Aspecto práctico. Implica las actividades domésticas y voluntarias dirigidas hacia la Salud y la Educación.
- Aspecto lúdico. Engloba aquellas actividades de ocio.
- Aspecto de enriquecimiento. Sugiere las acciones que promueven el incremento de los conocimientos y la adaptación al medio ambiente.

2. **Importancia de la Salud Pública**

No se debe obviar el concepto de “aldea global”, existente en el mundo actual gracias al desarrollo de las comunicaciones. La estrecha colaboración entre los científicos de todas las ramas de conocimiento nos exhorta a tener una idéntica visión. El enfoque hacia “Una Sola Salud” permitiría abordar la Sanidad Animal y la Salud Pública a escala mundial, como anteriormente expusiera Charles Mérieux: “*Sans fron-*

tières entre les deux Médecines". Más recientemente, el Profesor Rodríguez Ferri así lo reflejó en la lección inaugural del curso académico 2016-2017 de la Universidad de León, cuyo título fue "Vacunas y vacunaciones. Un arte de prevenir enfermedades y más..., que salva vidas".

La Salud Pública pretende "conseguir en la colectividad prevenir la enfermedad, prolongar la vida, proteger y promover la salud y el bienestar, a través de esfuerzos organizados de la comunidad, por la aplicación práctica de disposiciones legislativas". Según la OMS, es la "Ciencia y arte de impedir la enfermedad, prolongar la vida y fomentar la Salud y eficiencia mediante el esfuerzo organizado de la comunidad (...)".

Debe ser una responsabilidad inexorable de todos los gobiernos, cuyas acciones tendrían que ir encaminadas hacia la protección y la promoción de la Salud, la prevención de las enfermedades, el restablecimiento del nivel sanitario y la educación social en materia de Salud.



IV. LA SANIDAD Y SU ORGANIZACIÓN

El germen de la colaboración entre las diferentes ramas sanitarias a nivel internacional surgió alrededor de la era de Louis Pasteur. En la "Reunión Sanitaria Internacional" de 1851, las naciones se alinearon en dos bloques claramente definidos, aquéllos partidarios de las medi-

das de control en relación a las patologías infectocontagiosas, y los que no querían poner trabas al libre comercio y paso de individuos y mercancías. Al otro lado del océano Atlántico se establecieron, por orden cronológico, la Oficina Sanitaria Panamericana, la Oficina Internacional de Higiene Pública y la Organización de Higiene de la Sociedad de Naciones.

1. La Sociedad de Naciones

Se constituyó tras la Conferencia de París de 1919, tras la I Guerra Mundial. En un principio, en su nómina constaba una cincuentena de países soberanos, con la finalidad de preservar la integridad de los mismos y garantizar una paz duradera frente las ideas expansionistas y de rearme en boga. Aunque Alemania y la URSS accedieron en 1926 y 1934, respectivamente, EEUU no lo hizo, con lo que la influencia de este organismo fue escasa.

Esta institución se hizo cargo de la administración de diversos territorios coloniales, del corredor de Danzig o de la región del Sarre, aunque el periodo de entreguerras no fue propicio para su continuidad. Las potencias del futuro Eje abandonaron tal sociedad en los años treinta, y la URSS fue expulsada de la misma. Pese a estos hechos, el germen de la colaboración entre naciones estaba ya establecido para la posteridad.

1.1. Tras la II Guerra Mundial

La Oficina Internacional de Higiene Pública fue reemplazada temporalmente por la sección sanitaria de la Administración de las Naciones Unidas para los Socorros y la Rehabilitación. En 1945, China y Brasil solicitaron la celebración de una Conferencia Internacional de Salud. En 1946, tras la conferencia de Nueva York, se decidió fundar una institución para coordinar la labor sanitaria de las diferentes naciones, la Organización Mundial de la Salud (OMS). Dos años más tarde, el 7 de abril de 1948, se aprobó la constitución de la OMS. Durante la “IV Asamblea de la OMS” (1951), España ingresó definitivamente. La sede central se estableció en Ginebra.

2. La Constitución de la OMS

La OMS, en su carta fundamental, establecía que la Salud se entiende como *“el estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades”*.

La carta constitutiva se esquematiza en varios capítulos, que son:

- Capítulo 1. Objetivos del Organismo.
- Capítulo 2. Funciones de la Institución.
- Capítulo 3. Componentes.
- Capítulos 4-7. Órganos fundacionales: Asamblea Mundial, Consejo Ejecutivo, Secretaría Permanente y Dirección General.
- Capítulo 8. Comités.
- Capítulo 9. Conferencias.
- Capítulo 10. Edificios de la Organización.
- Capítulo 11. Instituciones regionales.
- Capítulo 12. Presupuesto.
- Capítulo 13. Resultados de votaciones.
- Capítulo 14. Resumen de informes por parte de los estados miembros.
- Capítulo 15. Ámbito jurídico.
- Capítulo 16. Relación con otros organismos e instituciones.
- Capítulo 17-19. Aspectos administrativos.

En relación a los dos primeros capítulos, las atribuciones de la OMS pretenden llevar la entera Salud a todos los rincones del globo. Para ello tendrá que:

- Actuar como autoridad y coordinar asuntos sanitarios.
- Establecer un marco colaborativo con la ONU y otras asociaciones.
- Asistir a todas las naciones que le soliciten ayuda de carácter sanitario.
- Proveer de recursos a territorios “de nadie” o administrados por otra nación, salvaguardando la hipotética soberanía para evitar cualquier tipo de conflicto.
- Mantener unos servicios técnicos para el desarrollo de sus funciones.
- Proveer de programas para la erradicación de enfermedades contagiosas. Asimismo, promocionar la prevención de accidentes de todo tipo.
- Educar para la mejor de las condiciones alimentarias, el saneamiento y la higiene en el trabajo y en el hogar.
- Establecer una plena colaboración entre asociaciones profesionales y científicas para intentar mejorar las condiciones sanitarias poblacionales.
- Promover la formación, mantenimiento y actualización de acuerdos internacionales en materia de Salud Pública, en especial la relacionada con los ámbitos materno y pediátrico.

- Actuar frente a la salud mental y promocionar la excelencia en el campo de la enseñanza sanitaria.
- Aconsejar e informar con veracidad en asuntos sanitarios.
- Controlar todos los aspectos relacionados con las enfermedades, en especial las zoonosis, y desarrollar una reglamentación homogénea en cuanto a diagnósticos diferenciales, sintomatología, profilaxis, etc. Idénticamente para productos nutricionales, veterinarios o farmacéuticos.

La Declaración del Milenio de la ONU marcó el cambio hacia un nuevo modo de desarrollar y cumplir los fines primitivos propuestos. Los ocho Objetivos de Desarrollo del Milenio se basan en acuerdos previos de los países componentes de la ONU y suponen un claro compromiso en pro de la reducción del rango de pobreza y hambre, así como implican la intencionalidad de hacerse cargo de la sanidad, la equidad entre sexos, la enseñanza, el acceso al agua potable o las cuestiones medioambientales. Los Objetivos de Desarrollo del Milenio están formulados como un pacto en el que se reconoce la contribución que pueden hacer los países desarrollados a través del comercio, la asistencia para el desarrollo, el alivio de la carga de la deuda, el acceso a los medicamentos esenciales y la transferencia de tecnología.

Los Objetivos de Desarrollo del Milenio son: a) erradicar la pobreza y el hambre; b) lograr la enseñanza universal; c) promover la igualdad entre sexos y la autonomía femenina; d) reducir la mortalidad infantil; e) mejorar la salud materna; f) combatir el SIDA, el paludismo y otras enfermedades; g) garantizar la sostenibilidad del medio ambiente; y, h) fomentar una asociación mundial para el desarrollo.

2.1. Estructura organizativa de la OMS

La OMS engloba más de 194 naciones donde existen 147 oficinas nacionales, 6 oficinas regionales (Washington, Copenhague, Brazzaville, Alejandría, Manila y Nueva Delhi) y la sede central (Ginebra). La OMS focaliza sus esfuerzos sobre el control y erradicación de enfermedades infectocontagiosas y otras, esporádicas o no, de tipo crónico. Asimismo, la infraestructura sanitaria de los países miembros debe pasar bajo la lupa de este organismo.

a) Asamblea Mundial

Sirve para la toma de decisiones, reuniéndose anualmente en Ginebra y asistiendo las delegaciones de los países miembros; sus representantes no deben exceder a tres expertos en materia sanitaria. Este

órgano será el encargado de nombrar al Director General, así como analizar las políticas gubernativas de la institución y analizar y aprobar la contabilidad. Por otra parte, el Consejo Ejecutivo está sujeto a su ojo crítico, al que debe dar cuenta de sus actuaciones.

b) Consejo Ejecutivo

En él están integrados todos los países, pero de otra manera. Se eligen, de modo equitativo según la distribución geográfica, 34 expertos a propuesta de las naciones de la OMS, actualizados o reelegidos cada tres años. Se reúnen bianualmente, en especial tras la reunión de la Asamblea Mundial. Sus actuaciones se enmarcan en la ejecución de las decisiones fijadas en la Asamblea Mundial y en su asesoramiento.

c) Secretaría Permanente

La Secretaría Permanente no es un órgano unipersonal, sino que está integrado por múltiples especialistas sanitarios que trabajan en la sede central, en las regionales y en el resto de sucursales de la totalidad de los países miembros.

d) Dirección General

El Consejo Ejecutivo propone una persona para este cargo y la Asamblea Mundial lo ratifica. Su duración es quinquenal. Asimismo, existe también el cargo de Director General Adjunto y varias Subdirecciones Generales, como las encargadas de las enfermedades no transmisibles y la salud mental, de la salud familiar y comunitaria, de los sistemas y servicios de salud, de la seguridad sanitaria y el medio ambiente, de la administración general, de la información y pruebas científicas, de la acción durante crisis y del SIDA, tuberculosis, malaria y otras enfermedades tropicales.

Aparte de las Subdirecciones, hay varios comités y tribunales formados por expertos, quienes realizan informes técnicos que se publican a través de la página web así como en versión papel. Al igual, en cada país miembro pueden existir unos centros que colaboran según la problemática relacionada geográficamente, también denominados “de referencia”; en España tenemos, por ejemplo, el Instituto de Salud “Carlos III”, la Organización Nacional de Trasplantes, etc.

El desarrollo organizativo de la OMS exige que cada país miembro tenga voto, siempre y cuando las obligaciones financieras estén al

día, en caso contrario este voto le sería denegado temporalmente. Las naciones que engloban la ONU acceden a la OMS al aceptar su Constitución; el resto de países ingresa tras ser admitido en votación en la Asamblea Mundial.

2.2. La agenda de la OMS

La OMS actúa frente a los nuevos retos mundiales con una hoja de ruta. Ésta aborda objetivos de salud, estratégicos y demás enfoques operacionales.

a) Promoción al desarrollo

La pobreza sigue siendo una materia pendiente a resolver y tiene una relación intrínseca con la salud. La OMS, al promover el desarrollo de las naciones hace que se intente llegar a un término justo de igualdad en el marco sanitario. De ahí que sea prioritario el enfoque hacia países subdesarrollados, como también se pretende con los Objetivos del Milenio antes mencionados.

b) Implementar la seguridad sanitaria

Los brotes debidos a las enfermedades emergentes y reemergentes no son escasos; de hecho, el deterioro del medio ambiente y la industrialización feroz han ocasionado un aumento de su incidencia.

c) Fortalecer los sistemas de salud

Para las naciones donde los servicios de salud no llegan con idoneidad, se establece un sistema de acceso mediante profesionales que allí se desplazan para la asistencia, al igual que el resto del material necesario.

d) Aprovechar las investigaciones, la información y los datos probatorios

La OMS genera información sanitaria fidedigna para fijar normas y vigilar la evolución de la situación sanitaria mundial. Es una de las prioridades y para ello existen los comités de expertos.

e) Potenciar las alianzas

La OMS colabora con numerosas asociaciones internacionales, tanto privadas como públicas, con el objetivo de cumplir y aplicar los puntos aprobados en la Asamblea Mundial.

f) Mejorar el desempeño

La gestión en el desarrollo de las actuaciones de la OMS debe llevarse a cabo con esmero. Para ello, el personal contratado debe tener un entorno con motivación y su trabajo, al nivel que fuere, debe estar enfocado hacia la consecución concreta de los objetivos primordiales de la institución.

3. El fenómeno de “emergencia” en las enfermedades y la OMS

El término “emergente” se aplica, en general, a la aparición de una enfermedad nueva que surge con gravedad y se difunde rápidamente. Históricamente las enfermedades emergentes se asocian a plagas, epidemias o pandemias cuyo recuerdo se relaciona inevitablemente con la muerte, como sucedió en el caso de la peste negra en la Edad Media; en los animales existen ejemplos similares como la peste bovina, la fiebre aftosa o la encefalopatía espongiforme bovina.

La definición adoptada por las instituciones norteamericanas relacionadas con la Salud se refiere como “emergentes” a las enfermedades cuya incidencia se ha incrementado en las últimas décadas o existe la amenaza de su aumento en un futuro próximo. También, las enfermedades de reciente aparición o las que han aparecido de forma brusca y repentina o inesperada, o las que aumentan rápidamente su incidencia o aparecen en zonas nuevas. Con un sentido práctico, la OMS considera emergentes también las que aparecen en hospedadores nuevos, las que incrementan su gravedad o las que manifiestan nuevos tipos de transmisión (en especial si se implican alimentos), cuando se reconoce por primera vez el carácter infeccioso o si se describen dificultades añadidas en su lucha (aparición de resistencias frente a los antibióticos).

La emergencia de enfermedades infecciosas se ha descrito como el resultado de la acción de diversos factores relacionados que actúan en diferentes niveles de organización. Parece claro que las interrelaciones humanas y animales con los microorganismos han permitido la aparición de enfermedades emergentes. En la historia de la humanidad, determinados hitos han repercutido directamente en esta aparición y en su difusión. Las enfermedades infecciosas emergentes, que incluyen enfermedades humanas, de animales y zoonosis, podrían considerarse como representativas de una cuarta oleada de brotes de enfermedades transmisibles. La gripe y el SIDA tal vez sean las representaciones más significativas en la actualidad, aunque no las únicas. Este apartado se verá con mayor profundidad más adelante.

Las enfermedades reemergentes se refieren a desórdenes que en el pasado constituyeron problemas de sanidad principales, bien de forma global o en un determinado territorio, pero que después redujeron su incidencia (y consecuentemente, su preocupación por ellas), hasta casi la eliminación. Por distintas razones, estas enfermedades vuelven a la actualidad por aumentar su presencia, muchas veces asociada a otros problemas que facilitan su aparición y difusión. Es el caso, entre otros, de la brucelosis o la tuberculosis animal. El fenómeno de la aparición de nuevos agentes zoonóticos o el resurgimiento de los ya conocidos no resulta explicable con modelos simples. La mayoría de los autores coincide en señalar que se trata más bien de una interacción de factores.

- Demográficas
 - Inmigración rural-urbana
 - Conflictos bélicos
- Tecnológicas e industriales
 - Producción alimentaria
 - Preparación de bioderivados
 - Desarrollo agrícola
- Climáticos
 - Condiciones de temperatura y humedad
- Desigualdades sociales
 - Pobreza
- Comercio y Viajes internacionales
- Infraestructura y Medidas de Salud Pública

Factores que afectan al fenómeno de Emergencia.

V. EDUCAR EN MATERIA SANITARIA

Una de las definiciones más concretas y correctas a propósito de la Educación para la Salud (EpS) es la de Green (1992), según la cual,

es “cualquier combinación de experiencias de aprendizaje diseñadas para predisponer, capacitar y reforzar adopciones voluntarias de comportamientos individuales o colectivos que conducen a la salud”. Para Rochon (1991), la EpS conlleva “facilitar la adaptación voluntaria de los comportamientos de los responsables, de los técnicos y de la población a través de las experiencias de aprendizaje complementarias que mejoren la salud del individuo o de la colectividad”. Se sitúa, por tanto, en el marco de la Promoción de la Salud, que veremos más adelante.

La OMS declaró que la EpS representa la acción ejercida sobre los individuos para llevar a éstos a modificar sus comportamientos. De hecho, su finalidad es que las personas puedan adquirir hábitos saludables a la par que utilizar racionalmente los servicios sanitarios de los que disponen.

1. Características de la Educación para la Salud (EpS)

La EpS comprende las siguientes características:

- Es un proceso paralelo a cualquier otra intervención sanitaria y/o educativa.
- Es un conjunto de aprendizajes que contemplan tres aspectos diferentes: información, desarrollo de actitudes positivas y promoción de hábitos y comportamientos saludables.
- Ha de promover la responsabilidad individual y colectiva para la toma de decisiones a través del análisis de las alternativas y sus consecuencias.
- Debe aumentar la capacidad de interrelación.

El objetivo de la EpS no es sólo conseguir un cambio cuantitativo de conocimientos sino en un cambio cualitativo en las actitudes que lleve a un cambio real de las conductas. No se trata de disponer de muchos conocimientos, sino de disponer de capacidades y habilidades que permitan comportarse de manera diferente.

La EpS comprende las oportunidades de aprendizaje creadas conscientemente destinadas a mejorar el conocimiento de la población y el desarrollo de habilidades personales que conduzcan a la mejora de la salud. Es un proceso educativo que tiene como finalidad responsabilizar a los ciudadanos en la defensa de la salud propia y colectiva.

1.1. Actuación y finalidad de la EpS

Para que la EpS sea fructífera y consiga modificar los malos hábitos, muchas veces enraizados y potenciados por un incorrecto medio ambiente, los agentes (personal sanitario, educadores, familia, etc.) han de seguir una metodología que podría ser directa o indirecta:

- a) **Directa o bidireccional.** Mediante la interrelación comunicativa entre el agente de la EpS y el paciente. Existen varias modalidades, como la entrevista personalizada, la clase magistral, la charla-coloquio o la dinámica grupal.
- b) **Indirecta o unidireccional.** Posee la ventaja de tener una audiencia mayor e ir dirigida a la colectividad. Es vital que haya una atención por parte del grupo para que sea útil, lo que implica capacidad de captación exigible al orador.

Tanto en una metodología como en la otra, el mensaje debe ser claro y conciso, intentando evitar la subjetividad en su interpretación. Asimismo, la teoría no puede explicarse -ni se entiende- de igual forma si el paciente o grupo de pacientes están sanos o enfermos. En este último caso existe una receptividad mayor. En cambio, los primeros se suelen centrar en hábitos preventivos.

Los ámbitos principales de actuación son la escuela, el medio laboral y la comunidad. En el colegio, debería existir una clara sintonía entre los padres y los educadores; en el trabajo, el personal sanitario juega un papel importante en conjunción con los técnicos en prevención de riesgos laborales; por último, la comunidad exige programas de atención primaria y secundaria. Además, habría que incluir las actuaciones enmarcadas en Salud Ambiental e Inspección e Higiene Alimentarias.

A continuación se reflejan dos tablas extraídas de Riquelme (2012) donde se desglosan las técnicas educativas utilizadas para individuos o grupos:

Proceso de aprendizaje	Técnicas educativas individuales
Encuentro y contrato	Técnicas de acogida y negociación
Expresar sus preconcepciones, modelos previos, experiencias.	Técnicas de expresión
Reorganizar informaciones	Técnicas de información
Analizar y Reflexionar	Técnicas de análisis
Desarrollo y entrenamiento de habilidades	Técnicas de desarrollo de habilidades
Otros objetivos	Otras técnicas del aula y fuera del aula

Proceso de aprendizaje	Técnicas educativas grupales
Expresar sus preconcepciones o modelos previos, su experiencia	Técnicas de investigación en el aula
Reorganizar informaciones	Técnicas expositivas
Analizar y Reflexionar	Técnicas de análisis
Desarrollo o entrenamiento de habilidades	Técnicas para el desarrollo de habilidades
Otros objetivos	Otras técnicas en el aula y fuera del aula

Aunque el objetivo primordial de la EpS es modificar los hábitos incorrectos de la población hacia un enfoque favorable, hay otros relevantes, como:

- Conseguir que la salud sea un bien colectivo.
- Fomentar un medio ambiente favorable a los cambios ideados.
- Capacitar a los agentes de la EpS y asistirles en la toma de decisiones.
- Mejorar las técnicas de motivación y continuar investigando hasta conseguir la eficacia y la eficiencia en los resultados.

2. El marco de la Promoción de la Salud (PS)

En 1986, bajo los auspicios de la OMS, se celebró en Ottawa la 1ª Conferencia sobre Promoción de la Salud (PS) a nivel internacional. En la Declaración de Ottawa se define la PS como el proceso que permite que la población pase a controlar los factores que determinan su Salud con el objetivo de incrementarla. Este Manifiesto determinó una serie de estrategias para alcanzar los objetivos sanitarios para la totalidad de la población en el año 2000, agrupadas en un documento histórico conocido como la “Carta de Ottawa”, y que ha constituido la piedra angular de todas las estrategias de PS enfocadas a comunidades.

La “Carta de Ottawa” señaló una serie de estrategias que permiten el avance de este proceso de capacitar a las personas y las comunidades para asumir el control sobre los factores que determinan y producen su salud, que son:

- Construir políticas públicas saludables.
- Crear ambientes favorables.
- Reforzar la acción comunitaria.
- Desarrollar habilidades personales.
- Reorientar los servicios sanitarios.

La PS no es sinónimo de la EpS; va más allá, puesto que concibe la prevención y la salud de la población mediante sus metas, valores,

principios y estrategias peculiares. Los principios de la PS son aplicables en todos los terrenos sanitarios, incluyendo la prevención primaria y secundaria, y también en el tratamiento, rehabilitación y/o cuidados paliativos de enfermedades crónicas.

La PS ofrece una perspectiva que considera y engloba los conceptos de paz, refugio, educación, alimentación, ingresos, ecosistema estable, recursos sostenibles, justicia social y equidad. Recientemente, la Canadian Public Health Association ha reconocido, además, el desarrollo infantil en salud, los ingresos adecuados, las diferencias reducidas entre pobres y ricos, la ausencia de discriminación, los estilos de vida saludables, las oportunidades para un trabajo con sentido y cierta capacidad de control sobre la toma de decisiones, las relaciones sociales que respetan la diversidad, la ausencia de violencia o amenaza de violencia, la ausencia de exposición a enfermedades transmisibles, la protección de los peligros ambientales, y la protección del ambiente de las intervenciones humanas.

La EpS es, por tanto, un instrumento de la PS y función de los profesionales sanitarios, sociales y de la educación. Asimismo, la EpS es una parte del proceso asistencial, incluyendo la prevención, el tratamiento y la rehabilitación.

La PS constituye una parte englobada en la atención integral, definida por:

- Asistencia (primaria y especializada).
- Prevención (primaria, secundaria y terciaria).
- Adaptación social a un problema crónico (rehabilitación, cuidados,...).
- Implicación de los individuos en el desarrollo y disfrute de su salud.

En conclusión, *“la EpS es un instrumento transversal que afecta a cada uno de los niveles descritos de la atención integral. Es un instrumento para la adaptación social, la asistencia, la prevención y la promoción”*. Por otra parte, *“la PS consiste en actuar en diversos escenarios de la sociedad: las leyes, el medio ambiente, el trabajo... de forma que se facilite que los individuos y las comunidades adquieran un mayor control sobre los determinantes de su salud”*.

2.1. La tendencia de la EpS

Se pueden distinguir tres etapas en la evolución de la EpS:

- a) **Etapa descriptiva** → Basada en la información del profesional sanitario al paciente. Aquí la enfermedad se percibe como independiente de los comportamientos y condicionamientos sociales. Sigue relativamente vigente.
- b) **Etapa centrada en el comportamiento** → Con un componente individualista, se basa en la modificación de hábitos no saludables.
- c) **Etapa pragmática** → Ideal. Presenta un enfoque multisectorial mediante la comunicación persuasiva y la valoración de la influencia del medio ambiente.

La EpS no supone una simple comunicación entre partes (profesional sanitario-paciente), sino que debería implicar modificaciones en las actitudes y hábitos del segundo, englobando los factores ambientales en los que éste se enmarca.

La resultante sería: *Actitud persuasiva (descripción + cambios comportamentales) + medio ambiente*. Para conseguir las modificaciones en los hábitos, es necesaria la motivación. Entre los factores de motivación fundamentales, se encuentra la percepción de la necesidad de un beneficio. Aunque en principio podría parecer que la propia salud es el elemento motivador más importante, esto sólo se cumple en situaciones de enfermedad o con personas mayores. Además, se ha comprobado que los mensajes sobre EpS son más aceptados cuando incorporan requerimientos básicos, como la propia seguridad, la nutrición, etc. Para conseguir el paso de la actitud al comportamiento es necesario proporcionar instrucciones sobre cómo cambiar las conductas, se exige la existencia de servicios para ayudar a tales modificaciones y un medio ambiente favorable evitando la negatividad.

2.2. El desarrollo de la PS

Entre los criterios que contribuyen a determinar acciones relevantes en PS hemos de considerar la magnitud del problema, su trascendencia social, los costes asociados, la severidad en su implicación, la evolución a lo largo del tiempo, su distribución global y las debilidades asociadas a la efectividad en la intervención, entre otros.

Por tanto, tras evaluar varios puntos prioritarios, habría que abordar siempre el concepto de PS, según Ríos Martín (2012), desde las perspectivas de:

- Globalidad. Abordajes integrales y multidisciplinarios para el desarrollo de la Salud, coordinando las políticas que tengan un impacto sobre ella.
- Ciclo vital. Reconocer una aproximación que conecte las intervenciones en los diversos grupos de edad de la población.
- Ambiente favorable. Conseguir que el entorno en el que las personas viven sea positivo respecto a la Salud.
- Eficacia y eficiencia. Una elección de mejor inversión en ganancia de Salud.
- Equidad. Asegurar el pleno acceso de las personas incapacitadas y los grupos más vulnerables.
- Participación comunitaria. Convertir a las personas en el centro de la acción y de los procesos de toma de decisiones.
- Comunicación, educación e información. Para conocer más sobre la Salud y cómo mejorarla, básico para alcanzar una participación efectiva.

Modelo de Abordaje de Promoción de la Salud

ENFOQUES TRANSVERSALES	ESTRATEGIAS	POBLACION OBJETIVO			ESCENARIOS (entornos saludables)	EJES TEMATICOS (comportamientos saludables)	
EQUIDAD Y DERECHOS EN SALUD	ABOGACIA Y POLITICAS PUBLICAS	FAMILIA	CICLO DE VIDA			VIVIENDA	ALIMENTACION Y NUTRICION
			NIÑO	ADOLESCENTE	ADULTO		HIGIENE/ AMBIENTE
							ACTIVIDAD FISICA
EQUIDAD DE GENERO	COMUNICACION Y EDUCACION PARA LA SALUD	COMUNIDAD	NIÑO	ADOLESCENTE	ADULTO	INSTITUCIONES EDUCATIVAS	
						MUNICIPIOS	
INTER CULTURALIDAD	PARTICIPACION COMUNITARIA Y EMPODERAMIENTO SOCIAL ALIANZAS INTERSECTORIALES					CENTROS LABORALES	
						PROMOCION DE LA SALUD MENTAL, BUEN TRATO Y CULTURA DE PAZ	

VI. ASPECTOS GENÉTICOS EN LA SALUD

Cada ser humano posee unas 40 000 parejas de genes, con la excepción de los que se encuentran en los cromosomas X e Y en los machos. La integridad genética de los seres vivos puede verse influida por la exposición a productos químicos, agentes genotóxicos, tratamientos

médicos, polimorfismos genéticos o el propio cambio climático, entre otros factores. Por todo ello es necesario evaluar de un modo fiable sus acciones específicas y desarrollar técnicas que detecten sus efectos en las etapas iniciales para evitar daños irreversibles.

Las alteraciones que las diferentes formas o alelos de los genes se clasifican en cuatro grupos:

- Trastornos cromosómicos, a nivel de los cromosomas completos o amplias partes de ellos, que se alteran, pierden, duplican, etc.
- Trastornos monogénicos o mendelianos, sólo se altera un único gen.
- Trastornos multifactoriales, por diversas causas genéticas y ambientales.
- Trastornos mitocondriales, por alteraciones en el cromosoma mitocondrial. Al representar la patología de carácter genético sobre una línea, en un extremo estarían las enfermedades determinadas por los genes; en el otro, las afectadas por el ambiente; finalmente, en el medio localizaríamos varias alteraciones congénitas y otras comunes como la diabetes, la hipertensión, etc., donde los factores genéticos y ambientales influyen de manera variable.

1. Las anomalías cromosómicas

Una anomalía cromosómica se define como cualquier alteración en la dotación de cromosomas y/o en la morfología de los mismos. Cuando existen uno o más juegos de cromosomas completos se habla de euploidía (triploidía, tetraploidía, y en general poliploidía). En caso de existir un defecto de cromosomas, se habla de monosomía. Si la modificación es en cromosomas incompletos, la denominación es aneuploidía.

Las alteraciones estructurales se refieren a cambios en la forma y/o tamaño de un cromosoma. Cuando el material genético se conserva en el cromosoma modificado, la alteración es equilibrada, mientras que si se gana o pierde material genético, es desequilibrada. Son consecuencia de roturas y uniones anómalas bajo la influencia de agentes externos que la célula no puede reparar. Las alteraciones estructurales básicas son las roturas que ocasionan bien la formación de una deleción o de un fragmento sin centrómero.

Casi la mitad de las alteraciones cromosómicas que se encuentran en el recién nacido son la presencia de un cromosoma extra (aneuploidía), ya que las monosomías totales son incompatibles con la vida.

Las trisomías constituyen la anomalía cromosómica más frecuente y, dentro de éstas, las más conocidas son la trisomía 21 (síndrome de Down), la trisomía 18 (síndrome de Edwards) y la trisomía 13 (síndrome de Patau). Sólo los niños con síndrome de Down sobreviven hasta la edad adulta, mientras que los que tienen trisomías 18 y 13 mueren, por lo general, antes del primer año. El tipo de mutación implicado en el síndrome de Edwards es una aneuploidía que afecta a un par cromosómico. Son más graves cuando afectan a un autosoma que a un cromosoma sexual, y más severas las pérdidas de cromosomas (monosomías) que las ganancias (trisomía). La ausencia completa de un par es incompatible con la vida.

Las anomalías de los cromosomas sexuales tienen una menor repercusión fenotípica que las de los restantes autosomas y suelen tener un componente de esterilidad. Las alteraciones más frecuentes de los cromosomas sexuales son el síndrome de Turner (45, X), el síndrome de Klinefelter (47, XXY), el síndrome de la triple X (47, XXX) y el síndrome de la doble Y (47, XYY). Además, los cromosomas sexuales pueden experimentar, como los autosomas, alteraciones morfológicas (translocaciones entre dos cromosomas sexuales o translocaciones entre un cromosoma sexual y un autosoma).

1.1. La enfermedad genética y su impacto

La frecuencia de aparición de patologías de carácter genético está viéndose incrementada a medida que se desarrollan los conocimientos tecnológicos en medicina. Hace menos de un siglo, las enfermedades de causa no genética (malnutrición, insalubridad, agentes infecciosos) eran responsables de la gran mayoría de las muertes pediátricas. Desde el S. XX, con el progreso de la población y la innovación técnica, la enfermedad ha venido variando sus patrones, experimentando una creciente casuística genética en los individuos.

En relación a algunos parámetros, como la mortalidad perinatal, el número de casos de causa genética ha permanecido constante. Por el contrario, en otros trastornos como las enfermedades crónicas del adulto, la contribución global de la genética ha aumentado sensiblemente, ya que el aumento de años vividos genera más ocasiones de manifestación de interacciones adversas entre los factores genéticos y el medio ambiente.

Podemos hacernos una idea del impacto de la genética como causa de la enfermedad a partir de las siguientes observaciones:

- a) Abortos espontáneos: Un 16,7% de los embarazos termina en aborto espontáneo, siendo en la mitad de los originados en la primera fase por causa de anomalías cromosómicas.
- b) Recién nacidos: Hasta el 3% de neonatos presenta anomalías congénitas. De ellas, al menos la mitad son por causa genética.
- c) Infancia: La mitad de las cegueras y sorderas infantiles -así como de las dificultades graves de aprendizaje- son causadas por trastornos genéticos.
- d) Adultos: El 1% de los tumores malignos está causado por mutaciones en un gen. Entre el 5-10% de algunos de los cánceres más comunes tiene un importante componente hereditario. Más del 50% de la población anciana padecerá una enfermedad de tipo genético.

Por tanto, se hacen indispensables los servicios de genética, con el fin de proporcionar información genética y servicios de calidad a toda la población y mejorar los procedimientos técnicos diagnósticos y terapéuticos, siempre con la meta de la asistencia en materia de Salud Pública.

2. Genética frente a Salud Pública

Los recientes conocimientos sobre la genética de la enfermedad proponen nuevas tareas a los responsables de la Salud Pública:

- Evaluar el impacto en la población de las variantes en los genes con relación a las enfermedades, como: a) medir la importancia epidemiológica de los defectos congénitos en la morbimortalidad; b) evaluar muestras representativas de la población para determinar las frecuencias génicas; y, c) desarrollar y evaluar pruebas genéticas, incluyendo la garantía de calidad.
- Desarrollar políticas de Salud, directrices mediante grupos creados para definir las políticas, talleres de trabajo, etc.
- Aplicar las pruebas genéticas para la mejora de la prevención de enfermedades y el fomento de la salud.
- Evaluar programas de intervención y proyectos de educación a profesionales. Asimismo, garantizar el acceso del consumidor a las pruebas y los servicios.

3. La genotoxicidad

Un agente genotóxico es aquel compuesto de naturaleza química o física que puede inducir, directa o indirectamente, alteraciones en el material genético de los seres vivos con el consiguiente bloqueo de la replicación así como la aparición de mutaciones que derivarían en patologías y/o cambios en las características de dichos organismos. Los errores producidos durante la replicación y división del material genético se pueden deber no solo a agentes genotóxicos, sino a roturas cromosómicas y al efecto de la radiación. En el campo de la antibioterapia y quimioterapia, la utilización de los agentes genotóxicos para la obtención de mutantes con mejores características terapéuticas está ampliamente extendida desde hace décadas.

Aunque el principal campo de estudio son los antibióticos y quimioterapéuticos, las investigaciones también se centran en la detección y valoración de compuestos potencialmente mutagénicos como los derivados de los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH's), las micotoxinas y otros productos de desecho industrial peligrosos para el medio ambiente. Los primeros consisten en tres o más anillos bencénicos fusionados compartiendo un enlace común. Se trata de productos hidrocarbonados que aparecen en la naturaleza como resultado de un proceso de combustión incompleta de materia orgánica, aunque también han sido identificados como productos de la biosíntesis endógena de plantas superiores, algas y otros organismos. Las micotoxinas, metabolitos fúngicos tóxicos, se incluyen en grupos de sustancias químicas muy diferentes (derivados cumarínicos, péptidos cíclicos, antraquinonas, pironas, esteroides, derivados escirpénicos y nonadrinas) y su regulación en cuanto a límites máximos en alimentos se rige según el R.D. 475/1988, de 13 de mayo. En cuanto a los quimioterapéuticos, es necesario obtener compuestos que superen la barrera de la membrana externa de las bacterias Gram-negativas, ya que muchos agentes que se unen al ADN no son activos frente a éstas porque no consiguen acceder al citoplasma, al contrario que en las Gram-positivas.

En la actualidad, para la medida de la genotoxicidad de sustancias biológicamente activas y/o potencialmente nocivas para el medio ambiente se utilizan cultivos de microorganismos o de células animales. El uso de ensayos basados en microorganismos, la primera opción, tiene ciertas ventajas sobre la segunda, como su sencillez, rapidez y bajo coste. Los ensayos microbianos de genotoxicidad se basan en dos principios: por un lado describir mutantes inducidos por el agente genotóxi-

co capaces de desarrollarse en medios en los que el organismo parental no lo hace, como el test de Ames o el de resistencia a la arabinosa (ambos a partir de cepas de *Salmonella* spp.); por otro, revelar la inducción de la respuesta SOS (de “Save Our Souls”), inducida en situaciones de estrés motivadas por el daño al material genético bacteriano, como las pruebas basadas en la detección de la actividad de un promotor inducible por SOS o las que miden la inducción de profagos residentes en el genoma de las bacterias.

4. Los estudios genéticos

Implican la utilización de cualquier procedimiento que permita diagnosticar enfermedades genéticas o identificar variantes genéticas. Según la *Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica*, el análisis genético es aquel “*procedimiento destinado a detectar la presencia, ausencia o variantes de uno o varios segmentos de material genético, lo cual incluye las pruebas indirectas para detectar un producto génico o un metabolito específico que sea indicativo ante todo de un cambio genético determinado*”.

Las técnicas engloban estudios sobre el material genético (ARN, ADN), análisis cromosómicos, estudios bioquímicos y otros procedimientos diagnósticos. Asimismo, los estudios genéticos, según su finalidad, pueden tener el carácter de predicción, análisis forense, etc., además de ser diagnósticos per se. Desde el punto de vista clínico, los estudios genéticos se dividen, principalmente, en:

- a) Diagnósticos: Estudios de identificación y de portadores.
- b) Predictivos: Estudios pre-sintomáticos y de susceptibilidad.

Además, algunos de los estudios genéticos moleculares más habituales abarcan la fibrosis quística, la hemocromatosis, la neurofibromatosis, la distrofia miotónica, la anemia falciforme, la hemofilia A, etc.

Los estudios genéticos deben cumplir una serie de puntos claves, como son:

- Validez analítica → El estudio debe identificar claramente un biomarcador.
- Validez clínica → Debe existir una relación entre el biomarcador y la clínica.

- Utilidad clínica → El estudio debe conducir a resultados útiles para el manejo clínico del paciente a tratar.

Además, los estudios genéticos presentan características especiales. Por una parte, salvo en los casos de mutaciones somáticas, indican datos con una validez permanente. Por otra, pueden tener implicaciones para otros miembros de la familia del paciente implicado.

Por consiguiente, el paciente debe poder elegir si desea que se realice el estudio o no, después de haber sido informado y habiendo rubricado el consentimiento. En el caso de menores de edad, la autorización corre a cargo de sus tutores. Sin embargo, solo podrán realizarse los estudios genéticos si existiera beneficio directo para el sujeto, siempre que no implicara riesgos para el mismo.

4.1. El Consejo o Asesoramiento Genético

La American Society of Human Genetics adoptó en 1975 una definición que dicta: *“El Asesoramiento Genético es un proceso de comunicación que se ocupa de los problemas humanos asociados con la presentación, o el riesgo de presentación, de un trastorno genético en una familia. Este proceso consiste en que una o más personas adecuadamente formadas, procuren ayudar al individuo o a la familia a: 1) comprender los actos médicos, como el diagnóstico, el posible curso de la enfermedad y el tratamiento disponible; 2) conocer el modo en que la herencia contribuye al trastorno y al riesgo de recurrencia en determinados parientes; 3) entender las alternativas para hacer frente al riesgo de recurrencia; 4) elegir una forma de actuación que les parezca adecuada, a su visión del riesgo, a sus objetivos familiares y a sus normas éticas y religiosas, actuando de acuerdo con esa decisión; y 5) llevar a cabo la mejor adaptación posible al trastorno del miembro de la familia afectado y/o al riesgo de recurrencia del trastorno.”*

Según Harper (1998): *“el Asesoramiento Genético es el proceso por el que pacientes o familiares de riesgo de una alteración que puede ser hereditaria, son informados acerca de las consecuencias de dicha alteración, de la probabilidad de desarrollarla o transmitirla y de los modos en que puede ser prevenida, evitada o mejorada.”*

La primera función del Consejo Genético es establecer un diagnóstico y comentar la historia natural de la alteración, así como su tratamiento. La segunda es la determinación del riesgo; para ello es necesario comprender los principios básicos de la Genética.

Las principales diferencias entre el enfoque genético y el médico tradicional las encontramos en las dos últimas funciones del asesoramiento: La exposición clara de las opciones reproductivas con el fin de facilitar la toma de decisiones asumiendo el principio de respeto a la autonomía de la familia, de sus percepciones del riesgo, de sus principios éticos y religiosos, e incluso su percepción de la enfermedad.

Debe tenerse en cuenta que el objetivo primordial del Asesoramiento Genético es ayudar a las familias en la toma de decisiones. La prevención o la reducción de la incidencia de alteraciones genéticas no es un objetivo, aunque es a menudo su consecuencia, en la medida en que suele ser la meta de las familias que acuden en busca de información.

Los problemas que con mayor frecuencia se tratan en una consulta de Consejo Genético son: a) las alteraciones monogénicas conocidas o sospechadas; b) las alteraciones multifactoriales conocidas o sospechadas; c) las cromosopatías diagnosticadas en el paciente o en miembros de su familia; d) la condición de portador conocida y consanguinidad; e) la exposición a teratógenos; y, f) los abortos de repetición o infertilidad.

Por otro lado, es responsabilidad profesional del médico el asegurarse de que se proporciona Asesoramiento Genético en los casos apropiados y que éste se adecua a los criterios de buena praxis generalmente aceptados. La responsabilidad, sin embargo, no se extiende más allá de la persona que solicita la información hacia otros miembros de la familia; por el contrario, se acepta que el paciente tiene derecho a la confidencialidad, y que éste principio no puede romperse sin su consentimiento, independientemente del riesgo para otros miembros de la familia.

El dilema surge cuando familiares con alto riesgo de una enfermedad severa no son informados del riesgo para sí o su descendencia, ni de los posibles modos de combatirlo debido a que el paciente original estuviera evitando su consentimiento. Ésta es una de las cuestiones éticas más serias planteadas y para la que no existe una solución fácil.

VII. CONSEJOS NUTRICIONALES PARA UNA VIDA SALUDABLE

La alimentación es un proceso externo, voluntario y por lo tanto educable, por el que se hace llegar al aparato digestivo un conjunto de

materiales, sólidos o líquidos, a los que llamamos alimentos. La nutrición es un conjunto de procesos mediante los cuales el organismo recibe, transforma y utiliza las sustancias químicas obtenidas en los alimentos y que constituyen los materiales necesarios para el desarrollo y mantenimiento del organismo humano. Hay múltiples formas de alimentarse y sólo una de nutrirse: Es indudable que el número de menús que pueden prepararse con los alimentos naturales es infinito, pero, cuando esos alimentos se han reducido en el aparato digestivo a unas cuantas sustancias nutritivas, la nutrición es ya unitaria y monótona. Puesto que la alimentación es voluntaria y consciente, es susceptible de ser influenciada por la educación que se imparta al sujeto. En cambio, la nutrición, al ser involuntaria e inconsciente, no es educable. La nutrición del hombre depende, esencialmente de su alimentación. El organismo utiliza lo que recibe. En ausencia de enfermedad, toda persona bien alimentada está bien nutrida.

Por tanto, aunque alimentación y nutrición se utilizan frecuentemente como sinónimos, son en realidad términos diferentes. La alimentación comprende un conjunto de actos voluntarios y conscientes que van desde la elección de los alimentos y preparación hasta su ingestión. El término nutrición hace referencia a los nutrientes que componen los alimentos y comprende los fenómenos involuntarios que suceden tras la ingesta de los alimentos como la digestión, el paso de los nutrientes a la sangre desde el tubo digestivo y su metabolismo en las células del organismo. Una alimentación correcta supone una buena nutrición, que implica un mantenimiento y/o mejora de la salud y una mejor respuesta frente a las enfermedades. En la actualidad, las investigaciones en nutrición se centran, más que en evitar las deficiencias de nutrientes y la suficiencia nutricional básica, en la identificación de componentes biológicamente activos en los alimentos con características beneficiosas.

1. Un poco de Historia

- a) Primeros alimentos: La dieta de los cazadores-recolectores era muy variada y probablemente, mucho menos vulnerable que la de los primeros agricultores, cuyas cosechas estaban sometidas a los cambios climáticos de la naturaleza. Se piensa que las primeras bebidas fermentadas procedentes de jugos de frutos silvestres precedieron a los inicios de la agricultura.
- b) Inicios de la agricultura: Las primeras evidencias arqueológicas de cultivos agrícolas procedentes del Oriente Próximo se remontan a

unos doce milenios atrás. La agricultura se desarrolló en diferentes zonas del planeta de forma casi simultánea. La domesticación de algunos animales ocurrió posteriormente, proporcionando no sólo alimentos adicionales, sino también una ayuda para las tareas agrícolas e incluso fertilizantes para las tierras cultivadas. El inicio de la agricultura ocurre en el mismo período al abandono de hábitos nómadas, incompatible con el cuidado constante de las cosechas y la adaptación a hábitos sedentarios. La vida sedentaria llevó a la creación de ciudades y a la especialización del trabajo, pero supuso el inicio de la distribución desigual de alimentos y riqueza. El maíz, la patata, la judía y el tomate tienen su origen en el centro y sur de América. El trigo, la cebada, la avena y el centeno en Oriente Próximo. El arroz, la soja y el mijo son procedentes del Lejano Oriente.

- c) “Revolución verde”: Durante la primera mitad del siglo XX se produce un gran avance de la genética. Los trabajos previos de Mendel sobre la herencia y de Darwin sobre la evolución de las especies, junto con los inicios de la genética molecular, permiten aumentar la obtención de multitud de variedades de cultivares cuyos rendimientos agrícolas eran mayores. Esto unido a la utilización de fertilizantes, plaguicidas y herbicidas, hacen que el período entre 1950 a 1984 se conozca como “Revolución verde”.

La agricultura se ha industrializado, es dependiente de maquinaria, productos agroquímicos y semillas suministradas por las grandes industrias agroquímicas.

- d) La nueva “revolución”: Cultivos genéticamente modificados. Hoy en día, se destina a usos agrícolas el 54% del agua “dulce” disponible; es el principal factor limitante para el incremento de la producción agrícola y debería hacerse un uso más racional de la misma. La aparición de las nuevas generaciones de cultivos procedentes de semillas genéticamente modificadas se considera que pueden representar una nueva “revolución génica”, que supondría un aumento en la productividad.

Los diversos tipos de fermentaciones en la industria alimentaria se pueden clasificar en fermentaciones no alcohólicas (destinadas a panadería, vegetales, ensilados), fermentaciones alcohólicas (vino, cerveza, sidra, destilados, vinagre), fermentaciones cárnicas (embutidos crudos curados, jamón serrano, pescado fermentado), fermentaciones lácticas (yogur, queso, kéfir), y otras especiales (salsa de soja, tofu).

2. El metabolismo

Con el término “metabolismo” se conoce el conjunto de procesos químicos con los cuales el organismo recupera los materiales consumidos y logra energía en forma de calor y trabajo por la degradación de compuestos químicos. Las sustancias nutritivas del metabolismo son fundamentalmente albúminas, grasas, carbohidratos, sales, agua, fermentos, hormonas y vitaminas.

El destino de todas estas sustancias en el organismo es diverso. Las sales y el agua son incorporadas por los tejidos tal y como se ingieren, otros nutrientes se utilizan para la reconstrucción de tejidos tras sufrir alteraciones bioquímicas. El organismo es un sistema metabólico en constante estado de renovación.

En nutrición, se emplea el término “necesidad” para expresar aquello que el organismo tiene que recibir del exterior para su mantenimiento. Mediante los procesos nutricionales, los individuos cubren las necesidades de:

- Energía → Para mantener el organismo y sus funciones.
- Materiales de construcción → Para formar, renovar y reparar las estructuras corporales.
- Sustancias reguladoras → Para la regulación de las reacciones químicas que tienen lugar en el organismo, que en conjunto constituyen el metabolismo.

3. Macronutrientes

Como ya se ha mencionado, el organismo requiere de multitud de sustancias nutritivas que debe obtener a partir de diferentes alimentos de la dieta. Las que se encuentran en mayor proporción y las que el cuerpo precisa en cantidades más elevadas se denominan macronutrientes e incluyen los lípidos, los hidratos de carbono y las proteínas.

Las grasas constituyen la principal reserva energética para el organismo y se encuentran en alimentos de origen animal (lácteos enteros, carnes, pescados, embutidos, etc.) y de origen vegetal (aceites, frutos secos, etc.); los hidratos de carbono proporcionan energía inmediata y se encuentran en alimentos como los tubérculos, los cereales, las legumbres, la miel, etc. Las proteínas son esenciales para constituir y

regenerar tejidos o estructuras corporales en todas las etapas de la vida y las encontramos en alimentos como las carnes, los pescados, los huevos, las legumbres y los frutos secos.

- a) **Lípidos.** Las grasas o lípidos son la principal reserva energética del organismo, cada gramo aporta 9 calorías. Son imprescindibles para la absorción de vitaminas liposolubles, retrasan el tiempo de vaciado gástrico, actúan de aislante térmico, intervienen en la formación de membranas celulares, participan en la síntesis hormonal, dan sabor y textura a los alimentos, etc.

Según el número de átomos de hidrógeno que presentan los enlaces químicos de las grasas, éstas se dividen en saturadas e insaturadas. Las grasas saturadas son sólidas a temperatura ambiente y de origen animal (exceptuando los aceites de coco y palma) y las grasas insaturadas son líquidas y proceden de aceites de frutos y de semillas.

Hay ciertos lípidos que se consideran esenciales para el organismo, como los ácidos linoleico y α -linolénico, denominados ácidos grasos esenciales. El primero es importante por su intervención en la síntesis de prostaglandinas y abunda en los aceites de semillas. El segundo forma parte de los ácidos omega-3 e interviene en la formación de estructuras celulares del sistema nervioso.

Los lípidos en la dieta no deben sobrepasar el 30% del total energético ingerido en un día, aunque se puede admitir hasta un 35%. Se recomienda hasta 10% de grasas saturadas, 10% de poliinsaturadas y 20% de monoinsaturadas.

Una disminución de las grasas supone problemas cutáneos, desequilibrio de las prostaglandinas, control deficiente de la presión sanguínea, vasoconstricción, problemas en la absorción y transporte de vitaminas, etc.

- b) **Hidratos de carbono.** Son la principal fuente inmediata de energía en nuestro organismo, por cada gramo, se obtienen unas 4 kcal. Los hidratos de carbono se queman durante el metabolismo para producir energía, liberando dióxido de carbono y agua. Son nutrientes importantes para el sistema nervioso.

Se clasifican en glúcidos simples o azúcares y glúcidos complejos o polisacáridos. Se recomienda que un 60% de la ingesta energética provenga de hidratos de carbono en forma de glúcidos complejos,

los simples deben limitarse a un 10%. Entre los alimentos que contienen glúcidos estarían las frutas, zumos y la miel (fructosa), la remolacha, caña de azúcar, frutas y verduras (sacarosa), la leche y sus derivados (lactosa), la cebada malteada (maltosa) o las legumbres, cereales y tubérculos (almidón), entre otros.

Existen varios factores que influyen en el índice glucémico de un alimento, como la presencia de grasa (retrasa el ritmo de vaciamiento gástrico y disminuye el índice glucémico), la presencia de fibra soluble (aumenta la viscosidad de los alimentos y produce un aumento menor del nivel de azúcar), las proteínas (retrasan el vaciamiento gástrico, reducen la digestión de hidratos de carbono y producen un menor aumento del nivel de azúcar en sangre), la propia sacarosa (disminuye el índice glucémico), el tamaño de las partículas asimiladas (cuanto menor sean, mayor será el índice glucémico), la relación amilasa-amilopectina (cuanto mayor sea la primera, menor será el índice) y el grado de gelatinización de las féculas (directamente proporcional al índice glucémico). Este índice, cuanto más bajo sea, ayudará a controlar el peso e incrementará la sensación de saciedad.

- c) **Proteínas.** Son combinaciones de aminoácidos, elementos que el cuerpo necesita para construir y renovar sus tejidos constantemente. Por cada gramo se obtienen también unas 4 kcal Su aporte fundamental en períodos como la infancia y la adolescencia. Entre sus funciones, destacan la plástica (constituyen el 80% del “peso” celular), la inmunitaria (actúan como anticuerpos), la biorreguladora (algunas enzimas y hormonas son de naturaleza proteica) y el control genético (las características hereditarias dependen de las proteínas del núcleo celular). En largos periodos de carencia proteínica, se observa una peor cicatrización y un menor crecimiento del cabello y las uñas.

Han sido identificados 22 aminoácidos necesarios para el crecimiento y metabolismo de los humanos. De éstos, ocho se consideran esenciales: fenilalanina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, treonina, triptófano y valina.

Las proteínas pueden clasificarse según su contenido en aminoácidos, siendo de “alta calidad” las que contienen los aminoácidos esenciales (huevos, carne, pescado, marisco, lácteos), de “calidad

media” las que son deficientes en algún aminoácido esencial (legumbres, cereales integrales, frutos secos), y de “baja calidad”, o deficientes en varios aminoácidos esenciales (frutas y verduras).

4. Micronutrientes

Existen elementos en pequeña cantidad que, aunque no aportan energía, son imprescindibles para preservar la salud.

- a) Vitaminas. Son sustancias orgánicas presentes en los alimentos que el organismo necesita en pequeñas cantidades, pero que no es capaz de sintetizar (aunque hay algunas excepciones como las vitaminas D, K, B1, B2 y ácido fólico).

La función de las vitaminas es facilitar la transformación que siguen los sustratos a través del metabolismo. Se dividen en dos grupos en función de si son hidrosolubles (C y grupo B) o liposolubles (A, D, E, K).

- b) Minerales. Son elementos químicos imprescindibles para el normal funcionamiento metabólico. El agua circula entre los distintos compartimentos corporales llevando electrolitos, que son partículas minerales en solución. Tanto los cambios internos como el equilibrio acuoso dependen de su concentración y distribución. Los minerales se pueden dividir en macrominerales (Sodio, Potasio, Calcio, Fósforo, Magnesio, Azufre) y microminerales (Cobre, Iodo, Hierro, Manganeseo, Cromo, Cobalto, Zinc, Selenio).
- c) Fitoquímicos. Se encuentran exclusivamente en los vegetales y les otorgan a éstos color, olor y sabor característico, además de protegerlos frente a microorganismos patógenos y procesos degenerativos. Los flavonoides se encuentran en frutas, verduras, semillas, cerveza, té y vino. Entre ellos estarían los isoflavonoides (leche, harina), los citroflavonoides (cebollas, naranjas, limones) antocianinas (cerveza), proantocianinas (uva, vino tinto), kaemferol (puerro, rábano), ácido elágico (uva) y catequina (tés verde y negro), entre otros. Por otro lado, los carotenoides dan color a las verduras de hoja verde (espinacas y acelgas), amarillo (algunas frutas y hortalizas), naranja o rojo (zanahoria y ciruela). Estarían el caroteno (zanahoria, calabaza, sandía, mango), el licopeno (sandía, tomate), la zeaxantina (espinaca, cítricos) y la luteína (yema de huevo, perejil, aguacate, apio).

- d) Agua. El contenido de agua de un individuo normal es de un 62%, aproximadamente, y se mantiene prácticamente constante a través de varios mecanismos de retroalimentación hormonales que funcionan junto con osmorreceptores, para establecer un equilibrio entre el ingreso y la pérdida de agua. La ingesta total media de agua por día se puede calcular sumando la cantidad bebida, el agua contenida en los alimentos sólidos y la que se obtiene de la oxidación de los nutrientes energéticos de los alimentos. Esta supone alrededor de 300 ml a partir de una dieta mixta (sabiendo que 1g de glúcidos produce 0,6 ml de agua, 1 g de proteínas 0,42 ml y 1 g de lípidos 1,07 ml).

Las pérdidas de agua se reparten entre orina, evaporación por la piel y pulmón, y heces. Las recomendaciones para los individuos que consumen una dieta mixta, viven en un clima templado, realizan una actividad física moderada y quieren mantener una hidratación adecuada son de 2,7 l/día para las mujeres y de 3,7 l/día para los hombres.

5. Las Ingestas Dietéticas de Referencia

Esta denominación es relativa a la cantidad de un nutriente que debe contener la dieta para prevenir enfermedades deficitarias y crónicas, así como conseguir una salud óptima. Se han definido cuatro tipos de valores de referencia:

- Requerimiento medio estimado → Cantidad de ingesta diaria media de un nutriente que cubre las necesidades del 50% de un grupo homogéneo de población sana de igual edad y sexo, con un estilo de vida equivalente.
- Aporte dietético recomendado → Cantidad de ingesta media diaria de un nutriente que se considera suficiente para cubrir los requerimientos nutricionales de casi todos los individuos sanos de un grupo homogéneo de población sana de igual edad y sexo, con un estilo de vida equivalente.
- Ingesta adecuada → Nivel de ingesta media diaria recomendada, basada en datos de ingesta media de nutrientes de grupos de individuos sanos, determinados mediante estudios observacionales y experimentales.
- Ingesta máxima tolerable → Nivel más alto de ingesta diaria de un nutriente que a largo plazo no entraña riesgo para la salud de la mayor parte de los individuos de un grupo poblacional.

6. Alimentación y Salud

El funcionamiento correcto del organismo exige de la ingesta de alimentos, dado que es su fuente de energía. Por eso, la alimentación forma parte de la vida cotidiana. Todos los días necesita comer, pero lo importante es saber cómo variar de alimentos para que comer sea nutritivo, no se haga aburrido y no nos cause problemas secundarios de salud. Para esto es útil saber qué tipo de componentes modificar para que nuestra alimentación cumpla con todas estas premisas. Los principios de una alimentación sana son muy simples.

La clave está en comer una amplia variedad de alimentos diferentes que se complementen entre sí. Una buena alimentación es importante para una salud adecuada. Comiendo los alimentos correctos podemos protegernos contra las enfermedades cardíacas y contra algunos tipos de cáncer. Una alimentación sana es aquella que nos proporciona un óptimo estado de salud, es equilibrada y favorece el bienestar general, tanto desde el punto de vista físico como psíquico. Para esto, debe cubrir las necesidades individuales de cada persona y reunir una serie de requisitos: debe ser suficiente de energía (calorías) y nutrientes, siempre en función de la edad, el sexo y la actividad física, la situación fisiológica, debe ser equilibrada en hidratos de carbono, grasas y proteínas, variada en todos los grupos de alimentos para asegurar los requerimientos mínimos de vitaminas, minerales y oligoelementos.

Para que una alimentación sea equilibrada se debe tomar un determinado número de raciones de cada grupo de alimentos, así habrá una suficiente cantidad de energía y de nutrientes. Se define como ración alimentaria a la cantidad de ese alimento que habitualmente se suele consumir.

Los problemas actuales de la dieta diaria se deben a una ingestión excesiva de grasas saturadas, de hidratos de carbono elaborados y demasiadas calorías, así como a una cantidad insuficiente de fibra. Existen una gran cantidad de personas obesas, y otras tantas que perjudican a su corazón, llenando sus arterias con grasas y colesterol. La solución no reside en someterse a una dieta rígida, pues nadie sería capaz de soportarla eternamente, es mucho más sencillo introducir unos pequeños cambios en las costumbres dietéticas que pueden durar toda la vida y que mejoran el balance nutricional y la salud.

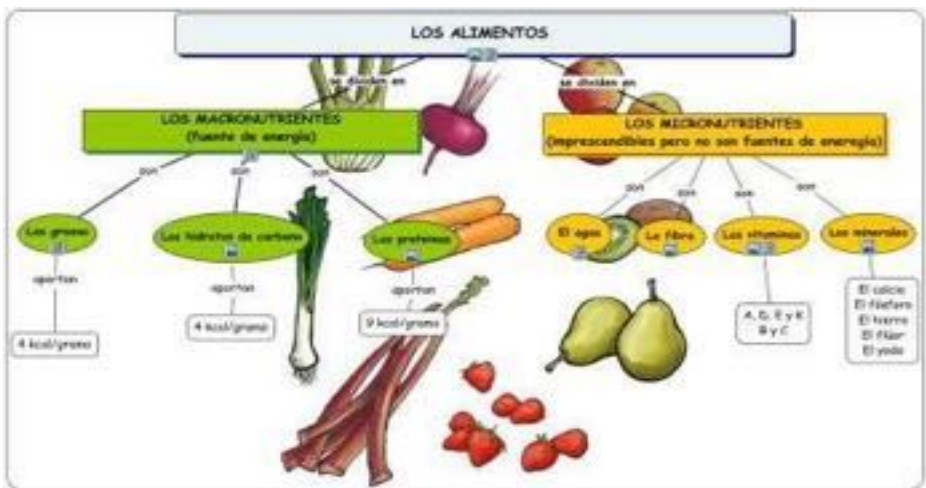
Los alimentos se presentan en muchas formas diferentes aunque siempre poseen las mismas funciones básicas: suministrar la energía necesaria a las células del cuerpo y ejercer las funciones de materia

prima para el crecimiento, la restauración y el mantenimiento de los tejidos y órganos vitales.

Las diferentes sustancias que cumplen estas funciones se denominan nutrientes. Ya que los glúcidos y los lípidos constituyen la fuente energética principal, el valor de cualquier clase de alimento depende primordialmente del contenido de estos nutrientes.

La sensación de hambre o de saciedad sirve para asegurar que se ha ingerido la cantidad de alimento adecuada para cubrir las necesidades energéticas individuales. No obstante, el cuerpo humano también dispone de otras fuentes de energía adicionales, almacenadas y acumuladas en forma de glucógeno y grasas. El glucógeno es un polisacárido de reserva que se forma a partir de moléculas de glucosa absorbidas de los carbohidratos no utilizados para la producción de energía en el momento de su ingestión. Cualquier exceso que no se puede guardar como glucógeno es almacenado en forma de grasa.

Cualquier tipo de actividad requiere una cierta energía. El cuerpo debe ser capaz de convertir los alimentos en un almacén de energía disponible en cualquier momento. Esta compleja cadena de acontecimientos se inicia con el proceso de la digestión en el estómago y el intestino, donde se liberan los nutrientes, tales como la glucosa, los ácidos grasos y los aminoácidos. A este aumento de glucosa en la sangre, a consecuencia de la ingestión de glúcidos, el cuerpo responde con una liberación de insulina por parte del páncreas. Esta hormona estimula la absorción de glucosa por parte de la célula. No obstante, una gran parte de esta glucosa no es necesaria, al menos de inmediato, de modo que la energía se acumula.



VIII. LA SALUD FRENTE A LOS RIESGOS FÍSICOS Y QUÍMICOS

Se conoce como “Riesgo” a la ponderación de la probabilidad de un efecto perjudicial para la salud y de la gravedad de tal efecto, como consecuencia de un peligro. Por consiguiente, un “Peligro” será todo agente (físico, químico o biológico) que cause un efecto perjudicial a la Salud.

La percepción del riesgo tiene un carácter relativista dependiendo de la visión de cada individuo y su posición profesional y social. Pese al hecho existir diferentes percepciones del riesgo habitualmente carentes de un fuerte componente científico, éstas deben ser consideradas para valorar y comunicar el propio riesgo.

Por otro lado, el individuo y el colectivo tienden a asumir cierta cantidad de riesgo por el supuesto éxito al final del proceso, siempre y cuando exista un grado de control por su parte; de ahí la frase “sin riesgo no hay gloria”.

La vigilancia y/o prevención se define como el conjunto de medidas a adoptar con el fin de limitar los riesgos derivados de una determinada actividad. En el art. 15 de la Ley 31/1995, de 8 de noviembre (modificada por la Ley 54/2003, de 12 de diciembre), se definen los principios generales de la acción preventiva a desarrollar:

- Evitar los riesgos.
- Evaluar los riesgos que no se puedan evitar.
- Combatir los riesgos en su origen.
- Adaptar el trabajo a la persona, en particular en lo que respecta a la concepción de los puestos de trabajo, así como a la elección de los equipos y los métodos de trabajo y de producción, con miras a atenuar el trabajo monótono y repetitivo y a reducir los efectos del mismo en la salud.
- Tener en cuenta la evolución de la técnica.
- Sustituir lo peligroso por lo que entrañe poco o ningún peligro.
- Planificar la prevención, buscando un conjunto coherente que integre en ella la técnica, la organización del trabajo, las condiciones

del trabajo, las relaciones sociales y la influencia de los factores ambientales en el trabajo.

- Adoptar medidas que antepongan la protección colectiva frente a la individual.
- Informar y educar a los trabajadores para que adopten las medidas de protección.

En este apartado se tratará la vigilancia y prevención de riesgos físicos y químicos, cuya creciente preocupación social es evidente, puesto que una exposición accidental o las malas prácticas pueden originar un incremento del propio peligro así como de su percepción. Por último, hay que decir que los avances tecnológicos están ocasionando la aparición de nuevos peligros físicos y químicos, lo que supone la emergencia de patologías recientes o desconocidas hasta el momento.

1. Consecuencias de los riesgos

En el entorno laboral pueden producirse accidentes, definidos como todas las lesiones corporales que los trabajadores sufren con ocasión o a consecuencia del trabajo que ejecutan por cuenta ajena; en este caso, se tienen en cuenta las lesiones producidas en el centro de trabajo y en el trayecto habitual entre éste y el domicilio del empleado (*in itinere*). Desde el punto de vista preventivo, un accidente de trabajo es todo suceso anormal, no querido ni deseado, que se presenta de forma brusca e inesperada, aunque normalmente evitable, que interrumpe la habitual continuidad del trabajo y puede causar lesiones a los individuos.

Por otro lado, la enfermedad profesional se entiende como la contraída a consecuencia del trabajo y que esté provocada por la acción de elementos y sustancias concretas sujetas a la reglamentación nacional y comunitaria. Esto quiere decir que, si una determinada patología no estuviera contemplada como “enfermedad profesional” a los efectos legales pertinentes, ésta sería encuadrada dentro del epígrafe de “accidente de trabajo”.

1.1. Niveles de prevención

- a) Primaria → Medidas cuyo objetivo es evitar la aparición de la patología (vacunaciones, control y eliminación de riesgos ambientales, etc.).

- b) Secundaria → Medidas encaminadas a evitar la progresión de la enfermedad ya instaurada.
- c) Terciaria → Medidas planteadas con el fin de evitar las secuelas y recidivas de una enfermedad acaecida al fallar los dos niveles anteriores.

1.2. La vigilancia de la Salud

La vigilancia de la salud puede definirse como la observación de las condiciones ambientales de los trabajadores, mediante la utilización de una serie de técnicas (recogida y análisis de datos sobre los factores de riesgo y salud, estudios epidemiológicos), realizadas de una manera sistemática con el objetivo de identificar los problemas sanitarios y las causas que los producen. Tras su identificación, se podrán planificar y valorar las intervenciones preventivas frente a tales peligros o problemas.

Ante la amenaza de la Salud por causa de un peligro se puede actuar en varios niveles: a) sobre el origen del peligro; b) en el medio de transmisión; y, c) sobre el individuo y/o colectivo.

- a) Objetivos. Pueden ser individuales o colectivos. Los primeros tienen la finalidad de dar respuesta a los individuos que presenten alguna alteración de la salud, detectando precozmente dicho problema e identificando los individuos con mayor susceptibilidad.

Los segundos están encaminados a conocer e interpretar la realidad en el ambiente de trabajo, valorando el estado de salud de todos los empleados, aportando datos para la evaluación de la exposición ambiental, evaluando la eficacia de los planes de prevención, aportando datos para el conocimiento técnico e interviniendo en los programas de educación sanitaria.

- b) Técnicas. Existen procedimientos clasificados en tres vías de actuación:
 - Control biológico → Para evaluar la salud. Las técnicas aquí englobadas se llevan a cabo de manera regular y sirven como indicadoras de la exposición y de los efectos.
 - “Screening” o cribado → Para la detección precoz de las alteraciones de la salud. Pretenden identificar una enfermedad mediante la aplicación de pruebas rápidas que deberán ser contrastadas en estudios posteriores.

- Vigilancia de la Salud → Estudio pormenorizado del estado de la salud.

1.3. El análisis de los riesgos

El análisis de riesgos es un principio de la política de Protección de la Salud que está integrado por tres componentes:

<p style="text-align: center;">EVALUACIÓN – GESTIÓN – COMUNICACIÓN DE LOS RIESGOS</p>
--

- a) Evaluación de riesgo. La evaluación de riesgos es un proceso formado por cuatro fases: 1) Identificación del peligro; 2) Caracterización del peligro; 3) Evaluación de la exposición al agente (físico, químico, biológico); 4) Caracterización del riesgo.
- b) Gestión de riesgo. La gestión de riesgos es el proceso consistente en sopesar las alternativas políticas en la toma de decisiones, en consulta con las partes interesadas, teniendo en cuenta la evaluación de riesgos y otros factores pertinentes, y, si es necesario, seleccionando las opciones apropiadas de prevención y control.
- c) Comunicación de riesgo. La comunicación de riesgos es el intercambio interactivo, a lo largo de todo el proceso de análisis del riesgo, de información y opiniones en relación con los factores de peligro y los riesgos. Afecta a los factores relacionados con el riesgo y las percepciones del riesgo, que se establece entre los responsables de la evaluación y los responsables de la gestión del riesgo, los ciudadanos, la comunidad científica y otras partes interesadas. En ese intercambio está incluida la explicación de los resultados de la evaluación del riesgo y la motivación de las decisiones relacionadas con la gestión del riesgo.

1.4. Herramientas

- Método EIAS → Evaluación de las consecuencias sobre el medio ambiente, el entorno social y la salud.
- Técnica HAZID → Identificación de peligros y controles necesarios en una determinada actividad y evaluación de la probabilidad de ocurrencia y sus consecuencias.
- Procedimiento HAZOP → Análisis sistemático de los riesgos potenciales provocados por cambios en las condiciones de trabajo.

- Herramienta QRA → Técnica para determinar el nivel de riesgo y establecer la probabilidad de ocurrencia de un suceso estimando el daño a individuos, medio ambiente, instalaciones, etc.

EIAS – Evaluación de Impacto Ambiental y Social

HAZID – Hazard Identification

HAZOP – Hazard and Operability

QRA – Quantitative Risk Analysis

1.5. Riesgos físicos

- a) Ruido. Sonido molesto que puede causar daños auditivos si mantiene una intensidad superior a 80 dB ininterrumpidamente durante una jornada de trabajo. Las alteraciones más importantes, aparte de las auditivas, implican taquicardia, alteraciones digestivas, ansiedad, etc.

El daño auditivo viene condicionado por la frecuencia, la intensidad y el tiempo de exposición. Entre las patologías producidas por el ruido están el trauma acústico agudo (intensidad elevada, corto espacio de tiempo), la hipoacusia crónica y la sordera profesional (ambas en tiempos de exposición prolongados).

- b) Vibraciones. Son oscilaciones de partículas alrededor de un punto en un medio físico. Se definen por su frecuencia, existiendo de muy baja (2 Hz), de baja y de alta frecuencia. Las primeras pueden producir mareo, náuseas o angustia; las segundas, lesiones en el oído interno; las últimas pueden llegar a provocar lumbalgia, artrosis, dolor de cabeza o trastornos del aparato de la visión.
- c) Iluminación. Un mal control de esta variable puede producir alteraciones en el órgano de la visión, tales como fatiga visual, visión defectuosa, deslumbramiento o fotofobia. Incluso otros síntomas como el dolor de cabeza, el cansancio general o la sensación de vértigo pueden inducir a pensar en una incorrecta iluminación.
- d) Radiación. Es la transmisión de energía a través del espacio en forma de partículas o de ondas electromagnéticas. Puede ser ionizante (rayos X, uranio, radio, etc.) o no ionizante (microondas, ultravioleta, infrarrojos, etc.).

En cuanto a las ionizantes, son las radiaciones electromagnéticas de alta frecuencia y las compuestas por ciertas partículas (α , β). Se diferencian por su capacidad de penetración en el organismo, dando lugar a irradiación externa (radiaciones γ , rayos X, neutrones, partículas β) y/o interna (tras la inhalación, ingestión, erosiones externas, etc.). Pueden provocar lesiones de carácter agudo, siendo especialmente importantes a nivel de las células sanguíneas, las gónadas y el aparato digestivo; asimismo, lesiones crónicas tras una elevada exposición en el tiempo y en la dosificación.

TIPO	CARACTERÍSTICAS	FUENTE
Rayos X	Electromagnética	Tubos de Rayos X
Rayos γ	Electromagnética	Cobalto-60/Cesio-137
Partículas α	Corpuscular (núcleo)	Plutonio-239/Radón-222
Partículas β	Corpuscular (periferia)	Estroncio-90/Tritio
Neutrones	Corpuscular (núcleo)	Uranio-235/Plutonio-239/Fisión

A diferencia de las anteriores, las radiaciones no ionizantes no alteran a los electrones de la corteza de los átomos ni rompen los enlaces químicos. En este subgrupo estarían la radiación ultravioleta, láser, infrarroja, microondas y otros campos electromagnéticos de baja frecuencia.

TIPO	EFECTOS
Ultravioleta	Eritema epidérmico. Alteraciones oculares
Láser	Alteraciones oculares, epidérmicas y pulmonares
Infrarrojos	Alteraciones oculares y epidérmicas. Efectos térmicos
Microondas y radiofrecuencias	Alteraciones embrionarias. Efectos sobre aparato reproductor y sistemas nervioso y cardiovascular
Baja frecuencia	Alteraciones nerviosas y cardiovasculares

1.6. Riesgos químicos

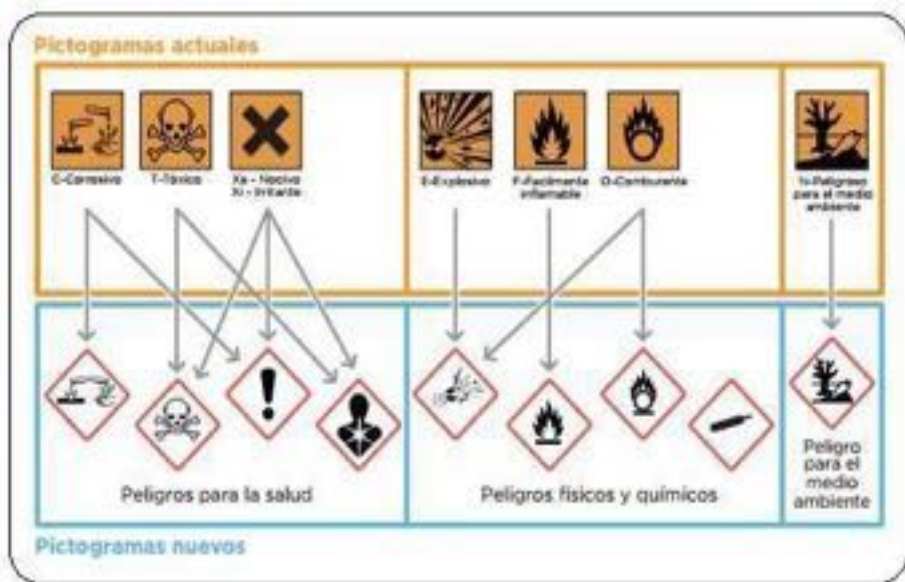
Los compuestos químicos actúan negativamente sobre el organismo por su acción tóxica, que es la capacidad de una sustancia para ocasionar daños en los individuos tras haber alcanzado una zona susceptible para su acción o diana. Dicha acción depende del tiempo de exposición al agente. En una primera etapa, el agente será liberado al medio, absorbido, distribuido, metabolizado y eliminado (LADME); en una segunda fase, el organismo mostrará los efectos nocivos del tóxico.

Las intoxicaciones pueden clasificarse según su evolución en:

- Agudas – Subagudas - Crónicas.
- Reversibles – Irreversibles.
- Acumulativas – No acumulativas.
- Exposición única – agresión repetida.

Asimismo, otra clasificación los engloba según sus efectos sobre el organismo:

- Irritantes → En piel y mucosas tras el contacto.
- Sensibilizantes → Provocan reacciones alérgicas tras su exposición.
- Corrosivos → Producen una destrucción tisular.
- Asfixiantes → Desplazan el oxígeno del aire o actúan sobre los mecanismos oxidativos biológicos.
- Mutagénicos → Provocan mutaciones cromosómicas heredables.
- Carcinogénicos → Facilitan el desarrollo de tumoraciones.
- Depresores del sistema nervioso central → Producen narcosis o anestesia sobre la capacidad de atención y comprensión del individuo.



EFEECTO	EJEMPLOS
Irritante	Ácidos, álcalis, isocianatos, metales, aldehídos, hidrocarburos
Sensibilizante	Aminas alifáticas, poliamidas, formaldehído, resinas epoxi
Corrosivo	Ácidos, álcalis, bromo, fenol
Asfixiante	Acetileno, metano, propano, cianuros, monóxido de carbono
Mutagénico	Alquilantes, inhibidores de la mitosis, antimetabolitos
Carcinogénico	Arsénico, berilio, cloruro de vinilo, amianto, benceno, níquel
Depresión del SNC	Hidrocarburos alifáticos, alcoholes, ésteres, hidrocarburos aromáticos, éteres, cetonas

IX. ¿QUÉ SON LAS “ENFERMEDADES NO TRANSMISIBLES” (ENT)?

El avance en las condiciones sanitarias a lo largo del s. XX supuso un incremento de la longevidad poblacional, especialmente en el “mundo desarrollado”. Por otro lado, este cambio conllevó una modificación en la casuística de las patologías de mayor relevancia, pasando a ser preponderantes las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, etc. En contraposición, los países en vías de desarrollo soportan una carga de enfermedad doble: enfermedades crónicas y patologías infectocontagiosas.

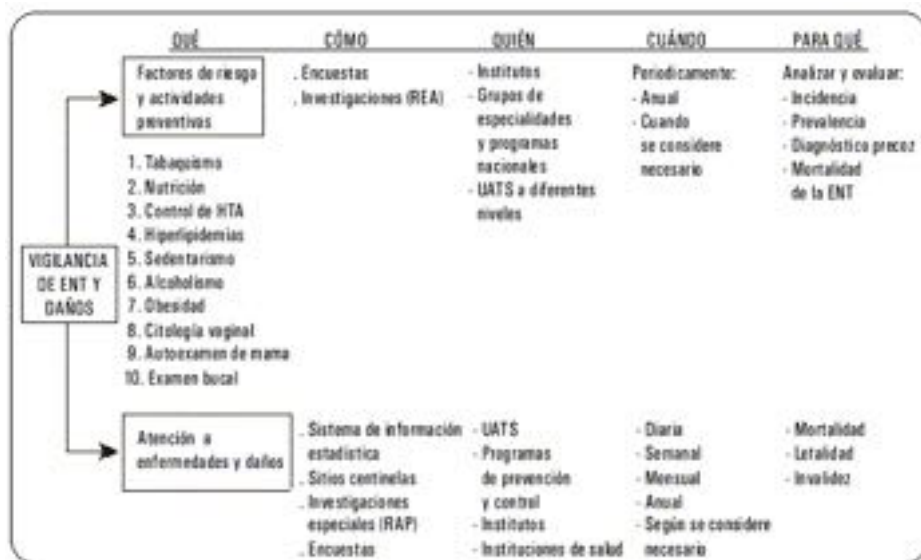
Como ya se ha mencionado, cuando se abordan las enfermedades crónicas de mayor prevalencia en el primer mundo siempre destacan las no transmisibles. Éstas son la principal causa de mortalidad y discapacidad. Se definen como “enfermedades de etiología incierta, habitualmente pluricausales, con largos períodos de incubación o latencia; largos períodos subclínicos, con prolongado curso clínico, con frecuencia episódico; sin tratamiento específico y sin resolución espontánea en el tiempo”.

Entre las ENT más importantes están las cardiovasculares, cerebrovasculares y respiratorias crónicas, las articulares, algunas hepáticas, oculares y auditivas, el cáncer, la diabetes y las patologías de carácter genético. Todas ellas implican el 60% de casos mundiales de mortalidad anual y requieren de un largo “periodo de incubación” -pues suelen tener su origen durante la juventud-. Las estadísticas sugieren la vigilancia en países en vías de desarrollo (80% de la casuística global) y, en especial, en individuos varones (53% del total afectado) de mediana edad (hasta 70 años).

1. Factores de riesgo

Bien es sabido que el sedentarismo, el tabaquismo y el consumo excesivo de grasas son factores asociados a las ENT. Según Dawber *et al.*, (1951), los factores de riesgo comenzaron a ser estudiados por Framingham en 1948 con el fin de distinguir una causa constatable para desarrollar la patología; un claro ejemplo es el desarrollo de diferentes tipos de cáncer por fumar tabaco. A principios de los ochenta se inició el proyecto “Multinational monitoring of trends and determinants in cardiovascular disease” (MONICA) en relación al estudio de las ENT de origen cardiovascular. Se dedujo que existen múltiples factores de riesgo de tipo multiplicativo. El riesgo de enfermedad asociado a un factor aumenta de manera continuada según el valor del propio factor.

Como ya se ha mencionado, el origen de las ENT podría estar en los primeros años de vida, o incluso antes. Diversas investigaciones han señalado que determinadas circunstancias en este periodo, como el acceso a determinadas enfermedades infectocontagiosas, la desnutrición, etc., suponen una elevación en el riesgo de aparición de ENT conforme va creciendo el individuo.



La edad es un importante marcador de acumulación de riesgo. En consecuencia, una exposición crónica a un determinado factor de riesgo produce un daño acumulativo y la patología es patente a partir de un determinado nivel; dependiendo de cuándo se haya iniciado la expo-

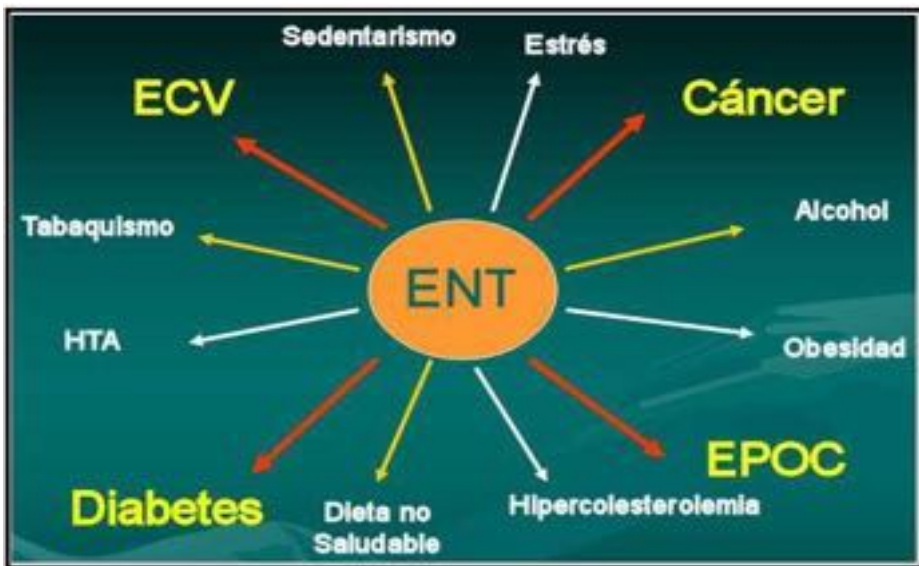
sición -así como la “dosis”-, se desarrollará la enfermedad antes o después en el tiempo.

Como dijo Margaret Chang, Directora de la OMS, en relación a las ENT, *“esto es una catástrofe de cámara lenta, ya que la mayoría de estas enfermedades se desarrollan lentamente, sin embargo, los estilos de vida poco saludables que alimentan esta epidemia se propagan a una velocidad impresionante”*.

El éxito de las estrategias de control y prevención de las ENT radica en su momento de inicio: habrá un beneficio superior cuanto antes se establezca el procedimiento de actuación, así como si la metodología se dirige a la población en general en lugar de tener un carácter individual y el grado de educación sanitaria de dicho colectivo. Un ejemplo de estrategia de control es la encuesta de base del programa *“Conjunto de Acciones para la Reducción Multifactorial de las Enfermedades no Transmisibles”* (CARMEN).

2. Valoración del riesgo

El cálculo de la mortalidad atribuible y la carga de enfermedad causada tras la exposición a un determinado riesgo son las estimaciones más utilizadas. Se observa que los factores de riesgo comprenden aspectos relacionados con el medio ambiente, el consumo de tabaco, los malos hábitos de la población en relación a la actividad física y la alimentación, la hipertensión arterial, etc.



En términos de muertes atribuibles, los principales factores de riesgo de ENT a nivel mundial son el aumento de la presión arterial (16,5% de casos mortales), el consumo de tabaco (9%), el sedentarismo (6%), el nivel de azúcar elevado en sangre (6%) y la obesidad (5%).

En cuanto a cifras, las ENT causan más de 36 millones de fallecimientos anuales, produciéndose más del 75% en países en vías de desarrollo. Las enfermedades cardiovasculares son las de mayor relevancia (17 millones) junto con las derivadas del cáncer (7.600.000); están seguidas por las enfermedades respiratorias (4.200.000) y la diabetes (1.300.000).

2.1. Factores de riesgo comportamentales modificables

El consumo de tabaco, la inactividad física, la alimentación incorrecta y el alcoholismo aumentan el riesgo o causan directamente las ENT. El tabaco conlleva unos 6 millones de muertes anuales a nivel mundial y se prevé que aumente casi un 34% en el espacio de 15-20 años. Por otra parte, casi 3.500.000 de muertes al año se deben estrechamente al sedentarismo y lo que ello conlleva sobre la salud física, y 1.700.000 de fallecimientos, aproximadamente, se relacionan con la mala nutrición, deficiente en el consumo de frutas y verduras. El alcohol como causa de ENT provoca más de un millón de defunciones anuales a nivel global.

2.2. Factores de riesgo metabólicos/fisiológicos

Como resultado de los malos hábitos anteriores, habría cuatro cambios metabólicos/fisiológicos clave que pueden incrementar el riesgo de ENT: hipertensión arterial, sobrepeso/obesidad, hiperglucemia e hiperlipidemia.

3. Determinantes de las ENT

Aparte de los factores de riesgo, existen otros determinantes de las ENT asociados a aspectos socioeconómicos, culturales, etc. Suelen actuar de manera indirecta. Factores como la pobreza, el difícil acceso a la educación o las políticas de urbanismo exacerbado pueden originar cambios en el tipo de vida de los individuos hacia un camino negativo desde el punto de vista de la Salud.

Las políticas sanitarias deberían abordar también esta perspectiva, pese a que las estadísticas no reflejan específicamente los efectos de

tales determinantes. Por ejemplo, los individuos con bajos ingresos tienen una mayor predisposición a sufrir ENT por varias causas, entre otras la dificultad de acceso a medios materiales y sanitarios, el estrés psicológico derivado de sus limitaciones monetarias, las carencias nutricionales, etc.

Aunque en la actualidad se entienden perfectamente los factores de riesgo y sus implicaciones sobre el desarrollo de diferentes ENT, debería ponerse más énfasis en el entorno en el que se desenvuelve el individuo, puesto que un ambiente desfavorable supone un incremento de la incidencia de estas patologías.

Existe multitud de casos en los que, debido a la reciente coyuntura socioeconómica, las personas han de elegir entre comer y adquirir determinados medicamentos vitales para atajar patologías incluidas en las ENT.

4. Sistemas de vigilancia

Como se infiere de lo comentado con anterioridad, la aproximación a la epidemiología de las ENT se basa en la información proporcionada por el análisis de mortalidad, así como de los datos de registros poblacionales de la enfermedad, de la morbilidad atendida en los servicios sanitarios hospitalarios y de otras encuestas poblacionales.

Ya se han comentado las cifras aproximadas debidas a las ENT. En relación a los valores según la edad, aunque la mayor parte de los casos ocurren en mayores de 70 años, todavía hay unos 16 millones de muertes en individuos que no llegan a esta edad. Asimismo, suponen el 43% de la carga mundial de morbilidad.

En España, los dos grupos de ENT predominantes son patologías cardiovasculares-cerebrovasculares y tumorales, y suponen casi el 60% de muertes anuales. El tercer puesto lo ocupan las enfermedades respiratorias.

Por otro lado, la cronicidad en estas patologías puede originar pérdida de la calidad de vida y una muerte prematura (antes de los 65 o 70 años de edad). Para evaluar esta variable se utiliza el índice que mide los Años Potenciales de Vida Perdidos (APVP). Las ENT causan el 34% de los años perdidos por muerte prematura. En concreto, España tiene como principales causas de APVP a las patologías cardiovasculares, el cáncer y los accidentes de tráfico.

En cuanto a la calidad de vida, se valora el índice de Años de Vida Ajustados por Discapacidad (AVAD), que combina la mortalidad prematura y los años de vida con discapacidad debida a la ENT. Las últimas estimaciones prevén que, dentro de un lustro, el 50% de la carga de enfermedad se deba a las ENT, siendo la mitad ocasionada por patologías cardiovasculares, seguida por la depresión. Se sabe que es muy común la concomitancia de ENT con otros trastornos como la depresión, que es un importante cofactor para su desarrollo y evolución.

Existen otras magnitudes que valoran los aspectos de Salud vs. Enfermedad, como son la Esperanza de Vida en Buena Salud (EVBS) o la Esperanza de Vida Sin Discapacidad (EVSD).

En cuanto a los registros de la enfermedad, los más utilizados son los poblacionales, aunque sólo se restringen a determinadas patologías (cáncer, enfermedad cardiovascular) y tardan en actualizarse. Otra fuente es el estudio de utilización de medicamentos, que indica el consumo de fármacos frente a las patologías, aunque hay que reconocer que no todo lo que se adquiere ha sido de manera lícita ni se llega a administrar.

Asimismo, las encuestas llevadas a cabo por las autoridades sanitarias son muy valiosas, aunque implican un gran sesgo debido al estrecho margen de población analizada. Por otro lado, dichas encuestas ayudan a valorar las necesidades de demanda de servicios sanitarios según las ENT y establecen posibles criterios causa-efecto de las mismas.

El conjunto de fuentes de información permite disponer de una aproximación de la magnitud de las ENT, aunque siempre habrá limitaciones por la imposibilidad de abarcar todos los aspectos de tipo individual y la totalidad de la población. A pesar de tales restricciones, son esenciales para determinar la casuística y establecer planes de vigilancia y control.

5. La OMS y las ENT

La OMS está respondiendo con medidas para reducir los factores de riesgo asociados a las ENT, entre las que están:

- La aplicación de medidas frente al tabaquismo establecidas en el Convenio Marco para el Control del Tabaco pueden reducir su exposición al público.

- La estrategia de la OMS sobre régimen alimentario, actividad física y salud tiene como objetivo promover la salud mediante la reducción de la morbilidad y la mortalidad asociadas a las dietas incorrectas y al sedentarismo.
- La estrategia de la OMS para reducir el uso nocivo del alcohol señala las posibles medidas y áreas prioritarias de acción para evitar tal problema.
- Tal como se pide en la Declaración Política de las Naciones Unidas sobre las ENT, la OMS está elaborando un marco mundial de vigilancia integral para la prevención y el control de las ENT que incluya un conjunto de indicadores y de objetivos de aplicación voluntaria.
- Tras la resolución WHA64.11 de la Asamblea de la Salud, la OMS ha estado elaborando un plan de acción para la prevención de las ENT (2013-2020).

Los objetivos generales de las medidas de la OMS son: a) elaborar directrices y ofrecer infraestructura para la vigilancia de los factores de riesgo de ENT, prestando especial atención a los países en desarrollo, y b) facilitar el material informativo de dimensión mundial sobre la carga, las tendencias y la distribución de dichos factores de riesgo.

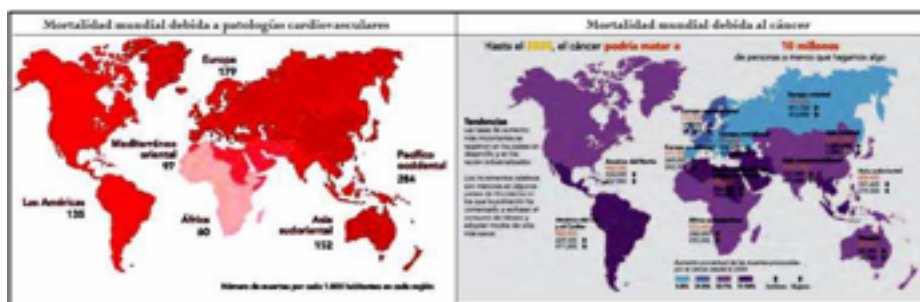
Por otro lado, la OMS también tiene otros objetivos secundarios, como el análisis de datos sobre los principales factores de riesgo de ENT en todo el mundo, el estudio de su distribución y la determinación de los problemas de carácter informativo y de infraestructura en cuanto a vigilancia y control. Partiendo del concepto del “método progresivo de vigilancia de las enfermedades no transmisibles” (PASOS), se ha elaborado una estrategia mundial de vigilancia de los factores de riesgo de ENT. La coordinación ha corrido a cargo de diversos departamentos y oficinas regionales de la OMS, múltiples órganos ministeriales gubernamentales, ONG y otras instituciones independientes. Los planes de prevención deberán ocupar un periodo de un lustro y se creará una base informativa mundial que ayude a estar en línea entre las naciones.

6. ENT de mayor relevancia

- a) Enfermedades cardiovasculares. Suponen la principal causa de muerte y hospitalización a nivel mundial y en España, en concreto las patologías cerebrovasculares y los infartos de miocardio. Por se-

xos, es la primera causa de fallecimientos en mujeres y la segunda en varones, por detrás del cáncer; además, las patologías cerebrovasculares son más frecuentes en mujeres y la patología isquémica cardiaca es más típica en hombres. A nivel nacional, existen diferentes proyectos y registros, como el citado MONICA, el estudio IBÉRICA, el proyecto “*Desarrollo de la Ecuación Española para la Evaluación del Riesgo Cardiovascular Individual*” (ERICE), el estudio “*Función de Riesgo Española de acontecimientos Coronarios y Otros*” (FRESCO) o el “*REgistre Gironí del COR*” (REGICOR).

- b) Cáncer. Implica un 13% de las muertes mundiales. Los valores más elevados de casos de cáncer se observan en los países desarrollados, con una mayor incidencia en varones. En Europa, el tipo más frecuente en hombres es el de próstata, seguido del de pulmón y el de colon y recto; en mujeres, aparte del de pulmón y colon y recto, también el de mama. En España, los valores son similares, aunque inferiores a los de la órbita europea, con idéntico predominio de afectación en varones que también pueden presentar cáncer de vejiga; en mujeres aparecen descritos, además de los ya mencionados, los cánceres de útero y de ovarios.



Ocurre de manera similar en el caso del cáncer infantil; pese a su baja frecuencia, es la segunda causa de muerte en menores de 15 años de edad, siendo la prevalencia mayor en niños que en niñas. Los más relevantes son la leucemia, linfomas, y los de afectación del sistema nervioso central.

Existe un aumento paulatino de los casos de cáncer con el tiempo y una estrecha relación entre el consumo de alcohol y tabaco y el desarrollo de tumores de esófago, laringe, pulmón y vejiga.

La principal fuente de información en relación a la incidencia de cáncer es la “*International Agency for Research on Cancer*” (IARC),

que, a su vez, depende de la OMS. Asimismo, también existen estadísticas oficiales del INE y datos provenientes de registros sanitarios hospitalarios, ensayos clínicos, etc. En la imagen anterior podemos ver la clasificación de la IARC con varios ejemplos.

Grupo 1 Cancerígeno para los seres humanos	Grupo 2A Probablemente Cancerígeno para los seres humanos	Grupo 2B Posiblemente Cancerígeno para los seres humanos	Grupo 3 No se clasifica	Grupo 4 Probablemente no Cancerígeno para los seres humanos
La evidencia ha probado que es un agente que se asocia con el cáncer en seres humanos.	Existe evidencia limitada de una asociación con el cáncer en seres humanos, pero pruebas suficientes de asociación con el cáncer en animales de experimentación.	Existe evidencia limitada de una asociación con el cáncer en seres humanos, pero pruebas insuficientes asociadas con el cáncer en animales de experimentación.	La evidencia indica que no es posible clasificarlo como un agente cancerígeno, basado en la información científica disponible.	Existen pruebas para demostrar que el agente "no está asociado" con el cáncer en seres humanos.
EJEMPLOS	EJEMPLOS	EJEMPLOS	EJEMPLOS	EJEMPLOS
167 agentes, incluyendo: <ul style="list-style-type: none"> > Betabeta Alcohólicos > Asbesto (todas las formas) > Anilino > El benceno > El formaldehído > La radiación ionizante (todas las formas) > Consumo de tabaco, en fumadores y no fumadores. > Plomo (exposición ocupacional) > La luz del sol – Rayos UV (radiación solar) 	54 agentes, incluyendo: <ul style="list-style-type: none"> > Peluquería o peluquero (exposición ocupacional) > Pesticidas refinados (exposición ocupacional) > Trabajo por turnos que implica trastornos circadianos (interrupción a la normalidad los patrones de sueño) > Gases de combustión de automóviles. > Lámparas broncoscopas. 	249 agentes, incluyendo: <ul style="list-style-type: none"> > Café (vejiga y tracto urinario) > Combustible diesel, marino > Limpieza en seco (exposición ocupacional) > Bomberos (exposición ocupacional) > Estréno > Trabajo en Fabricación Textil > Campos Magnéticos de muy baja frecuencia – Red Eléctrica (ELF) > Polvos de talco sintéticos. 	512 agentes, incluyendo: <ul style="list-style-type: none"> > Ácido acético > Cervezas en agua potable > Productos para dar color al pelo (uso personal) > La iluminación fluorescente > Campos Eléctricos de muy baja frecuencia – Red Eléctrica (ELF) > Mercurio. > Sacarina 	Un agente: <ul style="list-style-type: none"> > caprolactama <p>NOTA: Tener en cuenta que la Caprolactama es altamente tóxica y no debe ser considerado como "seguro", salvo para esta clasificación</p>

X. LA EMERGENCIA EN LAS ENFERMEDADES Y SUS FACTORES

El término “emergente” se aplica, en general, a la aparición de una enfermedad nueva que surge con gravedad y se difunde rápidamente. Históricamente las enfermedades emergentes se asocian a plagas cuyo recuerdo se relaciona inevitablemente con la muerte, como sucedió en el caso de la peste negra en la Edad Media. En el caso de los animales, existen ejemplos similares como la peste bovina, la fiebre aftosa o la encefalopatía espongiiforme bovina. Con frecuencia se suele también aludir al caso de la viruela en América en relación con los conquistadores en el s. XVI.

Anteriormente ya se ha dicho que se define como “emergentes” a las enfermedades cuya incidencia se ha incrementado recientemente o existe la amenaza de su aumento en un futuro próximo. También a las de aparición actual o las que han surgido de forma brusca y repentina, o las que aumentan rápidamente su incidencia o tienen su origen en áreas antes no descritas.

Con un sentido práctico, la OMS considera “emergentes” también las que aparecen en hospedadores nuevos, las que incrementan su gravedad o las que manifiestan nuevos tipos de transmisión, cuando se reconoce por primera vez el carácter infeccioso o si se describen dificultades añadidas en su lucha.

La emergencia de enfermedades infecciosas se ha descrito como el resultado de la acción de diversos factores relacionados que actúan en diferentes niveles de organización. Parece claro que las interrelaciones humanas y animales con los microorganismos han permitido la aparición de enfermedades emergentes.

Grupo	Total		Emergentes		Emergentes/ Total
	n	%	n	%	%
Bacterias	538	38.2	54	30.5	10.0
Hongos	317	22.5	22	12.4	6.9
Helmintos	287	20.4	10	5.7	3.5
Virus	208	14.8	77	43.5	37.0
Protozoarios	57	4.1	14	7.9	24.6
Total	1407	100.0	177	100.0	12.6

En la historia de la humanidad, determinados hitos han repercutido directamente en esta aparición y en su difusión. Coincidiendo con la Revolución Neolítica, el hombre comenzó la domesticación de los animales y se hizo sedentario; este hecho puso en contacto de forma prolongada al hombre con los animales y surgieron las zoonosis. Más recientemente, el Imperio Romano en Occidente y la Dinastía Han en Oriente dieron un gran impulso al comercio y propiciaron los intercambios de microorganismos, facilitando su difusión y con ella de los procesos en los que estaban relacionados. Mucho más próximo a nosotros, en la época de los grandes descubrimientos y durante la exploración transoceánica, se difundieron la peste bubónica en Europa y se exportaron a América enfermedades como la viruela, el sarampión o la gripe. Las enfermedades infecciosas emergentes representan una cuarta oleada de brotes de enfermedades transmisibles. La gripe y el SIDA tal vez sean las representaciones más significativas en la actualidad, aunque no las únicas.

Las enfermedades “reemergentes” se refieren a desórdenes que en el pasado constituyeron problemas de sanidad, bien de forma global o en un determinado territorio, pero que después redujeron su incidencia hasta casi la eliminación. Por distintas razones estas enfermedades vuelven a la actualidad por aumentar su presencia, muchas veces asociada a otros problemas que facilitan su aparición y difusión; es el caso de la brucelosis o la tuberculosis. No debemos obviar los recientes virus del Zika o de la fiebre hemorrágica Crimea-Congo.

La emergencia y reemergencia de patógenos representa en la actualidad un enorme desafío para la medicina humana y la veterinaria, con un impacto extraordinario en la salud y economía globales. Con carácter general, la clave de la defensa reside en la vigilancia, que necesita de la actuación integrada sobre las poblaciones humanas y de animales domésticos y silvestres.

El siguiente cuadro -extraído de Rodríguez Ferri (2009)- es muy representativo:

Cuadro 1. Relación de 174 patógenos emergentes en los últimos años (Taylor et al., 2001)		
Virus Andes	Virus Sabio	Staphylococcus epidermidis
Australian Bat Lyssavirus (ABL)	Virus Salehabad	Streptococcus pneumoniae
Virus Bagaza	Virus de la fiebre por moscas de la arena de Nápoles	Streptococcus pyogenes
Virus Borna	Coronavirus SARS	Vibrio cholerae
Virus de la Selva de Barmah	Virus Seoul	Vibrio parahaemolyticus
Virus de la encefalitis de California	Virus Sin Nombre	Vibrio vulnificus
Herpesvirus tipo 1 de los Cercopithecus	Virus Sindbis	Yersinia enterocolitica
Virus Chikungunya	Virus de la encefalitis de San Luis	Yersinia pestis
Virus de la fiebre hemorrágica Crien-Congo	Virus de la encefalitis equina venezolana	Aspergillus fumigatus (grupo)
Virus Dengue	Virus de la encefalitis de West Nile	Blastomyces dermatitidis
Virus de la encefalitis equina del Este	Virus del Nilo Occidental	Candida albicans
Virus de la encefalitis transmitida por gamapatas	Virus de la encefalitis equina del Oeste	Candida glabrata
Virus Guama	Virus de la fiebre amarilla	Candida krusei
Virus Guarínito	Virus Ebola Zaire	Coccidioides immitis
Virus Hantaan	Virus Zika	Cryptococcus neoformans
Virus Hendra	Agente de la EEB	Fusarium moniliformis
Virus de la hepatitis A	Aeromonas caviae	Fusarium oxysporum
Virus de la hepatitis B	Aeromonas hydrophila	Fusarium solani
Virus de la hepatitis C	Aeromonas veronii	Histoplasma capsulatum
Virus de la hepatitis E	Bacillus anthracis	Malariae ptychodermatis
Virus de la hepatitis G	Bordetella pertussis	Penicillium marneffii
Astrovirus humano	Borrelia burgdorferi	Pneumocystis carinii
Enterovirus B humano	Brucella melitensis	Scedosporium prolificans
Herpesvirus humano tipo 1	Campylobacter fetus	Trichosporium beigei
Herpesvirus humano tipo 2	Campylobacter jejuni	Encopthalitozoon caniculi
Herpesvirus humano tipo 3	Chlamydia trachomatis	Encopthalitozoon hellem
Herpesvirus humano tipo 5	Clostridium botulinum	Encopthalitozoon in testinale
Herpesvirus humano tipo 8	Clostridium difficile	Enterocytososis binuclei
Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1)	Corynebacterium diptheriae	Naosoma cononi
Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 2 (HIV-2)	Ehrlichia chaffeensis	Frachiplosporopora hominis
Papilomavirus humano	Ehrlichia equi	Anakis simplex
Virus T-linfotropico humano tipo 1	Ehrlichia ewingii	Echinococcus granulosus
Virus Influenza A	Enterococcus faecalis	Loa loa
Virus de la encefalitis japonesa	Enterococcus faecium	Monorchis conjunctus
Virus Junin	Escherichia coli	Onchocerca volvulus
Virus de la enfermedad de la selva de Kyasanur	Francisella tularensis	Schistosoma mansoni
Virus de Laguna Negra	Haemophilus ducreyi	Strongyloides stercorari
Virus de la fiebre de Lassa	Haemophilus influenzae	Taenia solium
Virus Machupo	Klebsiella pneumoniae	Trichinella spiralis
Virus de la enfermedad de Marburgo	Legionella pneumophila	Wuchereria bancrofti
Virus Mayaro	Leptospira interrogans	Babesia microti
Virus del sarangón	Listeria monocytogenes	Cryptosporidium parvum
Virus Mengón	Mycobacterium avium	Cyclospora cayentensis
Virus de la viruela del mono	Mycobacterium bovis	Giardia duodenalis
Virus de la encefalitis del valle Murria	Mycobacterium fortuitum	Isospora belli
Virus Nipah	Mycobacterium haemophilum	Leishmania donovani
Virus Nonak	Mycobacterium leprae	Leishmania infantum
Virus O'nyong-nyong	Mycobacterium marinum	Plasmodium falciparum
Virus Oropuche	Mycobacterium tuberculosis	Plasmodium vivax
Picobirnavirus	Mycobacterium ulcerans	Toxoplasma gondii
Poliavirus	Neisseria gonorrhoeae	Trichomonas vaginalis
Virus Pumala	Neisseria meningitidis	Trypanosoma brucei
Virus de la rabia	Pseudomonas aeruginosa	Trypanosoma cruzi
Virus Ebola RESTON	Rickettsia prowazekii	
Virus de la fiebre del valle del Rift	Salmonella enteritidis	
Virus del río Ross	Salmonella typhi	
Rotavirus C	Salmonella typhimurium	
	Staphylococcus aureus	
		Resumen:
		43,6% virus;
		23,4% bacterias;

1. Factores de emergencia. Modelo de convergencia

La participación coincidente de distintos factores da como resultado la emergencia de patógenos y enfermedades, incluidas las zoonosis. La interacción agente-hospedador está influenciada por los factores genéticos y biológicos, físicos y ambientales, ecológicos, sociales, políticos y económicos.

Factores	Ejemplos
Eventos sociales	Empobrecimiento económico Guerras o conflictos civiles Terrorismo Crecimiento y migración de poblaciones Decaimiento urbano Producción de alimentos
Comportamiento humano	Conducta sexual Uso de drogas Viajes Cambios en la dieta Actividades de recreación Guarderías infantiles
Cambios en el ambiente	Deforestación y reforestación Cambios en los ecosistemas acuáticos Inundaciones y sequías Hambrunas Aumento de la temperatura de la Tierra
Políticas en Salud Pública	Reducción de los programas preventivos Vigilancia inadecuada de las enfermedades infecciosas Carencia de personal entrenado
Procedimientos médicos	Transplantes de tejidos y órganos Drogas inmunosupresoras Amplio uso y abuso de antibióticos
Adaptación microbiana	Resistencia a antibióticos Microorganismos como causantes de enfermedades crónicas

El fenómeno de la aparición de nuevos agentes zoonóticos o el resurgimiento de los ya conocidos no resulta explicable con modelos simples. Podría decirse que la emergencia es el resultado de la con-

fluencia de factores dependientes del agente patógeno, el hospedador, la población hospedadora y el ambiente, que interactúan entre sí.

1.1. Modificaciones en la demografía y los hábitos de la población

La OMS considera que en el año 2025 el 65% de la población mundial vivirá en ciudades. Una mayor interacción supone una mayor predisposición al contacto y el contagio. Actualmente, más de 200 millones de individuos viven en ciudades de más de 10 millones de habitantes, lo que se prevé multiplicar en las próximas dos décadas.

Asimismo, los viajes y la inmigración como consecuencia de conflictos armados también suponen movimientos poblacionales. Como se aprecia en el mapa adjunto, los principales refugiados se hallan en áreas de África, Asia y Centro- Sur de América; estos campamentos y migraciones suponen claros problemas sanitarios que se ven favorecidos por las condiciones de hacinamiento y climáticas.

Además, los hábitos nutricionales de la población y la incorrecta manipulación de alimentos pueden suponer un foco para la expansión de las infecciones. Siguen de actualidad las toxiinfecciones e intoxicaciones debidas a *Salmonella enteritidis*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, etc.

1.2. Cambio climático

Estos cambios pueden afectar de manera muy notoria al grado de dispersión de los agentes infectocontagiosos cuyo hospedador es un animal, y en especial los transmitidos por vectores. Además de las temperaturas y el calentamiento global que favorece la expansión y asentamiento de vectores desde áreas tropicales a zonas templadas, la disponibilidad de agua potable es un factor limitante.

1.3. Comercio internacional

Los viajes de “obligado cumplimiento” debidos a conflictos armados o catástrofes naturales no tienen nada que ver con los comerciales, a no ser que conlleven una expansión asociada de diferentes patologías. Este es el ejemplo del caso de la viruela, llevada de Europa a América por los conquistadores españoles. También el de la Fiebre Amarilla con el comercio de esclavos, etc.

Pero, aunque hoy en día no exista esclavitud o conquistas per se, las comunicaciones entre territorios son de enorme relevancia, de ahí que un foco de infección se difunda con extrema rapidez al resto del globo, especialmente mediante avión.

1.4. Políticas y medidas sanitarias deficientes

Ya se han comentado a propósito de los desplazamientos originados por conflictos armados. Además de unas medidas sanitarias y de higiene adecuadas, los sistemas de salud pública deberían ser capaces de dar una respuesta adecuada tanto a nivel de prevención como de diagnóstico y tratamiento. Las deficiencias afectan principalmente a los países en vías de desarrollo, aunque en los países desarrollados, merced a la crisis global actual, también existe cierta carestía en cuanto a atención y recursos.

Un ejemplo de actualidad es el brote del virus Ébola que afecta a Guinea, Sierra Leona y Liberia, principalmente. Desde el 16 de junio de 2015 el número total de casos ha aumentado un 20% en estos países. De igual modo ha ocurrido en el caso del virus Zika (ver ANEXO), con especial relevancia a su transmisibilidad durante los Juegos Olímpicos de Río de Janeiro. La OMS se ha movilizado para establecer medidas concretas de actuación frente a ambos.

1.5. Desigualdades sociales

Algunos de los factores que afectan a la población son el incremento en la media de edad, mayores niveles de inmunosupresión, estrés, etc., pero sobre todo hay que tener en cuenta las desigualdades sociales. La pobreza favorece la aparición y el asentamiento de nuevos agentes infecciosos. Además, muchas de las enfermedades reemergentes reaparecen tras mantenerse en una bolsa de población, caracterizada en muchas ocasiones por niveles altos de pobreza.

1.6. Nuevas tecnologías, Ecología y explotación del terreno

Tanto en la industria alimentaria como en otras se tiende hacia la obtención de un mayor volumen de producto final. Esto favorece una rápida expansión de los agentes infecciosos presentes en productos contaminados que escapan a los controles pertinentes.

Asimismo, los cambios asociados a la agricultura han conducido a la invasión de bosques y selvas, exponiendo a la población a agentes zoonóticos. Aunque ya se ha comentado anteriormente, otro factor importante es el agua, puesto los artrópodos pueden alimentarse en aguas

estancadas, factores predisponentes de la expansión de diferentes vectores.

1.7. Aparición de resistencias antimicrobianas (RAM)

El uso inadecuado e irracional de los antimicrobianos crea condiciones favorables para la aparición y la propagación de microorganismos resistentes, como es el caso de la Tuberculosis a nivel mundial. Según la OMS, los principales factores que favorecen este hecho son:

- Insuficiente compromiso nacional con una respuesta integral y coordinada al problema, mala definición de la rendición de cuentas y escasa participación de las comunidades.
- Inexistencia o debilidad de los sistemas de vigilancia.
- Incapacidad de los sistemas para velar por la calidad y el suministro ininterrumpido de medicamentos.
- Uso inadecuado e irracional de los medicamentos, especialmente en la ganadería.
- Prácticas deficientes en materia de prevención y control de las infecciones.
- Escasez de medios de diagnóstico, medicamentos y vacunas, así como deficiencias en materia de investigación y desarrollo de nuevos productos.



2. Principales estrategias de prevención y control

- Control sanitario en aduanas, en especial de individuos y mercancías provenientes de países endémicos de enfermedades sujetas a vigilancia epidemiológica (Paludismo, Dengue, Ébola, etc.).

- Prevención mediante el sistemático cumplimiento de los protocolos de Desinsectación-Desratización-Desinfección (DDD), en especial en lugares de afluencia de personas, animales y mercancías.
- Remisión de los casos sospechosos de padecer enfermedad de esta índole a las unidades hospitalarias específicas evitando el contacto con el resto de la población.
- Vigilancia epidemiológica de síndromes clínicos para poder identificar y diagnosticar la patología en los primeros estadios y evitar su dispersión y diseminación al resto del colectivo hospitalizado.

XI. LAS ZOONOSIS Y SU REPERCUSIÓN A ESCALA GLOBAL

A lo largo del siglo XX se produjeron avances espectaculares en el conocimiento y control de las enfermedades infecciosas. Vacunas, antibióticos, métodos de diagnóstico de laboratorio supusieron, sin duda, instrumentos clave en la lucha contra las enfermedades infecciosas. A su lado, avances sociales como los referidos a la higiene de los alimentos, el abastecimiento de agua potable a las ciudades y los sistemas de recogida de residuos, permitieron igualmente colaborar en el esperado éxito de empresas de lucha y erradicación contra este tipo de procesos. Sin embargo, lejos de desaparecer, pues en la práctica solamente se erradicado oficialmente la viruela (en el caso de enfermedades humanas y la peste bovina entre las que afectan a los animales), las enfermedades infecciosas continúan representando un problema clave para la salud humana y animal.

De acuerdo con el Profesor Rodríguez Ferri, los datos más recientes de mortalidad por las enfermedades infecciosas siguen superando cifras de dos dígitos en todo el mundo, aunque en segmentos vulnerables como el que se refiere a los niños y, en particular en los países del tercer mundo, se considera que las dos terceras partes de los fallecimientos son de este origen.

A finales de 1998, la cifra de fallecimientos anuales por todas las causas, alcanzó la cifra de 53.900.000; de éstas, el 25%, eran responsabilidad de las enfermedades infecciosas, ocupando el segundo lugar en importancia como causa de muerte, por detrás de la enfermedades cardiovasculares. En 2002, la cifra de fallecimientos por enfermedades infecciosas alcanzó los 14.700.000 de fallecimientos. En un caso y otro la lista estaba encabezada por las infecciones respiratorias, seguida del

SIDA, diarreas, tuberculosis, malaria, sarampión, tosferina, tétanos, meningitis, sífilis, hepatitis B y enfermedades tropicales. La situación para 2008 era similar con tres de cada diez muertes debidas a enfermedades transmisibles o nutricionales y muchos países en desarrollo presentaban pautas de mortalidad que reflejaban niveles elevados de enfermedades infecciosas y riesgo de muerte durante el embarazo y el parto.

En resumen, en los últimos años entre 14 y 17 millones de seres humanos fallecen cada año como consecuencia del padecimiento de enfermedades infecciosas, contabilizando tanto niños como adultos, aunque existen diferencias importantes entre países en función de su grado de desarrollo (la mitad de las defunciones se produce en los países en desarrollo).

En cuanto a las enfermedades infecciosas de los animales, el apartado es muchísimo más diverso al variar el número de hospedadores de referencia. Los condicionantes son similares y las enfermedades infecciosas producen muerte, acortamiento del periodo de vida y pérdida de producción. En los animales productores de alimentos, la OIE recoge y distribuye información sobre un total de 121 enfermedades de declaración obligatoria en las que el capítulo más numeroso corresponde al denominado “enfermedades comunes a varias especies”, que alcanza la cifra de 26 (el 21,4% del total) y en la lista siguen enfermedades de los bovinos, los ovinos y caprinos, equinos, suidos, aves, lagomorfos, peces, moluscos, crustáceos, anfibios y otras especies. Es muy difícil establecer el coste de estas dolencias en términos de muerte o enfermedad (tratamiento, lucha, prevención) pero es fácil deducir que se manejan cifras multimillonarias en los aspectos que pueden valorarse (los costes de prevención incluyen medidas de bioseguridad; a ello se suman las pérdidas por aparición de focos incluyendo el coste por vaciado sanitario de rebaños, el sacrificio preventivo o por bienestar animal, las pérdidas parciales del valor de los animales por las medidas de restricción, los costes por vacunación de emergencia, desinfección y pruebas de diagnóstico. Todavía hay que sumar las pérdidas derivadas por la repercusión negativa en los mercados, cierre de fronteras, etc., pero son fundamentales las que se refieren a enfermedades transmisibles al hombre (zoonosis) en las que se añaden los costes de esta repercusión.

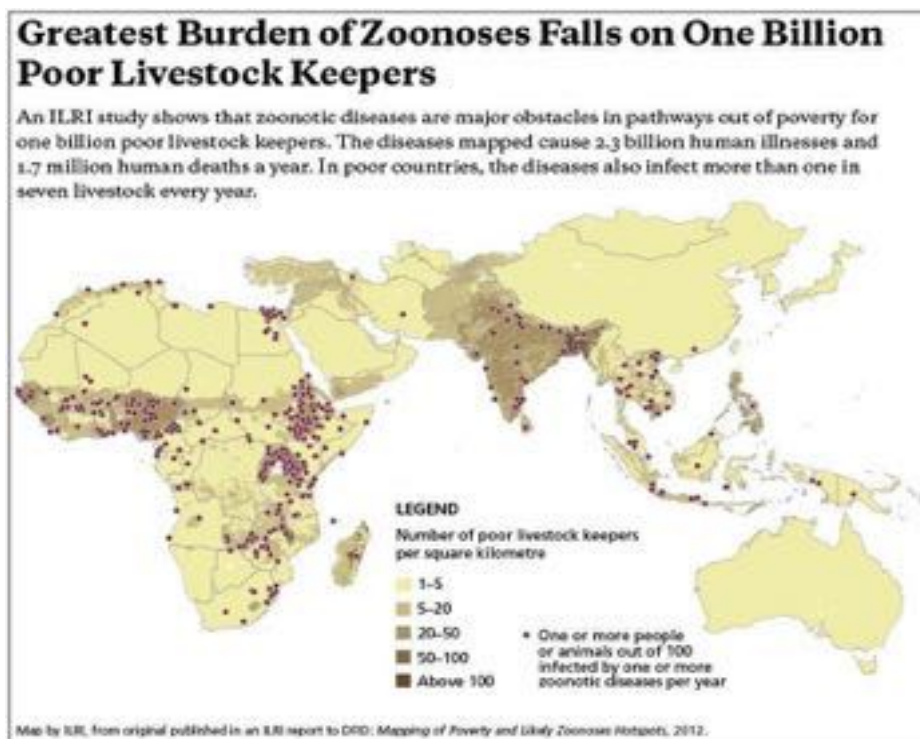
Estos últimos años nos están dejando un panorama diferente, a la vez que decrece la mortalidad por las enfermedades infecciosas tradi-

cionales ha surgido un nuevo motivo de preocupación derivado de la aparición de las denominadas enfermedades emergentes (enfermedades infecciosas emergentes, zoonosis emergentes, etc.) y reemergentes, al lado de otros problemas de no menor importancia en el ámbito de la Salud Pública, como el de las resistencias antibióticas y, siempre, con un interés especial por los factores que condicionan unos y otros surgidos entre otros orígenes, de la actividad humana (factores antropogénicos), aunque no exclusivamente.

La interdependencia de humanos y animales y los numerosos factores que controlan esta interrelación han convergido para crear un ambiente que propicia la emergencia de patógenos zoonóticos.

1. ¿Qué zoonosis son emergentes en la actualidad?

Por extensión del concepto de enfermedades emergentes, las zoonosis causadas por agentes nuevos o por microorganismos conocidos, aunque descritas en lugares o especies donde la enfermedad era antes desconocida, se englobarían dentro del concepto de enfermedades emergentes. Debe precisarse que la emergencia de zoonosis no excluye ninguna especie animal así como ningún tipo de agente infeccioso.



Tampoco se vinculan a una determinada región, pudiendo aparecer en cualquiera. El concepto de “emergentes”, una de las doctrinas más asentadas en la actualidad surgió a finales de siglo pasado en los EE.UU., cuando en 1992 Lederberg publicó la obra *Emerging Infections. Microbial Threats to Health in the United States* en la que sentó las bases y señaló los factores condicionantes de las enfermedades infecciosas emergentes. En la actualidad esta doctrina ha fructificado y de ella surgen constantemente seminarios, congresos, revistas, libros de todo tipo y, lo fundamental, una nueva conciencia, una forma diferente de hacer frente a estos problemas por parte de los expertos de todo el mundo, considerando el valor de la información y la necesidad de compartirla, en beneficio de todos. Ejemplos demostrativos son la revista *Emerging Infectious Diseases*, que edita el CDC de los EE.UU., o la *International Conference on Emerging Infectious Diseases* que se celebra en Atlanta cada dos años.



Son compañeros peligrosos del hombre y los animales. Se estima que existen alrededor de 1 400 microorganismos patógenos para el hombre y, de ellos, entre el 61-65% son de origen animal, esto es, son agentes de zoonosis y más del 12% de éstos son emergentes; sólo en los últimos años se ha descrito la emergencia de más de 70 (más de una enfermedad nueva por año) y en los últimos años se han recopilado

nada menos que 335 enfermedades emergentes entre 1940 y 2004, algunas muy graves y muchas son zoonosis. Si se considera el punto de vista contrario, los animales, se admite que el 80% de todos los patógenos animales, son agentes de zoonosis (algunos autores llegan a afirmar que, en las debidas condiciones, pueden serlo todos) y que el 75% de los patógenos emergentes animales son zoonóticos; de hecho, se considera que estos últimos tienen el doble de tendencia a asociarse con procesos emergentes que los no zoonóticos.

En relación con el origen de los patógenos emergentes, en general suelen considerarse, tres fuentes principales; por un lado, la propia población hospedadora, es el caso del hombre en la tuberculosis; por otro, el ambiente exterior, como sucede en el caso de la legionelosis y, finalmente, hospedadores diferentes, lo que implica un salto en la barrera de especie, como sucede por ejemplo en la encefalopatía espongi-forme bovina, la encefalitis por lissavirus o el propio SIDA. La emergencia resulta de impactos en cualquier eslabón de la cadena epidemiológica, a su vez es resultado de la convergencia de numerosos factores de distinto origen. Al lado de los patógenos emergentes, en los últimos años han reemergido no menos de veinte enfermedades humanas como la tuberculosis, el cólera y otras que vuelven a precisar de la atención de las autoridades sanitarias. En el campo de la sanidad animal sucede de igual modo; son reemergencias conocidas las de la tuberculosis, brucelosis, mal rojo, pestes porcinas, fiebre aftosa, etc.

2. Algunas de las zoonosis de mayor relevancia actual

2.1. Brucelosis

Los microorganismos del género *Brucella* son importantes patógenos de los mamíferos domésticos y silvestres, y algunos de ellos, también del hombre. Por el momento, existen ocho especies aceptadas dentro de este género bacteriano que, si bien poseen una cierta especie-especificidad, también producen infecciones cruzadas en las diferentes especies de mamíferos que parasitan. Estas especies son: *Brucella abortus* (ganado bovino), *B. melitensis* (ovino y caprino), *B. suis* (porcino), *B. neotomae* (rata del desierto), *B. ovis* (ovino), *B. canis* (perro), *B. ceti* (cetáceos) y *B. pinnipedialis* (pinnípedos). Otras dos nuevas especies han sido propuestas recientemente (*B. microti* -aislada de los topillos- y *B. innopinata* -aislada de un paciente humano-). Con la excepción de *B. ovis* y *B. neotomae*, todas las demás especies son patógenas para el hombre, siendo la brucelosis una de las zoonosis más importantes en muchos países de prácticamente todos los continentes.

Al no existir prácticamente vías de transmisión directa dentro de la especie humana (tan solo la transmisión materno-filial durante la lactancia ha sido documentada con suficiente precisión), el reservorio de la enfermedad para el hombre son los animales. El hombre se infecta bien de una forma directa por contacto directo con los animales infectados, sobre todo por vía conjuntival o a través de la mucosa oronasal, o bien, de una forma indirecta, por ingestión de productos animales contaminados (principalmente leche y derivados). La brucelosis humana es esencialmente una enfermedad profesional y las profesiones en contacto con la ganadería (matarifes, carniceros, ganaderos, veterinarios, personal de laboratorios, etc.) son las que presentan un mayor riesgo de contraerla.

2.2. Rabia

La rabia ha sido compañera de viaje de la humanidad desde el inicio de los tiempos, aunque parezca tan cercana su historia, en general ligada a Pasteur. La convivencia entre el hombre y los cánidos puede remontarse unos treinta siglos y sería posible que la rabia en humanos existiera ya desde aquel tiempo. Denominada por los griegos “lytta” o “lyssa” (locura), el vocablo proviene, etimológicamente, del sánscrito “rabhas” (agredir). Evolucionó al latín “rabies” o “rabere”. Es una enfermedad infecciosa que afecta particularmente al perro, cuya mordedura hace que se transmita a otros animales y al hombre. La sinonimia de este término es muy extensa: “aerofobia”, “panofobia”, “cinolyssa”, “tétanos rábico” o “fobodipsia”.

Niveles de alerta contemplados	
Niveles	Acciones
Nivel de alerta 0	Sin casos de rabia animal
Nivel de alerta 1	Detección de un caso de rabia
Nivel de alerta 2	Aparición de casos secundarios en animales domésticos
Nivel de alerta 3	Extensión de la enfermedad en animales salvajes

Se trata, por tanto, de una enfermedad infectocontagiosa que cursa con una encefalomiелitis vírica aguda y fatal que se desarrolla en el hombre y en un alto porcentaje de mamíferos salvajes y domésticos.

Clínicamente se describen síndromes de hiperactividad (rabia furiosa) o paráliticos (rabia muda o silente) que evolucionan hacia coma y muerte. Presenta una distribución mundial, a excepción de la Antártida.

Recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud	
Existen tres categorías de contacto de la persona con un animal sospechoso o confirmado de rabia o con un animal agresor que no se encuentre localizable.	
Categoría I	Tocar/alimentar animales sin que exista agresión o lamidos sobre piel intacta. En estos casos no hay exposición y, por tanto, no es necesario tratamiento.
Categoría II	Arañazos menores y erosiones leves sin sangrado, o lamidos sobre heridas y/o mordisqueos sobre heridas que no atraviese la piel. En estos casos se recomienda vacunar (4 o 5 dosis IM en la zona deltoidea) y limpieza exhaustiva de la herida.
Categoría III	Mordiscos o arañazos transdérmicos únicos o múltiples, así como contaminación de membranas mucosas con saliva, y toda exposición a murciélago. En estos casos se recomienda la limpieza exhaustiva de la herida junto a la infiltración de inmunoglobulinas IM alrededor y el uso de vacuna (4 o 5 dosis IM en zona deltoidea), siempre valorando las circunstancias de la agresión y situación epidemiológica.
En caso de inicio de vacunación en persona tras contacto con animal sospechoso de rabia, ésta podrá suspenderse transcurridos 21 días de observación del animal sospechoso.	

2.3. Hidatidosis

La equinococosis/hidatidosis por *Echinococcus granulosus* es una zoonosis parasitaria conocida desde la antigüedad que continúa originando consecuencias negativas para el hombre en numerosos lugares del mundo, además de cuantiosas pérdidas económicas y problemas sociales de difícil valoración.

Las consecuencias socio-sanitarias y económicas que origina determinan la instauración de programas para su control. Se trata de una patología que está incluida entre las emergentes. Dicha circunstancia determina que, a pesar de la favorable evaluación de la parasitación en la cabaña ganadera observada en los últimos años, debe mantenerse la atención como problema de Salud Pública.

2.4. Triquinelosis

La triquinelosis ha supuesto el riesgo sanitario más temido por los consumidores de la carne de cerdo y de caza. En la actualidad es una parasitación cada vez más infrecuente en el porcino, particularmente rara en cerdos de tipo industrial, diagnosticándose muy esporádica-

mente en los cerdos sacrificados para autoconsumo. Por el contrario, su diagnóstico resulta más frecuente en animales carnívoros y omnívoros salvajes, entre los que hemos de destacar por su aprovechamiento al jabalí. Este último adquiere en las últimas décadas una importancia creciente como causa de los brotes humanos por esa enfermedad. El caballo, de acuerdo con los brotes ocurridos en Francia e Italia, se encuentra entre las especies de mayor riesgo para la salud pública.

Lo que se consideró como especie única, actualmente, mediante el análisis genético, bioquímico y biológico de diversos aislamientos de triquinas se señala que el género *Trichinella* se halla compuesto por ocho especies, denominadas *T. spiralis*, *T. britovi*, *T. nelsoni*, *T. nativa* y *T. pseudospiralis*, y por tres grupos taxonómicos denominados T5, T6 y T8.

T. spiralis está adaptada a zonas templadas donde se crían cerdos; se la encuentra en ciclos epidemiológicos domésticos y silvestres. Es altamente infectante para el ratón, la rata, el cobayo, el conejo y el cerdo; moderadamente infectante para el hámster y no infecta a las aves. La especie es altamente patogénica para el ratón y la rata y moderadamente patogénica para el hombre. En el músculo, la larva no sobrevive más de 10-20 días a -15°C .

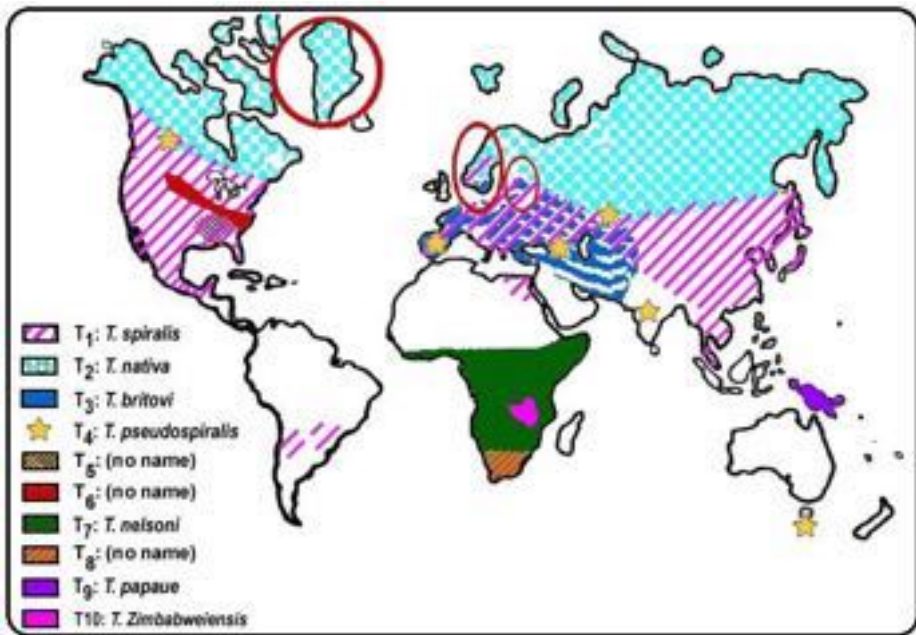
T. nativa está adaptada a las regiones septentrionales, donde circula entre carnívoros silvestres como osos, zorros y sus presas. La especie es altamente infectante para el ratón y leve para la rata, el hámster, el cobayo, el conejo y el cerdo. No infecta a las aves. La larva sobrevive en el músculo por más de 12 meses cuando se la expone a una temperatura de -15°C .

T. nelsoni está adaptada a las áreas tropicales o semitropicales de África, Asia y Europa y las cercanas al mar Mediterráneo; circula entre carnívoros como zorros, panteras, leopardos, leones, hienas y jabalíes. La especie es levemente infectante para los ratones, ratas, hámsteres y cerdos; moderadamente patogénica para el ratón; levemente patogénica para las ratas, y menos patogénica que *T. spiralis* para el hombre. No infecta a las aves. La larva sobrevive en el músculo 6 ó más meses a -12°C o -17°C y es resistente a las temperaturas elevadas.

T. pseudospiralis se distribuye en América del Norte, la India y la antigua Unión Soviética; se supone que circula entre predadores de aves y sus presas. La especie es altamente infectante para el hámster, levemente infectante para las ratas, menos patogénica que *T. spiralis*

para los monos y, presumiblemente, para el hombre. A diferencia de las otras especies, no forma quistes e infecta a las aves. La larva en el músculo muere en tres días a $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ o $-17\text{ }^{\circ}\text{C}$.

T. britovi está adaptada a las regiones templadas y subárticas de Eurasia; circula entre carnívoros silvestres, principalmente zorros y también lobos y mustélidos, y sus presas silvestres, los jabalíes. La especie es poco infectante para ratones, ratas y cerdos, menos patogénica que *T. spiralis* para el hombre y menos resistente a la congelación que *T. nativa*.



2.5. Fasciolosis

La fasciolosis es una distomatosis ocasionada por un género de trematodos localizados en los conductos biliares, donde provocan obstrucción, hepatomegalia y degeneración quística. Esta parasitosis suele tener un carácter crónico y acompañarse de trastornos nutritivos.

A esta patología se le ha denominado de múltiples maneras, como: “caquexia acuosa”, “podredumbre del hígado”, “comalía”, “galápago”, “papo”, “mal del hígado”, “gálamo”, “pirihuín”, “saguaipé”, “alicuya”, “jallo”, “cazahuate” o “yuta”; y al parásito: “coscojo”, “caracolillo”, “palomilla del hígado”, “serilla”, “duela hepática” o “distoma del hígado”.

tado. En conjunto, la enfermedad recibe el nombre de anisakiosis (anisaquiosis) o anisaquidosis; si la parasitación implica los géneros *Anisakis*, *Pseudoterranova* y *Contracaecum*, las denominaciones correctas son, respectivamente, anisakiosis (anisaquiosis), pseudoterranovosis y contracecosis.

En el género *Anisakis* se incluye *A. simplex* y, de menor interés por la frecuencia de su implicación, *A. physeteris*. Aunque no se dispone de mucha información al respecto, parece que por su abundancia en el hemisferio norte, *A. simplex* es la especie más importante desde el punto de vista sanitario.

2.8. Enfermedades transmitidas por garrapatas

Las enfermedades transmitidas por garrapatas agrupan a un amplio número de procesos causados por bacterias, virus y parásitos. Tras el descubrimiento, en la segunda mitad de la década de los setenta, de la enfermedad de Lyme, las enfermedades transmitidas por garrapatas son de una actualidad sanitaria incuestionable.


Las garrapatas duras (*Ixodidae*) constituyen un grupo de ectoparásitos hematófagos temporales extremadamente importantes por cuanto actúan como vectores de múltiples agentes patógenos.

Ixodes ricinus, la garrapata de la oveja, es una de las garrapatas de mayor significación debido a que es vector de distintos agentes patógenos. Junto a ella, *Rhipicephalus sanguineus*, la garrapata marrón del perro, es otra de las garrapatas de importancia en salud pública. La primera es el vector principal de la enfermedad de Lyme. Su biotopo preferido son las zonas húmedas y robledales. Las formas inmaduras suelen alimentarse sobre aves insectívoras y los adultos en herbívoros. La segunda es el vector y reservorio de la fiebre botonosa o fiebre exantemática mediterránea.

Las garrapatas son los agentes necesarios para la transmisión de la borreliosis (enfermedad de Lyme) o de la fiebre hemorrágica de Crimea-Congo (de tanta actualidad en España), entre muchas otras. Su participación es primordial, al ser los principales vectores en la cadena epidemiológica, sin cuya contribución no se produciría la afectación humana. Dicha circunstancia determina ciertas peculiaridades de interés sanitario, como la especial distribución geográfica de la patología, necesariamente coincidente con la de su vector; la estacionalidad en su

presentación, directamente correlacionada con la actividad del parásito; el no tratarse de una enfermedad contagiosa, ya que la vía principal de transmisión es la picadura de una garrapata infectada y, para finalizar, cierta preferencia en las localizaciones corporales en las que se sitúan las lesiones, aquéllas en las que habitualmente se fijan las garrapatas.


A. QUÉ ES
Es una enfermedad causada por un virus (Babesia) transmitido por garrapatas.




Garrapata del género Ixodes. Reservorio del virus.

B. CÓMO SE TRANSMITE
ENTRE ANIMALES

1. Una garrapata infectada pica a un animal salvaje o doméstico.




2. El animal se infecta en cualquier de la enfermedad y durante una semana al viral permanece en su sangre y puede ser transmitido a otro garrapata. De otra al otro.



DE ANIMAL A PERSONA


1. Una garrapata infectada pica a una persona y lo infecta a...



Incubación: de 1 a 3 días (máximo 9)

Así se contagia la primera vez!


... una persona se contagia por contacto con sangre o heces de animales infectados.



Incubación: de 3 a 6 días (máximo 12)

DE PERSONA A PERSONA

2. Una persona entra en contacto directo con sangre, secreciones, lágrimas u otros fluidos corporales de una persona infectada.




Así se contagia la segunda vez!

Incubación: de 1 a 6 días (máximo 12)

C. SÍNTOMAS
Primeros síntomas (aparición de forma aguda)

- Fiebre
- Malgas (dolor muscular)
- Mareo
- Dolor y rigidez de cuello
- Lumbago
- Cefalea
- Inflamación de los ojos
- Fatiga



Puede haber:

- Tuberculosis
- Disenteria
- Diarrea
- Dolor abdominal
- Dolor de garganta

De 2 a 4 días:

- Disminución
- Disenteria
- Exhaustión

Puede aparecer:

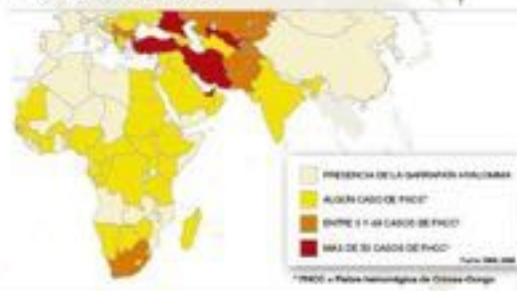
- Trombocitosis
- Adenopatías
- Patronajes en muchos órganos
- Signos de hepatitis
- Disenteria

A partir del 7º día:

- 60% Muerte
- 40% Fallecimiento del paciente

NO ESTÁ ADECUADA SUEROS DISPONIBLE PARA LAS PERSONAS SUFRIER LOS ANIMALES

D. DISTRIBUCIÓN DE LA FIEBRE HEMORRÁGICA DE CREMERA-CONGO



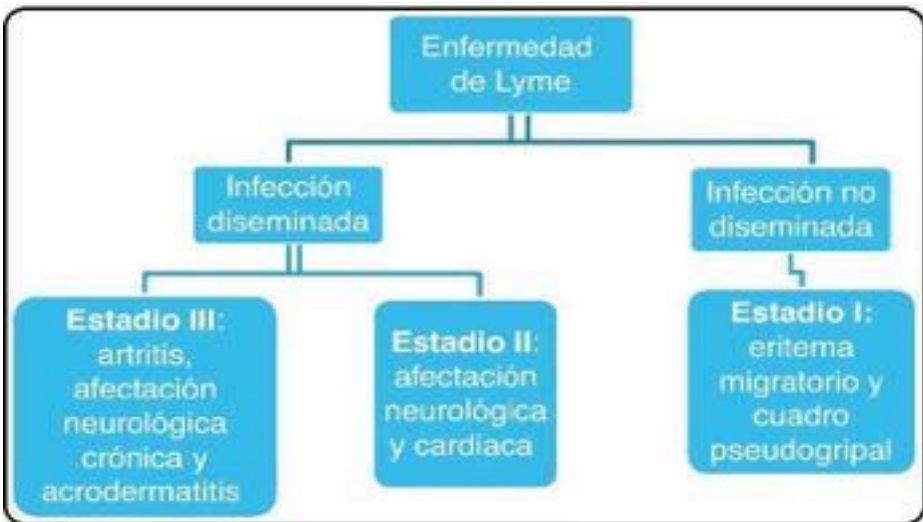
DEL LATIDU NORTE: Límite geográfico de la distribución de la garrapata Ixodes ricinus

PRESENCIA DE LA GARRAPATA Ixodes ricinus

- ALGUN CASO DE FIEBRE
- ENTRE 1 Y 49 CASOS DE FIEBRE
- MÁS DE 50 CASOS DE FIEBRE

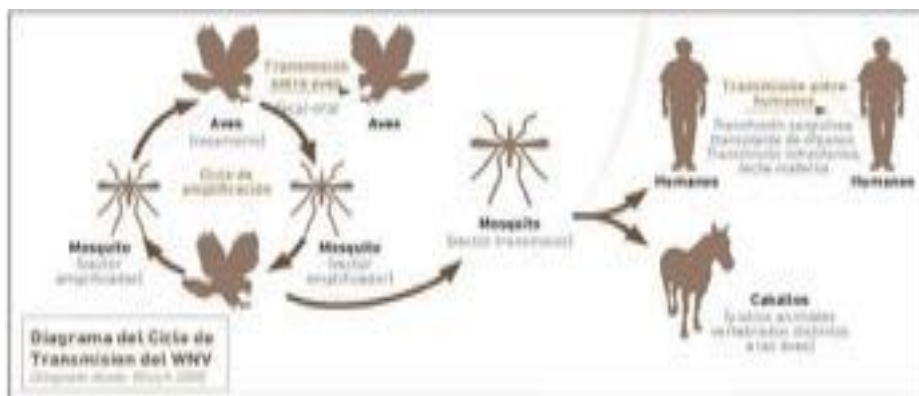
Fuente: WHO, 2004

* FIEBRE HEMORRÁGICA DE CREMERA-CONGO



2.9. Virus del Nilo Occidental

Se presenta como una zoonosis vírica emergente, susceptible de verse afectada por el cambio climático, ya que es transmitida por la picadura de mosquitos. En su ciclo participan animales silvestres (aves), domésticos (caballos) y el hombre. Se trata de un *Flavivirus* transmitido por mosquitos cuyo reservorio son ciertas aves. La infección accidental del humano o de otros vertebrados como el caballo puede transcurrir asintómicamente, producir cuadros febriles o evolucionar a encefalitis que en los casos más graves resultan fatales. Se descubrió en 1937 en Uganda y ha afectado en especial a países del entorno mediterráneo y a ciertas zonas asiáticas. Sin embargo, se consideraba un virus de escaso impacto sanitario hasta la década de los 90 en la que se produjeron importantes brotes en Argelia, Túnez, Rumanía, República Checa, Congo, Rusia e Israel. En 1999 apareció por primera vez en el continente americano. Desde ese momento la expansión por este continente ha sido continua afectando a la práctica totalidad de los estados de EEUU, Canadá, Méjico, Jamaica y otros países del entorno causando sólo en EEUU más de 8 000 casos humanos con más de 370 muertes.



Otro *Flavivirus* transmitido por mosquitos es el denominado *virus de Zika*, identificado por primera vez en macacos en Uganda en 1947. Cinco años después se encontraron casos humanos en ese mismo país y en la República Unida de Tanzania. Según la OMS, se han registrado brotes de enfermedad por este virus en África, América, Asia y Oceanía. Entre los años sesenta y los ochenta se detectaron infecciones humanas en África y Asia, generalmente acompañadas de una leve patología. El primer gran brote se registró en la Isla de Yap (Micronesia) en 2007. En julio de 2015 Brasil notificó una asociación entre la infec-

ción por el virus de Zika y el síndrome de Guillain-Barré, y en octubre del mismo año su asociación con la microcefalia (ver ANEXO).



XII. LOS ALIMENTOS COMO VECTORES DE PATÓGENOS

Un capítulo de gran importancia en el contexto general de las enfermedades emergentes es el dedicado a los alimentos de origen animal y a otros tipos de alimentos, incluyendo los vegetales, que también pueden servir de vehículo indirecto de agentes de enfermedades infecciosas emergentes. Desde este punto de vista, por tanto, ha de considerarse:

- Que los alimentos son una vía principal de emergencia de zoonosis.
- Que cualquier tipo de alimento puede estar implicado.
- Que todos los tipos de agentes son competentes en este propósito.
- Que la industria alimentaria, desde la producción al consumo, posee interés en cuanto a emergencia de la enfermedad y las zoonosis.

Los grandes avances industriales del siglo XX han permitido mayor bienestar y de forma indirecta mayor grado de salud en la población humana. Conseguir alimentos para todos ha sido y sigue siendo un objetivo de todos los países y de forma especial de agencias como la ONU y la FAO. En la mejora de los métodos de producción, procesado y transformación se han realizado avances espectaculares que han permitido abaratar la producción de alimentos básicos y de primera necesidad suministrando proteínas de alto valor biológico al ser humano. Tales cambios han propiciado también interrelaciones con la emergencia de enfermedades.

En cuanto a producción animal, se pueden producir cambios en la tecnología de los centros primarios de producción de alimentos, que influyen directamente sobre los este tipo de agentes. En la explotación, los sistemas de producción intensiva de mamíferos y aves, con sus modernos programas de manejo, facilitan la aparición de patógenos respiratorios y entéricos; la selección de razas de alta producción implica contrapartidas importantes en el aspecto sanitario por su mayor susceptibilidad a los agentes. El destete precoz, las ajustadas dietas y otras prácticas facilitan con frecuencia diversos problemas de salud en relación con algunas enfermedades infectocontagiosas.

Los residuos de las explotaciones animales, purines y aguas residuales, asimilan gran cantidad de nitrógeno y fósforo, que pueden contribuir al desplazamiento del oxígeno, a la eutrofización y a la aparición de algas tóxicas. Tales condiciones se han asociado con brotes de enfermedad en peces debidos a patógenos como *Pfiesteria piscicida* o simplemente producen mortalidad por reducción de los niveles de oxígeno en el agua de ríos, lagos o lagunas. Muchos microorganismos patógenos, presentes en los residuos de las explotaciones animales también representan un peligro desde el punto de vista de la seguridad alimentaria cuando se utilizan para el riego por aspersión o por inundación, de pastos o de huertas donde se producen vegetales de consumo humano en fresco, como se ha acreditado repetidas veces en el caso de *Cryptosporidium* spp., *Coccidioides* spp., *Giardia* spp., *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria* spp. o *Brucella* spp., todos los cuales tienen la condición de agentes de zoonosis. De igual modo, estos agentes y otros, han estado implicados en la contaminación de agua de abastecimiento humano o animal. La acuicultura es uno de los sectores de producción de alimentos con destino al hombre que más se ha desarrollado en los últimos años, esencialmente porque la pesca convencional ha alcanzado en muchos lugares el límite de su compatibilidad con la supervivencia de muchas especies de peces en su medio natural. A medida que se progresa en este tipo de producción intensiva se manifiestan procesos hasta ahora desconocidos, como las infecciones por *Aeromonas hydrophila* y otras oportunistas, que coinciden con situaciones de inmunodepresión.

En cuanto al procesado de alimentos, supone un estrés que condiciona la supervivencia de patógenos de transmisión alimentaria; sin embargo, pueden aparecer patógenos emergentes con capacidad de supervivencia a las condiciones del procesado. Cuando esto ocurre, el riesgo de contagio e infección puede sorprender a la población y causar brotes explosivos. Es muy conocido el uso de películas o envoltorios de

plástico en la comercialización de vegetales, setas crudas u otros alimentos como embutidos, salazones, etc. El ambiente anaeróbico interior favorece la germinación de endosporos de *Clostridium botulinum*.

1. Nuevos patógenos a tener en cuenta en seguridad alimentaria

A la lista de agentes patógenos habituales transmitidos por alimentos, entre los que se incluyen *Campylobacter jejuni* y *C. coli*, *Salmonella enterica* (*enteritidis* y *typhimurium*, fundamentalmente), *Escherichia coli* 0157:H7, *Listeria monocytogenes*, y algunos otros, se suman actualmente otros patógenos que se están descubriendo como potenciales agentes de zoonosis emergentes de transmisión alimentaria, incluyendo bacterias, hongos y virus.

Además de los anteriores, otros microorganismos, sospechosos de su relación con enfermedades de transmisión alimentaria, están siendo sometidos en la actualidad a vigilancia permanente. Se incluyen, por ejemplo, *Laribacter hongkongensis*, *Plesiomonas shigelloides*, que se relaciona con la posible presencia de una toxina preformada en huevos y pescados, *Streptococcus zooepidemicus*, implicado en un brote de enfermedad en el que se identificó el consumo de leche contaminada de la que se aisló el agente, *Streptococcus suis*, de los que se contabilizan ya un centenar largo de casos en los que se ha implicado el serotipo 2, incluso con mortalidad, *Campylobacter concisus*, *Hafnia alvei*, *Escherichia alberti*, *Helicobacter canadensis* y algunos más.

Los hongos no son ajenos a este problema, como sucede en el caso de *Penicillium nordicum*, aislado de carnes curadas y del que se han descrito variantes capaces de producir ocratoxina A, o de *Saccharomyces cerevisiae* (*S. boulardii*) asociado a preparaciones de probióticos de composición no definida con capacidad invasiva.

En el caso de los virus, las enfermedades de transmisión alimentaria están adquiriendo cada vez más protagonismo e interés. En general, el patrón de virus de origen animal, transmisible por alimentos, es un virus de tropismo entérico que infecta el epitelio intestinal y se elimina por heces y vómito en grandes cantidades, con una dosis infecciosa baja. Suele tratarse de virus estables en el medio ambiente y resistentes a los ácidos débiles.

2. Factores relacionados con la aparición de brotes alimentarios

Han sido reiteradamente puestos de manifiesto por distintos autores y agencias internacionales, como la OMS o la EFSA, y se refieren

a medidas de fácil aplicación que reducen o minimizan el riesgo o, todo lo contrario, cuando se aplican mal o no se aplican, incrementan sustancialmente las posibilidades de contagio por consumo de alimentos contaminados.

Se incluyen, por ejemplo, el enfriamiento inadecuado de los alimentos o lo que es lo mismo, su mantenimiento a temperaturas que facilitan la multiplicación de algunos agentes como sucede con salmonelas o listerias.

En segundo lugar, un cocinado inadecuado que no garantice un tratamiento térmico suficiente para la posible presencia de agentes patógenos y en la misma línea, un tiempo excesivo entre la preparación y el consumo, especialmente si las condiciones de mantenimiento no son adecuadas.

Es crítico, igualmente, el uso de alimentos crudos sospechosos de estar contaminados o de procedencia sin garantías sanitarias debidas (alimentos de origen animal no certificados por inspección veterinaria) que, además, pueden servir como fuente de contaminación para otros alimentos sanos, o los que ya han sido previamente preparados para el consumo.

Asimismo, una tendencia que se observa en los países desarrollados es al aumento del tamaño de las explotaciones, con la consecuente redefinición de la tierra cambiando el destino de bosques a tierras de labor y lo contrario, con un incremento y consolidación de la densidad de población animal que causa problemas indirectos en forma de residuos que generan poblaciones de roedores y otros vectores y reservorios de agentes patógenos. La experiencia de labores de deforestación y reforestación suponen, además del impacto ambiental consiguiente, la posibilidad del acceso humano a reservorios animales. En 1989 se identificó en Venezuela una enfermedad hemorrágica después de la transformación de bosques con destino a su uso agrario, lo que permitió que el ratón *Zygodontomys brevicaudata*, el probable reservorio del agente, entrara en contacto con el hombre transmitiéndoselo. La deforestación y la reforestación, que promueven cambios en el uso de la tierra son buenos ejemplos de impacto sobre el medio ambiente y permiten el acceso de reservorios animales, en particular animales silvestres, insectos, etc., al hombre o animales domésticos a los que trasladan agentes patógenos nuevos para ellos.

Por otro lado, el agua de abastecimiento puede ser el vehículo de algún tipo de bacterias con moderada resistencia al cloro, como sucede

en el caso de *Mycobacterium avium* o *Legionella pneumophila*, como se ha denunciado en las aguas municipales de Boston, donde se han descrito resultados de positividad tan altos como el 42% de las muestras estudiadas, o en el caso de *L. pneumophila*, que se transporta por aire y agua que, una vez multiplicada en algún reservorio como los termos caseros o en las torres de refrigeración, se transmite al hombre por vía respiratoria.

En definitiva, el perfil de las enfermedades infectocontagiosas resulta diferente según se consideren países desarrollados o en vías de desarrollo. Otras situaciones como los conflictos armados y las catástrofes naturales van unidos irremediablemente a las situaciones de hambruna; los campamentos de refugiados son auténticas incubadoras de enfermedades emergentes con brotes epidémicos de patologías diarreicas como el cólera, la disentería, enfermedades respiratorias como la tuberculosis o enfermedades transmitidas por vectores como la malaria.

3. Algunas intoxicaciones y toxiinfecciones de relevancia

3.1. Campilobacteriosis

Campylobacter jejuni es un microorganismo con forma de S o bacilar espiral, Gramnegativo, no esporulado, móvil, microaerófilo (5% de O₂ y 10% de CO₂), aunque algunas cepas crecen en anaerobiosis. No crece a temperaturas inferiores a 30°C y es sensible a la desecación, ambientes altamente oxigenados y al pH bajo.

El microorganismo no debería sobrevivir en alimentos que han alcanzado la temperatura de cocción idónea. Son sensibles a la radiación gamma (1 kGy).

Se destruye a valores de pH de 2,3. La congelación reduce el número de microorganismos de *Campylobacter* spp. en carne de ave contaminada. Sobrevive mejor en heces, leche, agua y orina a 4°C.

Numerosos animales actúan como reservorio de *C. jejuni*, entre estos conejos, roedores, pájaros salvajes, óvidos, caballos, bóvidos, cerdos, aves de corral y animales domésticos. Es aislado en muchas ocasiones de aguas, y del suministro público de agua, siendo por lo tanto el agua, las verduras y frutas contaminadas y el marisco una fuente de infección.

Las infecciones pueden presentarse desde cuadros asintomáticos a procesos muy graves. Los signos generalmente incluyen fiebre (más

de 39°C), cólicos abdominales (a veces el dolor es tan intenso que se confunde con un cuadro de apendicitis o peritonitis) y diarrea con o sin sangre que duran de varios días a 1 semana. A veces puede complicarse con otros cuadros como peritonitis, bacteriemia, infecciones urinarias, meningitis, endocarditis y el síndrome de Guillain-Barré. El periodo de incubación es de 2-5 días.

3.2. Salmonelosis

Las especies de *Salmonella* spp. son bacilos Gramnegativos, anaerobios facultativos que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*. Aunque la mayoría son móviles por disponer de flagelos peritricos, existen variantes no flageladas, como *S. pullorum* y *gallinarum*. Crecen a temperatura óptima de 37°C y catabolizan la glucosa y otros carbohidratos con producción de ácido y gas. Son oxidasa (-), catalasa (-) y ureasa (-). Producen SH2. Presenta antígenos somáticos, flagelares y capsulares, presentes sólo en los serotipos *typhi*, *paratyphi* y *dublin*. La especie más frecuente en toxiinfecciones alimentarias es *S. enteritidis*.

Según el Centro Colaborador de la OMS para la Referencia e Investigación de Salmonella, dentro de *Salmonella enterica* se incluyen 2.443 serotipos. Las especies de salmonella pueden adaptarse a condiciones ambientales adversas. Algunas pueden crecer a elevadas temperaturas (54°C) y otras muestran propiedades psicrotróficas (capaces de crecer en alimentos conservados entre 2-4°C). *Salmonella* spp. puede crecer durante largos periodos en alimentos almacenados congelados o a temperatura ambiente. Puede crecer en valores de pH de 4,5 y 9,5, con un pH óptimo de crecimiento de 6,5-7,5. Los ácidos propiónico y acético son más bactericidas que los ácidos láctico y cítrico comúnmente asociados con los alimentos.

En numerosos países la carne de pollo y los huevos son los principales reservorios de *Salmonella* spp. Esto eclipsa la importancia de las carnes procedentes de otros animales (cerdo, ternera, cordero) como potenciales vehículos de infección. Recientemente las frutas y verduras han ganado notoriedad como vehículos de transmisión de la salmonelosis humana, sobre todo las importadas de países tropicales o subtropicales, ya que las condiciones higiénicas durante las fases de producción, cosecha y distribución, no siempre cumplen los mínimos estándares y facilitan la contaminación del producto.

La salmonelosis puede conllevar diferentes condiciones clínicas, que incluyen fiebre entérica, enterocolitis sin complicaciones e infec-

ciones sistémicas por microorganismos no tifoideos. La enfermedad generalmente es autolimitante y se caracteriza por fiebre alta, náuseas y/o vómitos, dolores abdominales y diarrea no sanguinolenta durante unos 5 días. A veces, la enfermedad se complica con infecciones sistémicas y precipita en cuadros crónicos como la artritis reactiva aséptica, el síndrome de Reiter y la espondilitis anquilosante.

3.3. Yersiniosis

El género *Yersinia* consta de once especies y está clasificada en la familia *Enterobacteriaceae*. Son Gram-negativos, oxidasa (-) y anaerobios facultativos que fermentan la glucosa. Las 4 especies patógenas conocidas son *Y. pestis*, el agente causante de la peste bubónica y pneumónica (“muerte negra”); *Y. pseudotuberculosis*, patógeno de roedores que ocasionalmente causa enfermedades en el hombre; *Y. ruckeri*, que afecta a peces de agua dulce; *Y. enterocolitica*, patógeno intestinal que es la especie más prevalente en humanos.

Estas bacterias pueden crecer a temperaturas inferiores a 4°C. Soportan fácilmente la congelación y pueden sobrevivir en alimentos congelados durante largos periodos de tiempo incluso después de repetidos procesos de congelación y descongelación. Pueden crecer a temperaturas de refrigeración en carne envasada al vacío, huevos hervidos, huevos líquidos pasteurizados, leche entera pasteurizada, pescado hervido y productos del mar refrigerados, tales como ostras, gambas crudas y cangrejo cocido. También pueden crecer en verduras refrigeradas y en el queso “cottage”.

Los subgrupos de *Y. enterocolitica* han sido aislados del tracto intestinal de los animales domésticos y del hombre. Se considera una zoonosis. Las infecciones con *Y. enterocolitica* manifiestan diarrea, no específica, autolimitante, aunque pueden derivar hacia variedad de enfermedades autoinmunes (artritis, eritema nudoso, uveítis, glomerulonefritis y tiroiditis). Otras enfermedades menos comunes sería la aparición de septicemia, abscesos viscerales, pulmonía, endocarditis, osteomielitis, meningitis, infecciones oculares.

En niños mayores de 5 años, la yersiniosis aguda con frecuencia causa dolor abdominal que es confundido con apendicitis (conocido como síndrome pseudoapendicular). Puede acompañarse de fiebre con o sin diarrea.

3.4. Colibacteriosis

Escherichia coli es un bacilo Gram-negativo, móvil con antígeno capsular, somático y flagelar, aunque para serotipificar las cepas diarreicas se considera únicamente necesaria la determinación de los antígenos O y H. Es lactosa (+) y oxidasa (-). Las cepas diarreogénicas pueden clasificarse en 6 grupos:

- ECEP (enteropatógena). Puede causar diarrea grave en bebés, especialmente en países en desarrollo. Los principales serotipos incluyen O55, O86, O111ab, O125ac, O126, O127, O128ab y O142. Los humanos son un reservorio importante. Inducen lesiones en las células donde se adhieren y pueden invadir células epiteliales. Se caracteriza por producir diarrea, malestar general, vómitos y a menudo fiebre.
- ECET (enterotoxigénica). Es una de las principales causas de diarreas infantiles en países en desarrollo. También es la bacteria más frecuente en la diarrea del viajero. Coloniza el intestino delgado, se adhiere mediante fimbrias y produce enterotoxinas lábiles o estables al calor que causan acumulación de fluidos y diarrea. Los serotipos más frecuentes son O6, O8, O15, O25, O27, O128, O159 y O167. Los humanos son el reservorio principal de cepas ECET causantes de enfermedades en el hombre
- ECEI (enteroinvasiva). Causa diarrea sin sangre y disentería similar a la causada por especies de *Shigella*, invadiendo y multiplicándose en el interior de las células intestinales. Al igual que en *Shigella* spp., la capacidad invasiva está asociada con la presencia de un plásmido. El principal sitio de localización es el colon, donde los microorganismos invaden y crecen en las células epiteliales, causando la muerte celular. Los humanos son un gran reservorio. Los serotipos más frecuentes son O28ac, O29, O112, O124, O143, O144, O152, O164 y O167, siendo el O124 el encontrado más frecuentemente.
- ECAD (adherentes difusa). Se han asociado a diarreas suaves sin sangre. Generalmente no producen enterotoxinas termolábiles o termoestables, ni elevadas cantidades de *Stx* (shigatoxinas). Se presentan en niños pequeños, principalmente de 1-5 años. Los serotipos más importantes son O1, O2, O21, y O75.
- ECEA (enteroagregativa). Está relacionada con diarrea persistente en bebés y niños en varios países del mundo. Se caracterizan por su

capacidad para producir un característico patrón de adherencia agregativa en las células HEp-2, dando a éstas la apariencia de una pila de ladrillos. Los serotipos más importantes son O3, O15, O44, O77, O86, O92, O111 y O127. Se ha desarrollado una sonda genética derivada de un plásmido asociado a cepas ECEA que permite identificar las cepas de este tipo.

- ECEH (enterohemorrágica). Fueron reconocidas por primera vez como patógeno humano en 1982, cuando *E. coli* O157:H7 fue identificada como causante de 2 brotes de diarrea sanguinolenta. Este serotipo es la principal causa de enfermedades asociadas con ECEH en USA y otros países. Todas las cepas ECEH producen factores citotóxicos (mortales) para las células de riñón de mono verde africano (células vero), motivo por el que son conocidas como Verotoxinas por su similitud con las *Stx* producidas por *Shigella dysenteriae*. Las infecciones de *E. coli* productoras de *Stx* se relacionan con el síndrome urémico hemolítico (SUH) una condición grave, que en ocasiones resulta mortal. Los principales serotipos distintos a O157:H7 incluyen O26:H11, O111:H8, y O157:HM.

3.5. Shigelosis

Las especies de *Shigella* spp. causan la disentería bacilar. Disentería fue el término utilizado por Hipócrates para describir una enfermedad caracterizada por deposiciones frecuentes con sangre y mucosidad, acompañada de cólicos abdominales dolorosos. Los asedios militares prolongados casi siempre han acabado con brotes de disentería, causando gran número de bajas civiles y militares. Con las bajas dosis infectivas requeridas para causar enfermedad asociada a la transmisión oral por agua y alimentos contaminados fecalmente, no sorprende que la disentería causada por *Shigella* spp. ocurra a continuación de numerosos desastres naturales (terremotos, inundaciones, hambre) y causados por el hombre (guerras). Una de las características que destacan de los brotes de shigelosis transmitidos por alimentos es que la contaminación de los mismos generalmente no sucede en la planta de procesado, sino que la causan manipuladores infectados.

El género *Shigella* spp. incluye cuatro especies, agrupadas serológicamente (41 serotipos) según los antígenos somáticos (O): *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei*. Como miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, son genéticamente casi idénticas a *E. coli* y muy próximas a *Salmonella* spp. Presentan la particularidad de su incapaci-

dad de fermentar lactosa. No producen SH2 a excepción de *S. flexneri*. *E. coli* enteroinvasiva presenta propiedades patogénicas y bioquímicas similares a *Shigella* spp., lo que crea problemas para distinguir estos patógenos.

Las especies de *Shigella* spp. tienen la capacidad de invadir las células epiteliales intestinales, de multiplicarse intracelularmente y de propagarse de célula a célula. La producción de enterotoxinas en intestino delgado probablemente sea la causa de la diarrea que precede a la disentería. La toxina es termolábil, conocida como shigatoxina. Las cepas virulentas son invasivas cuando crecen a 37°C, pero son no invasivas si crecen a 30°C. Los genes responsables de la virulencia están localizados en un plásmido de virulencia.

En el caso de alimentos, la causa de contaminación es la insuficiente higiene personal de los manipuladores (“enfermedad de las manos sucias”). El almacenamiento inadecuado de alimentos contaminados es el segundo factor que contribuye a los brotes de shigelosis. Otros factores que contribuyen son la cocción inadecuada, equipo contaminado y los alimentos procedentes de fuentes no seguras.

La shigelosis se diferencia de otras toxiinfecciones alimentarias por dos características importantes: la producción de diarrea sanguinolenta o disentería y la baja dosis de infección. La enfermedad se presenta con mayor frecuencia en los niños de menos de 6 años. La disentería va acompañada de dolor abdominal y rectal severo, cólicos y fiebre. La shigelosis es autolimitante. En caso de no ser tratada, la clínica persiste durante 1-2 semanas y el enfermo se recupera.

3.6. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus está considerado como un patógeno menor de transmisión alimentaria, aunque cada vez tiene mayor importancia. Si en EEUU la prevalencia de las intoxicaciones por este microorganismo no supera el 2%, en Europa la prevalencia es de hasta un 30%. El microorganismo produce dos toxinas. Las células que crecen en el alimento producen una toxina emética, inductora de vómitos, que puede actuar rápidamente (0,5-6 horas). Mientras tanto, las células de *B. cereus* en crecimiento vegetativo en el intestino delgado producen una enterotoxina, que causa diarrea, cólicos y tenesmo fecal y actúa más lentamente (6-14 horas). Este microorganismo no compete bien con otras células competitivas. Pero cuando se cocinan los alimentos y se destruyen las otras células, las esporas de *B. cereus* sobreviven y pueden causar la

enfermedad. Los brotes están asociados al consumo de carnes, arroz, pasta, salsas y productos lácteos.

B. cereus es esporulado, Gram-positivo y algunas cepas son móviles mediante flagelos peritricos. Los requerimientos nutricionales son simples, de ahí que comúnmente estén asociados con alimentos ricos en almidón como el arroz. La mayoría de las cepas son incapaces de crecer a menos de 10°C, no obstante existen algunas cepas psicrotolerantes. Que crecen a temperaturas de 4-6°C.

Se halla ampliamente distribuido por la naturaleza y se aísla frecuentemente de suelos y plantas. Desde estos ambientes se propaga fácilmente a los alimentos por contaminación cruzada. Es especialmente problemático en los productos lácteos, ya que las esporas presentes en el suelo, se propagan hasta las ubres de las vacas y a la leche cruda. Las esporas pueden sobrevivir a la pasteurización y después de germinar, causan problemas en numerosos productos lácteos. La naturaleza psicrotrofa de *B. cereus* empeora aún más la situación. Afortunadamente, las proteasas de *B. cereus* causan mal olor. Se supone que este factor es lo que evita que los consumidores beban leche contaminada.

Las informaciones epidemiológicas indican que entre los factores más importantes relacionados con la aparición de brotes de intoxicaciones alimentarias se encuentran las operaciones inadecuadas que se efectúan luego de la cocción, por ejemplo si el enfriamiento es demasiado lento permitiendo que algunas partes del alimento mantengan temperaturas peligrosas entre 10°C y 60°C, por más de 4 horas. También el recalentamiento debe ser rápido para que el alimento pase por la franja de temperaturas peligrosas entre 10°C y 60°C en el menor tiempo. El mantener los alimentos en esta franja de temperaturas constituye un punto crítico.

3.7. Clostridiosis

Las toxiinfecciones por *C. perfringens* tipo A son una de las más frecuentes enfermedades de transmisión alimentaria. Los grandes brotes por *C. perfringens* tipo A generalmente ocurren en instituciones en las que normalmente se prepara la comida con mucha antelación y después la conservan hasta servirla a temperatura ambiente. Esto permite el crecimiento de este microorganismo.

C. perfringens es incapaz de producir 13 de los 20 aminoácidos que requiere para crecer y sobrevivir. Esto convierte a los alimentos

ricos en proteínas en los vectores habituales (carne y aves). Otros productos ricos en proteína como salsas, estofados, conservados a altas temperaturas son vehículos importantes.

Las enfermedades producidas por *C. perfringens* son el resultado de una exposición a altas temperaturas durante el enfriamiento o la conservación de las comidas. Su óptimo de crecimiento a 43°C le da ventaja sobre otros patógenos mesófilos en alimentos. Las células vegetativas de *C. perfringens* son relativamente tolerantes al calor, pero aún más importante son las esporas que toleran temperaturas mucho más altas. El cocinado incompleto puede inducir la germinación de esporas que han sobrevivido al calentamiento. Si el alimento es enfriado inadecuadamente, las células vegetativas producidas a partir de las esporas pueden multiplicarse rápidamente.

Cocinar minuciosamente los alimentos es el mejor método de prevenir las enfermedades de transmisión alimentaria producidas por *C. perfringens*. Esto es particularmente importante para los grandes asados, pavos y pollos. A causa de su tamaño puede ser difícil alcanzar la temperatura interna necesaria para destruir las esporas. Esto explica porque estos alimentos están muy implicados en la aparición de estas toxiinfecciones. Un segundo e incluso más importante paso preventivo es enfriar rápidamente y conservar los alimentos cocinados a temperaturas en las cuales las células vegetativas no pueden crecer (inferiores a 4°C o superiores a 60°C).

Es una bacteria Gram-positiva, baciliforme, encapsulada y no móvil que causa un amplio espectro de enfermedades en el hombre y animales. Se considera anaerobio, pero tolera una moderada exposición al aire. Produce dos toxinas activas, por un lado la enterotoxina, y por otro, la β -toxina; son patógenas en el intestino del hombre.

Clostridium perfringens tiene la habilidad de crecer rápidamente, doblando su número en menos de 10 minutos. La enteritis necrótica está causada por el tipo C que produce la β -toxina. La toxiinfección alimentaria por el tipo A está causada por la enterotoxina.

Los síntomas de la toxiinfección por *C. perfringens* tipo A se desarrollan entre 8 y 16 horas desde la ingestión del alimento contaminado. Duran aproximadamente entre 12 y 24 horas. Aparecen diarreas y cólicos abdominales severos. No son típicos ni los vómitos ni la fiebre. La intoxicación por *Bacillus cereus* por la toxina diarreica presenta una

sintomatología y un periodo de incubación muy similar al de *C. perfringens*.

Datos comparativos de intoxicaciones alimentarias (<i>Cl. perfringens</i> , <i>B. cereus</i> , <i>St aureus</i>)				
	<i>B. cereus</i>			
	<i>Cl. perfringens</i>	S. diarreico	S. emético	<i>St. aureus</i>
Sintomas (horas)	8-22	8-6	1-5	2-6
Duración (horas)	12-24	12-24	6-24	6-24
Diarrea, dolor abd.	Predominante	Predominante	Poco común	Común
Náuseas, vómit.	Raro	Ocasional	Predominante	Predominante
Patogénesis	Tox. elab. intest.	Tox. alim. Intes. delg.	Tox. elab alim.	Tox. elab. alim.
Alim. involuc.	Carne cocida, aves	Prod. cárnicos, sopas, salsas, veget., etc	Arroz cocido y pasta	Carne cocinada enfriada, pollo, lácteos

3.8. Botulismo

El botulismo tradicionalmente se asocia con alimentos enlatados, generalmente elaborados en el hogar. Existen también otros dos tipos de botulismo que son el del lactante y el de las heridas.

Clostridium botulinum es un bacilo Gram-positivo que sobrevive en suelos y sedimentos marinos por medio de la formación de esporas. Es anaerobio. Las endosporas ovales se forman en cultivos en fase estacionaria. Existen 7 tipos de toxinas (de la A-G) distintas antigénicamente. El botulismo humano está asociado a la toxina A, B, E y muy raramente, F. Los tipos C y D causan el botulismo en animales. Hasta el momento no se ha relacionado el tipo G con ninguna enfermedad.

El procesado térmico inactiva las esporas y es el método más común en la producción de alimentos estables durante el almacenamiento. En productos de carne curada, el nitrito inhibe el crecimiento de *C. botulinum*. Otros agentes activos contra *C. botulinum* son EDTA, sorbatos, ascorbatos, polifosfatos, antioxidantes fenólicos, fumaratos y sales de lactato. Las esporas de *C. botulinum* probablemente sean las

esporas más resistentes a la radiación, necesitando entre 2-4,5 kGy en alimentos.

La contaminación de los alimentos depende de la incidencia ambiental de *C. botulinum*. Es común en suelos y sedimentos, aunque su cantidad y tipo varía dependiendo de la situación geográfica. Las esporas de *C. botulinum*, habitualmente del tipo A y B, pueden contaminar frutas y verduras, particularmente aquellas en contacto con el suelo. Algunos productos donde frecuentemente se detecta contaminación son espárragos, judías, coles, zanahorias, apio, maíz, cebollas, patatas, melocotones, tomates y cerezas. No se relaciona a la leche con el botulismo, ya que la lisozima y el ácido caproico impiden la formación de toxina.

En cuanto a la enfermedad el botulismo transmitido por alimentos puede variar desde una enfermedad suave, que puede pasar desapercibida o erróneamente diagnosticada, a una enfermedad grave que puede resultar mortal en un solo día. Los síntomas aparecen entre 12-36 horas después de la ingestión de la neurotoxina, aunque pueden aparecer a las pocas horas e incluso hasta en 14 días. Cuanto antes aparezcan los síntomas más grave será la enfermedad. Generalmente los primeros síntomas son náuseas y vómitos, seguidos de signos y síntomas neurológicos, incluyendo discapacidad visual (visión borrosa o doble, ptosis, pupilas dilatadas y fijas), pérdida de las funciones normales en boca y garganta (dificultades en el habla, disfagia, sequedad), fatiga general y falta de coordinación muscular y dificultad respiratoria. El fallo respiratorio y la obstrucción de las vías aéreas son las principales causas de la muerte. La disponibilidad de antisuero y de los modernos sistemas de soporte respiratorio ha hecho disminuir la tasa de mortalidad a aproximadamente el 10%.

3.9. Listeriosis

Durante los últimos 25 años, la listeriosis se ha convertido en una de las principales enfermedades de transmisión alimentaria. El primer brote fue en 1981 a causa de una ensalada de col. Los brotes fueron rápidamente asociados con quesos, fiambres leche, pollo empanado y pescado.

La enfermedad es esporádica y rara, pero grave. Puede causar meningitis, septicemia y abortos. Del 20-30% de las personas que padecen listeriosis mueren y transcurre considerable tiempo entre la ingestión del alimento y la aparición de la enfermedad.

Es un organismo ampliamente distribuido, resistente a las condiciones ambientales adversas, psicrotrofo y crece en los fagocitos humanos. Sobreviven en alimentos durante mucho tiempo. También sobreviven en suelos, plantas y agua. Es por lo que *Listeria* spp. es una de las grandes preocupaciones de la industria alimentaria.

El nombre de *Listeria* spp. recibe su nombre en honor al inventor de la desinfección médica, Joseph Lister. Es un bacilo Gram-positivo, no esporulado, no capsulado, móvil por contener flagelos peritricos, anaerobio facultativo, catalasa y oxidasa negativo. Su temperatura óptima de crecimiento es de 30-37°C. *Listeria monocytogenes* es una de las 6 especies del género *Listeria*.

Únicamente ésta y *L. ivanovii* son patógenas. Algunas características para la identificación de *L. monocytogenes* es la capacidad de lisar glóbulos rojos y su crecimiento en agar cromogénico "Oxoid". Los test rápidos basados en las características genéticas o inmunológicas identifican las listerias a nivel de género o especie.

El peligro de las listerias es que son ubicuas, encontrándose en suelos, plantas en descomposición, excrementos, aguas residuales y en especies animales y en el hombre. Crece en medios de cultivo de laboratorio a pH tan bajos como 4,4. A pH inferiores las células pueden sobrevivir, pero no crecen.

L. monocytogenes crece en grandes cantidades a concentraciones de sal moderadas (6,5%). Incluso es capaz de crecer en presencia de 10-12% de NaCl. La bacteria sobrevive durante largos periodos a concentraciones superiores de sal. Así pues las carnes curadas (perritos calientes, mortadela y jamón) son ambientes muy propicios para el crecimiento de listerias.

Algunos alimentos listos para comer (quesos blandos, salchichas, charcutería y productos avícolas) suponen un riesgo elevado de listeriosis para las poblaciones susceptibles. Debido a que la refrigeración casera en muchos casos se encuentra alrededor de 10°C, se ofrece un ambiente donde *Listeria* puede competir con éxito contra los patógenos mesófilos.

La pasteurización de la leche reduce el número de listerias hasta niveles que no suponen ningún riesgo para la salud del consumidor. Sin embargo *Listeria* spp. crece bien en la leche pasteurizada, pudiéndose alcanzar cantidades muy elevadas en una semana a temperatura de re-

frigeración. La contaminación post-procesado por bacterias presentes en el ambiente crea una gran preocupación. El aumento de temperatura post-procesado podría agravar aún más el problema.

L. monocytogenes sobrevive a la elaboración y maduración del queso gracias a su resistencia a la temperatura, a la capacidad de crecer en frío y a su tolerancia a la sal. Durante la elaboración, *Listeria* spp. se concentra en la cuajada del queso. Durante la maduración del queso, puede crecer en el queso “Camembert”, morir gradualmente en los quesos “Cheddar”, o disminuir rápidamente durante la maduración temprana para después estabilizarse, como ocurre con el queso azul. Para las personas sensibles, el consumo de quesos blandos es un factor de riesgo de listeriosis. El requesón, los quesos madurados un mínimo de 2-3 meses y el yogur son alimentos seguros.

L. monocytogenes crece mejor en carne de aves que en otras carnes. El embutido permite un menor crecimiento. El microorganismo puede contaminar la carne antes del sacrificio o bien contaminar la canal. Las células de *Listeria* spp. se adhieren a la superficie de carnes crudas siendo difícil eliminarlas o destruirlas. *Listeria monocytogenes* crece bien en carnes envasadas al vacío a pH próximos a 6. Existe poco o ningún crecimiento alrededor de pH 5. No olvidar que las carnes curadas pueden resultar peligrosas por la alta tolerancia a la sal de las listerias.

L. monocytogenes ha sido aislada de productos del mar, incluidos crustáceos, marisco y pescado ya sean frescos, congelados o procesados. Es fundamental el tratamiento por el calor de estos productos para evitar la enfermedad. Cuidado con el pescado crudo, marinado, fermentado y ahumado en frío.

Puede también aislarse de numerosas verduras, patatas, ensaladas envasadas y tomates. *Listeria monocytogenes* entra en las plantas de procesado de alimentos con la tierra de los zapatos de los trabajadores, con la ropa y con los vehículos. También entra en tejidos animales y vegetales infectados y en portadores humanos. Normalmente las condiciones de humedad y los nutrientes existentes en estas plantas promueven su crecimiento. Normalmente se detecta en áreas húmedas de la planta como desagües, agua condensada y estancada, suelos, residuos y en el equipamiento. Asimismo, *Listeria* spp. se adhiere a las superficies, incluyendo el acero inoxidable, vidrio y la goma.

L. monocytogenes llega a la canal por contaminación fecal durante la matanza. Un alto porcentaje de animales sanos (11-52%) son

portadores fecales. Existen portadores asintomáticos en la población (ha sido aislada del 2-6% de individuos sanos). En individuos enfermos se excretan grandes cantidades del microorganismo por las heces. Estos portadores fecales facilitan la transmisión de la primera víctima (por consumo de alimentos) a otros individuos (transmisión secundaria).

En cuanto a la enfermedad, *Listeria monocytogenes* afecta a personas en grupos de riesgo bien definidos. Estos incluyen mujeres embarazadas, recién nacidos y adultos inmunodeprimidos. Ocasionalmente aparecen casos en individuos sanos. En adultos causa septicemia, meningitis y meningoencefalitis, con una tasa de mortalidad del 20-25%. Las condiciones clínicas que predisponen a la listeriosis incluyen el cáncer, trasplantes, terapia inmunosupresora, edad avanzada, etc. Las mujeres embarazadas, especialmente al tercer trimestre, pueden experimentar síntomas parecidos a la gripe; también causa abortos.

3.10. Estafilococosis

Este proceso gastroentérico está causado por el consumo de alimentos que contienen toxinas estafilocócicas producidas en el alimento contaminado, no requiriendo el crecimiento microbiano en la víctima. De hecho, se han dado casos causados por alimentos donde el microorganismo había sido destruido, pero las toxinas permanecían allí. La toxina estafilocócica es única porque no se destruye ni por el calor ni por el enlatado.

Los estafilococos son bacterias Gram-positivas, esféricas, catalasa (+), pertenecen a la familia *Micrococcaceae*. Casi todas las intoxicaciones se deben a *S. aureus*. Es coagulasa (+), tiene actividad hemolítica y fermenta el manitol. Produce múltiples toxinas que pueden ser diferenciadas mediante tests inmunológicos. Las enterotoxinas se nombran con una letra según el orden de su descubrimiento. La enterotoxina A, B, C, D y E son las principales. Las enterotoxinas son producidas en pequeñas cantidades durante casi toda la fase de crecimiento exponencial. La cantidad producida depende de la cepa; B y C son las producidas en mayores cantidades, hasta 350 microgramos/ml.

Los humanos son el principal reservorio de *S. aureus*. Son portadores naturales y propagan los estafilococos a otros individuos y alimentos. El principal sitio de colonización es el interior de la nariz, también se halla presente en la piel. Se propaga por contacto directo, a través de la piel, o en las minúsculas gotas que se producen al toser o estornudar. La mayoría de las intoxicaciones alimentarias por *S. aureus* se

deben a alimentos contaminados por humanos durante su preparación. Los animales son también fuente de *S. aureus*. Es uno de los patógenos no esporulados más resistentes. Generalmente, los afectados se recuperan en 24-48 horas y no necesitan ir al médico. La intoxicación alimentaria por estafilococos es autolimitante; causa vómitos después de un periodo de incubación muy corto (1-8 horas), aunque no siempre aparecen. Otros síntomas que pueden aparecer son náuseas, cólicos abdominales, diarrea, dolor de cabeza y postración, sin fiebre.

3.11. Vibriosis

Aproximadamente 20 especies de *Vibrio* han sido identificadas hasta hoy. Al menos 12 son capaces de causar infección en humanos, aunque a excepción de *Vibrio cholerae* y *V. parahaemolyticus*, se conoce poco sobre los mecanismos de virulencia que utilizan. Uno de los aspectos más consistentes de las infecciones por vibrios es el consumo de productos del mar. Los vibrios están asociados con una gran variedad de productos marinos. Aproximadamente el 40-60% del pescado presente en los supermercados contiene especies de *Vibrio*, siendo *V. parahaemolyticus* y *V. alginolyticus* los aislados con más frecuencia. Durante los meses de verano, se aíslan vibrios con frecuencia en moluscos.

Generalmente, los vibrios son sensibles al frío y los productos del mar pueden protegerse por tanto si están refrigerados. El procesado térmico es un método efectivo de reducir la carga microbiana. El proceso de depuración, mediante el cual los moluscos filtradores son purificados por bombeo de agua a través de sus tejidos, elimina *Salmonella* spp. y *E. coli*, pero no *Vibrio* spp.

Las gastroenteritis causadas por *V. parahaemolyticus* están relacionadas con el consumo de pescado o marisco consumido crudo, cocido inadecuadamente o cocido y re-contaminado. La patencia puede empezar de 4 a 30 horas tras ingerir el alimento contaminado, con un promedio de 24 horas. Los síntomas iniciales incluyen diarrea y cólicos abdominales, además de náuseas, vómitos y fiebre. En la mayoría de los individuos los síntomas remiten en 3-5 días.

V. vulnificus es muy patógeno y aunque es frecuente en zonas costeras de países templados, no es frecuente en nuestras costas, por la temperatura de sus aguas y por la salinidad del mediterráneo. En EEUU es la causa principal de muertes registradas por enfermedades de transmisión alimentaria. Es frecuente la presentación de septicemias por

consumo de ostras crudas con una mortalidad del 60%. Puede causar también una necrosis de tejidos en heridas infectadas contaminadas con agua de mar. La enfermedad por consumo de ostras se caracteriza por un periodo de incubación de entre 7 horas y varios días, con fiebre, escalofríos, náuseas e hipotensión. Sorprendentemente, los síntomas gastroentéricos (dolor abdominal, vómitos y diarrea) son poco comunes. En casos graves, la supervivencia depende de la rápida administración de antibióticos.

V. cholerae O1 causa el cólera, una de las escasas enfermedades de transmisión alimentaria con potencial epidémico y pandémico. *V. cholerae* forma parte de la flora bacteriana normal y de vida libre de las aguas de estuario. Las infecciones humanas se producen por ingestión de marisco crudo o poco cocido. La enfermedad que se caracteriza por una diarrea explosiva y deshidratante ocurre únicamente en una minoría de las personas infectadas con *V. cholerae* O1/O139 productoras de toxina colérica. La mayor parte de las infecciones son suaves o incluso asintomáticas. El periodo de incubación varía de varias horas a 5 días. El comienzo de la enfermedad suele ser súbito, con diarrea acuosa, dolor abdominal y pérdida de apetito. Inicialmente, la deposición es marrón con material fecal, pero cuando empieza la diarrea, pasa a ser de color grisáceo pálido y con ligero olor a pescado. Unas horas después de la diarrea pueden presentarse vómitos.

Otros vibrios han sido encontrados en aguas salobres y marinas, y en pescados y mariscos. Entre estos tenemos *V. furnissii*, *V. hollisae*, *V. alginolyticus* -que se encuentra en grandes cantidades en aguas y productos del mar de todo el mundo-. Sin embargo, las infecciones por estos vibrios son poco frecuentes y generalmente menos graves que por los patógenos discutidos anteriormente.

XIII. LA SALUD LABORAL

El concepto de Salud Laboral queda englobado dentro del epígrafe de “Prevención de Riesgos Laborales”. En éste hay dos ramas:

- Área sanitaria, con la especialidad de Medicina del Trabajo.
- Área técnica, con tres especialidades: seguridad laboral, higiene industrial y ergonomía y psicología aplicada.

La Organización Internacional del Trabajo (OIT) y la OMS definen la Salud Laboral como una actividad que “*tiene como finalidad*

fomentar y mantener el más alto nivel de bienestar físico, mental y social de los trabajadores de todas las profesiones, prevenir todo daño a la salud de éstos por las condiciones de trabajo, protegerlos en su empleo contra los riesgos para la salud y colocar y mantener al trabajador en un empleo que convenga a sus aptitudes psicológicas y fisiológicas”.

El trabajo no se considera neutro en relación con la salud. Se admiten dos tipos de influencias:

- Negativas: el trabajo puede producir daños para la salud (accidentes, enfermedades profesionales, etc.). Todas aquellas circunstancias negativas que rodean al trabajo y que pueden dar lugar a daños para la salud de los trabajadores se consideran como condiciones de riesgo siendo el objetivo fundamental de la prevención de riesgos laborales controlar o eliminar los riesgos asociados.
- Positivas: el trabajo favorece el desarrollo psicosocial.

1. Conceptos relacionados

Se conoce por Prevención de Riesgos Laborales al *“conjunto de actividades o medidas adoptadas o previstas en todas las fases de actividad de la empresa con el fin de evitar o disminuir los riesgos derivados del trabajo, antes de que éstos puedan materializarse en daños para la salud de los trabajadores”.*

La Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales, define el riesgo laboral como “la posibilidad de que un trabajador sufra un determinado daño derivado del trabajo”; además, para calificar el riesgo desde el punto de vista de su gravedad, “se valorará conjuntamente la probabilidad de que se produzca el daño y la severidad del mismo”. Asimismo, considera como daños derivados del trabajo a *“las enfermedades, patologías o lesiones sufridas con motivo u ocasión del trabajo”.*

Por otro lado, el accidente de trabajo puede considerarse como un suceso no deseado que se presenta de forma brusca e inesperada y que interrumpe la normal continuidad del trabajo, causando lesiones a los individuos. *La Ley General de la Seguridad Social* lo define como *“toda lesión corporal que el trabajador sufra con ocasión o por consecuencia del trabajo que ejecute por cuenta ajena”.* Esta definición se centra en el aspecto de lesión corporal y amplía el concepto a los acci-

dentes ocurridos durante el desplazamiento del domicilio al lugar de trabajo (*in itinere*), durante el desempeño de cargos sindicales o cumpliendo órdenes en interés de la empresa, y recoge también como accidentes de trabajo las enfermedades del trabajo, las patologías previas agravadas por el accidente y las lesiones que el trabajador sufra durante el tiempo y en el lugar de trabajo. El incidente sería un suceso tampoco deseado que, no habiendo producido daño alguno, bajo otras circunstancias podría haber devenido en un accidente. Tradicionalmente las causas que dan lugar a los accidentes se pueden resumir en aquéllas motivadas por condiciones peligrosas o factores derivados del trabajo en sí mismo y las debidas a actos inseguros del propio trabajador.

Enfermedad profesional es *“aquella contraída a consecuencia del trabajo ejecutado por cuenta ajena en las actividades que se especifique en el cuadro que se aprueba por las disposiciones de aplicación y desarrollo de la ley, y que esté provocada por la acción de los elementos o sustancias que en dicho cuadro se indique para toda enfermedad profesional”*. Con la entrada en vigor del *Real Decreto 1299/2006, de 10 de noviembre*, por el que se aprueba el nuevo cuadro de enfermedades profesionales en el sistema nacional de la Seguridad Social y que regula el procedimiento para su notificación y registro, se derogaba el de 1978. Como diferencias significativas, el actual incluye la adopción de la lista europea de enfermedades profesionales (*Recomendación 90/326/UE y Recomendación 2003/670/UE*). El cuadro oficial incluye seis grupos de enfermedades, que son:

- Grupo I → Enfermedades profesionales causadas por agentes químicos.
- Grupo II → Enfermedades profesionales causadas por agentes físicos.
- Grupo III → Enfermedades profesionales causadas por agentes biológicos.
- Grupo IV → Enfermedades profesionales causadas por inhalación de sustancias y agentes no comprendidos en otros apartados.
- Grupo V → Enfermedades profesionales de la piel causadas por sustancias y agentes no comprendidos en alguno de los otros apartados.
- Grupo VI → Enfermedades profesionales causadas por agentes carcinogénicos.

No es lo mismo enfermedad profesional que enfermedad del trabajo; esta última se define como el deterioro paulatino de la salud producido por la exposición sistemática y repetitiva a un riesgo. Estas enfermedades no pueden ser consideradas como profesionales al no estar recogidas en el cuadro oficial y pueden asimilarse, en términos legales, al accidente de trabajo si se puede probar claramente la relación causa-efecto.

2. Ramas de la Salud Laboral

a) Área sanitaria:

- Medicina del Trabajo: su finalidad es mantener al trabajador en un estado de salud óptimo.

b) Área técnica:

- Seguridad laboral: ofrece al trabajador las condiciones materiales más seguras para el desempeño de su trabajo. Su objetivo es eliminar los riesgos que puedan conducir al desarrollo de accidentes de trabajo.
- Higiene industrial: intenta eliminar los riesgos que puede presentar el medio ambiente de trabajo mediante la identificación de los factores de riesgo. Asimismo, pretende prevenir el desarrollo de enfermedades profesionales.
- Ergonomía y psicología aplicada: la primera diseña los puestos de trabajo, sus procesos y los equipos de acuerdo con las características del trabajador para proveerle de la mayor comodidad, mientras que la segunda promueve el confort desde el punto de vista psicológico.

3. La Ley de Prevención de Riesgos Laborales

La Ley de Prevención de Riesgos Laborales es “*el conjunto de actividades o medidas adoptadas o previstas en todas las fases de actividad de la empresa con el fin de evitar o disminuir los riesgos derivados del trabajo*”. Para ello ha de seguir una serie de pautas o mecanismos, que son:

- Evaluación de riesgos → Para estimar la magnitud de los mismos y adoptar medidas de control.
- Planificación de la prevención → Cuando el resultado de la evaluación de riesgos ponga de manifiesto la existencia de situaciones de

riesgo, la empresa deberá planear las actividades preventivas requeridas para eliminar, controlar o reducir dichos riesgos.

- Notificación de accidentes → Necesaria para evaluar las causas de los mismos y poner en efecto las medidas de prevención anteriormente planteadas.
- Vigilancia de la salud de los trabajadores.

La Ley es de aplicación tanto para los trabajadores cuyas relaciones laborales están reguladas en el Estatuto de los Trabajadores, como para el personal civil al servicio de las Administraciones Públicas. Esta ley contempla las obligaciones de la empresa y de sus trabajadores.

La empresa deberá aplicar medidas de prevención frente a los riesgos laborales, desarrollar una acción permanente con el fin de perfeccionar los niveles de protección, asumir el coste de las medidas de seguridad, considerar las capacidades profesionales de los trabajadores en materia de seguridad y salud a la hora de aplicarles sus cometidos, garantizar que únicamente los trabajadores que hayan recibido la formación idónea puedan acceder a las zonas de riesgo, asumir las responsabilidades derivadas de protección, vigilar, promover y proteger la salud de los trabajadores, mantener un correcto registro documental, etc. Por otro lado, los trabajadores estarán obligados a usar adecuadamente el equipo a su cargo (incluido los dispositivos de seguridad), y actualizarse de manera acorde con las exigencias de la empresa.

Además, la empresa que no concierte el servicio de prevención con una entidad especializada deberá mantener su propio sistema de prevención controlado y evaluado por una auditoría externa. Se entiende como servicio de prevención al conjunto de medios humanos y materiales necesarios para realizar las actividades preventivas a fin de garantizar la adecuada protección de la seguridad y la salud de los trabajadores, asesorando y asistiendo para ello al empresario, a los trabajadores y a sus representantes y a los órganos de representación especializados.

Los servicios de prevención deberán estar en condiciones de proporcionar a la empresa el asesoramiento y apoyo en cuanto al diseño, implantación y aplicación de un plan de prevención de riesgos laborales, así como para la evaluación de los factores de riesgo que puedan afectar a la seguridad y la salud de los trabajadores, la planificación de la actividad preventiva, la formación de los trabajadores, la prestación

de los primeros auxilios y la vigilancia de la salud de los trabajadores según las características de sus cometidos.

Para poder actuar como servicios de prevención, las entidades especializadas deberán poseer la acreditación emitida por la autoridad laboral pertinente.

Los puntos que contiene el *Reglamento de los Servicios de Prevención* son:

- a) Principio de prevención integrada → La prevención debe ser asumida por la totalidad de la empresa. En este sentido, se define el “Plan de Prevención de Riesgos Laborales” como la herramienta a través de la cual se integra la actividad preventiva de la empresa en su sistema general de gestión y se establece su política de prevención de recursos laborales. Este Plan debe ser aprobado por la dirección de la empresa, asumido por toda la estructura organizativa y conocido por todos los trabajadores, e incluirá la identificación completa de la empresa, su organigrama, etc.
- b) Evaluación del riesgo → Consistente en la identificación del riesgo, la definición de los criterios de valoración (normativa legal vigente, guías de actuación, etc.) y la evaluación de los riesgos no controlados. A la hora de llevarla a cabo, deberán tenerse en cuenta las condiciones de trabajo y los trabajadores más vulnerables. La evaluación no es un proceso estático, sino que variará en función de la elección de equipos e introducción de nuevas tecnologías, cambios en las condiciones de trabajo, etc.
- c) Documentación → Debería señalar el tipo de puesto de trabajo, los riesgos existentes y los trabajadores expuestos, los criterios usados para la evaluación de los riesgos, los resultados de dicha evaluación y las medidas de control.
- d) Planificación de las actividades preventivas pertinentes → Debe priorizar según la magnitud de los riesgos y el número de trabajadores expuestos, abarcar un periodo de tiempo concreto, definir las acciones a desarrollar y concretar los recursos necesarios, además de establecer los controles periódicos que se requieran.
- e) Organización de los recursos preventivos de la empresa → Asumiendo la empresa (o el empresario) la actividad preventiva cuando:
 - se trate de una empresa de hasta 10 trabajadores;

- las actividades desarrolladas en la empresa no estén incluidas entre algunas que señala el *Real Decreto*, como la fabricación de explosivos, etc.;
- el empresario desarrolle de forma habitual su actividad profesional en el centro de trabajo y tenga plena experiencia en su cometido;
- el empresario tenga la capacidad formativa correspondiente a las funciones preventivas que vaya a desarrollar.

En caso contrario, la empresa designará a uno o varios trabajadores con la capacidad, tiempo y medios necesarios para dichas actividades, o constituirá un servicio de prevención propio con una serie de condiciones aprobadas por la Inspección de Trabajo, o concertará la prestación preventiva con un servicio de prevención externo que tenga autorización y acreditación ministerial.

- f) Vigilancia de la Salud → Es un derecho de los trabajadores que debe realizar el servicio de prevención. De ahí que necesariamente debe contar la empresa con un médico especialista en Medicina del Trabajo y con un Diplomado en Enfermería.
- g) Participación de los trabajadores → En cuanto al diseño, adopción y cumplimiento de las medidas preventivas.
- h) Establecimiento de niveles de actuación → Básico, intermedio y superior, con sus correspondientes funciones. Asimismo, también el programa de formación para dichos niveles y para las auditorías.



XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS GENERALES

- Adams, M.R.; Moss, M.O. (1997). *Microbiología de los Alimentos*. Editorial Acribia, Zaragoza.
- *Adelaide Recommendations on Healthy Public Policy*. (1988). WHO/HPR/HEP/95.2. OMS, Ginebra.
- Arai, R.; Makita, Y.; Oda, Y.; Nagamune, T. (2001). Construction of green fluorescent protein reporter genes for genotoxicity test (SOS/umu-test) and improvement of mutagen-sensitivity, *J. Biosci. Bioeng.* 92:301-304.
- Biesalski, H.K.; Grimm, P. (2007). *Nutrición. Texto y Atlas*. Ed. Médica Panamericana, Madrid.
- Bray, F.; Ren, J.S.; Masuyer, E.; Ferlay, J. (2013). Estimates of global cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008, *Int. J. Cancer* 132:1133-1145.
- Cabanes, P. (2006). *La Medicina en la Historia Medieval Cristiana, Espéculo 32*, Universidad Complutense, Madrid.
- Cardona, A.; Franco, A. (2005). La Salud Pública como disciplina científica: Fundamento para los programas de formación académica, *Rev. Fac. Nac. Salud Pública* 23:107-114.
- Cordero del Campillo, M. (2001). *Crónicas de Indias. Ganadería, Medicina y Veterinaria*. Junta de Castilla y León, Valladolid.
- Cordero del Campillo, M.; Rojo Vázquez, F. A. (Coords.) (1999). *Parasitología Veterinaria*. Editorial Interamericana, Madrid.
- Cuervo, M.; Corbalán, M.; Baladía, E.; Cabrerizo, L.; Formiguera, X.; Iglesias, C.; Lorenzo, H.; Polanco, I.; Quiles, J.; Romero, M.D.; Russolillo, G.; Villarino, A.; Martínez, J. (2009). Comparativa de las Ingestas Dietéticas de Referencia (IDR) de los diferentes países de la Unión Europea, de Estados Unidos (EEUU) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS), *Nutr. Hosp.* 24:384-414.
- Dawber, T.R.; Meadors, G.F.; More, F.E.Jr. (1951). Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study, *Am. J. Public Health Nations Health* 41:279-281.
- De Souza, E.; Halliday, J.; Chan, A.; Bower, C.; Morris, J. (2009). Recurrence risks for trisomies 13, 18 and 21, *Am. J. Med. Genet. A* 149a:2716-2722.

- Dualde Pérez, V. (2008). Aportaciones de las Ciencias Veterinarias a la Medicina humana, *Prof. Vet.* 70:82-91.
- ECDPC (European Centre for Disease Prevention and Control) (2011): *New Orthobunyavirus isolated from infected cattle and small livestock – potential implications for human health*. Estocolmo.
- Edwards, J.H.; Harnden, D.G.; Cameron, A.H. (1960). A new trisomic syndrome, *Lancet* 1:787-789.
- Estrada Vélez, E. (2012). Riesgos químicos y riesgos físicos Salud Ambiental. Programas de Vigilancia, *Diplomado en Salud Pública*, IECSCYL, Valladolid.
- Ferlay, J.; Shin, H.R.; Bray, F.; Forman, D.; Mathers, C.D.; Parkin, D. (2010). *Cancer incidence and mortality worldwide*. IARC CancerBase, Globocan, Lyon.
- Fisher, J.M.; Harvey, J.F.; Lindenbaum, R.H.; Boyd, P.A.; Jacobs, P.A. (1993). Molecular studies of trisomy 18, *Am. J. Hum. Genet.* 52:1139-1144.
- Gómez, C. (2001). Metodología didáctica en educación para la salud, *Matronas Prof.* 2:4-9.
- Grande Covián, F. (2000). *Nutrición y salud. Mitos, peligros y errores de las dietas de adelgazamiento*. Ed. Temas de Hoy, Barcelona.
- Green, L.W. (1992). *Prevención y Educación Sanitaria en Salud Pública*. Ed. Interamericana, Madrid.
- Gutiérrez Meléndez, P. (2012). Enfermedades no transmisibles (especial consideración de las enfermedades cardiovasculares y el cáncer), *Diplomado en Salud Pública*, IECSCYL, Valladolid.
- Harper, P.S. (1998). *Practical Genetic Counseling*. Ed. Butterworth- Heinemann, Oxford.
- <http://www.ine.es/>
- <http://www.insht.es/>
- <http://www.who.int/>
- Hugh-Jones, M.E.; Hubbert, W.T.; Hagstad, H.V. (1995). *Zoonoses. Recognition, Control, and Prevention*. Iowa State University Press/Ames.

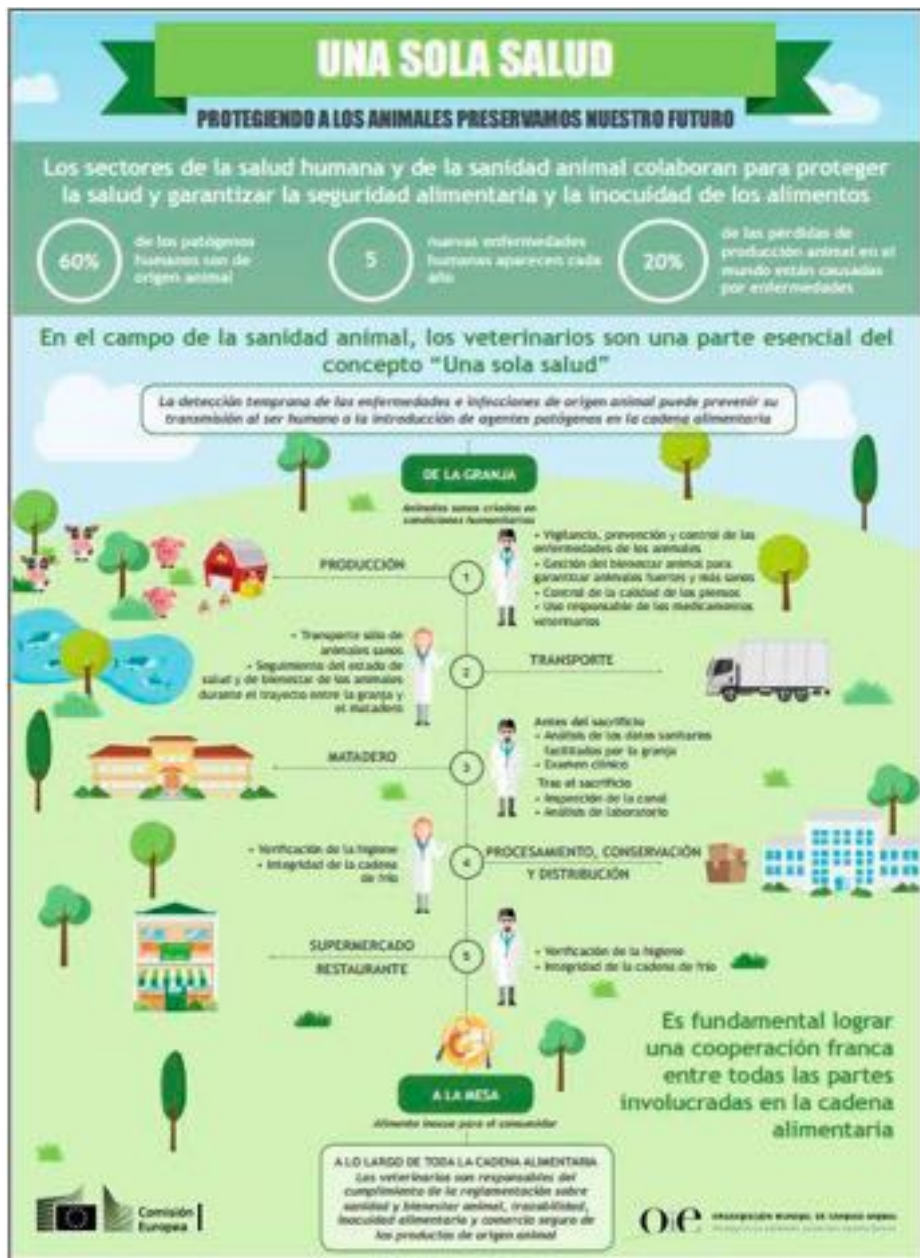
- Janion, C. (2001). Some aspects of the SOS response system: a critical survey, *Acta Bioch. Pol.* 48:599-610.
- Jáuregui, C.A.; Suárez, P. (2004). *Promoción de la Salud y Prevención de la Enfermedad. Enfoque en Salud Familiar*. Ed. Médica Panamericana, Madrid.
- Jemal, A.; Bray, F.; Center, M.M.; Ferlay, J.; Ward, E.; Forman, D. (2011). Global cancer statistics, *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 61:69-90.
- Krauss, H.; Weber, A.; Appel, M.; Enders, B.; Isenberg, H. D.; Schiefer, H. G.; Slenczka, W.; von Graevenitz, A.; Zahner, H. (Eds.) (2003). *Zoonoses – infectious diseases transmissible from animals to humans*. American Society for Microbiology Press, Washington.
- Kuiken, T.; Fouchier, R.; Rimmelzwaan, G.; Osterhaus, A. (2003). Emerging viral infections in a rapidly changing world, *Curr. Opin. Biotech.* 14:641-646.
- Laframboise, H.L. (1973). Health policy: breaking the problem down into more manageable segments, *CMAJ* 108:388-391.
- Lalonde, M. (1974). *A new perspective on the health of Canadians: a working document*. Dep. Health and Welfare, Ottawa.
- Las Heras García, F. (2012). Salud Laboral, *Diplomado en Salud Pública*, IECSCYL, Valladolid.
- *Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad.*
- *Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales (modificación Ley 54/2003, de 12 de diciembre).*
- Llorente Cachorro, J. (2012). Análisis de riesgos en la protección de la Salud: Evaluación de riesgos, gestión de riesgos y comunicación de riesgos, *Diplomado en Salud Pública*, IECSCYL, Valladolid.
- López-Abente, G.; Pollán, M.; Aragonés, N.; Pérez-Gómez, B.; Hernández- Barrera, V.; Lope, V. (2005). *La situación del cáncer en España*. Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid.
- Moreiras, O.; Carbajal, Á.; Cabrera, L.; Cuadrado, C. (2009). *Tablas de composición de alimentos*. Ed. Pirámide, Madrid.

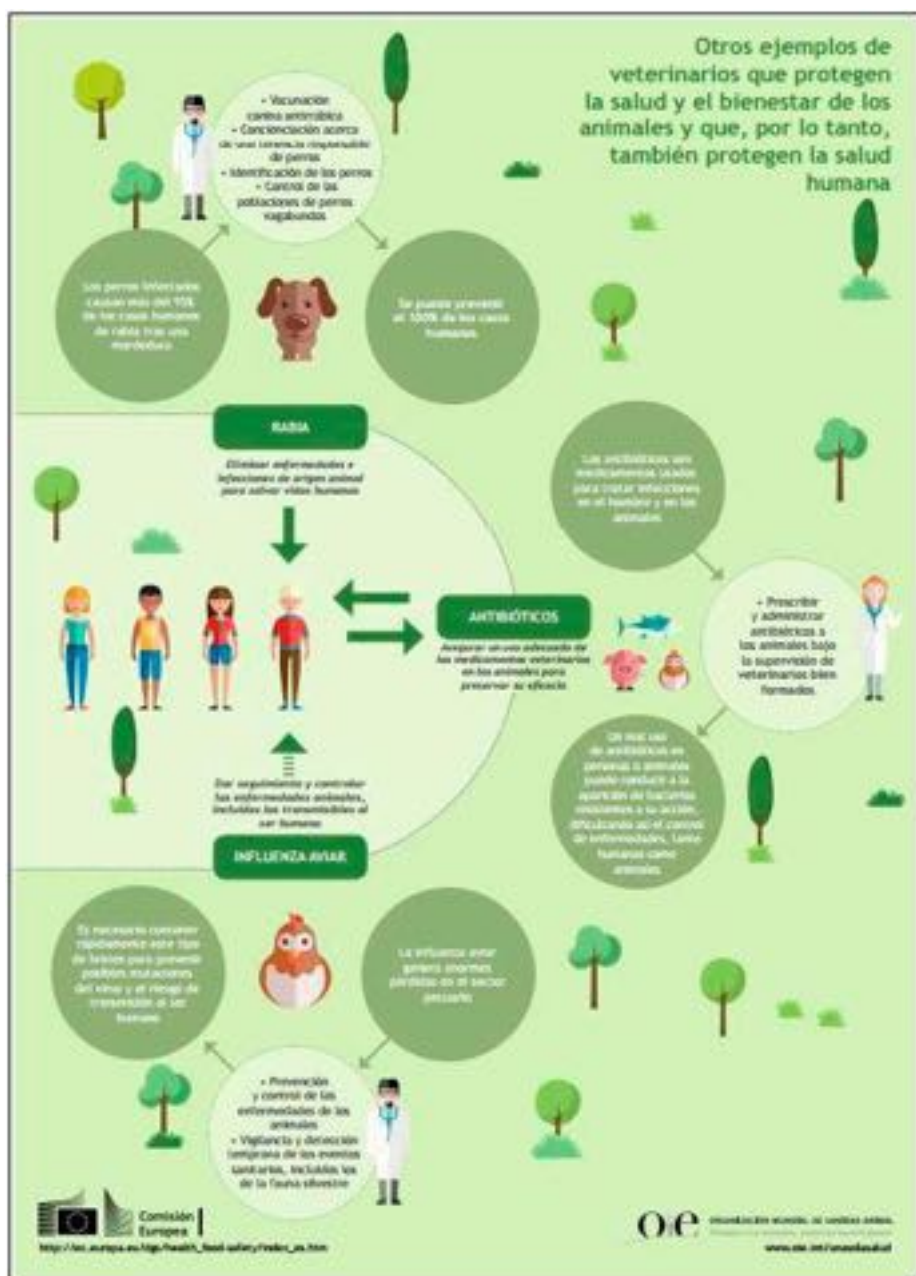
- Nebot, M. (1991). El Consejo Médico y la Promoción de la Salud, *Atención Primaria* 4:331-336.
- Nichol, S.T.; Arikawa, J.; Kawaoka, Y. (2002). Emerging viral diseases, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 97:12411-12412.
- O'Donnell, M.P. (1986). Definition of health promotion, *Am. J. Health. Promot.* 1:4-5.
- OIE (2012). *Resolución n° 27 sobre el enfoque de “Una Sola Salud” para tratar los riesgos sanitarios en la interfaz entre el animal, el ser humano y el ecosistema.*
- OMS (1986). *Carta de Ottawa para la Promoción de la Salud.* Conferencia Internacional para la Promoción de la Salud, Ottawa.
- OMS (1997). *Declaración de Yakarta sobre la promoción de la Salud en el siglo XXI,* Ginebra.
- OMS (2009). *Documentos básicos.* 47ª edición, Ginebra. [La documentación oficial de la OMS, incluidos los documentos básicos, puede consultarse en el sitio web de la OMS (www.who.int/es): pulsar “Gobernanza de la OMS” y “Documentos básicos”].
- Ortega, R.M. (2004). *La composición de los alimentos: herramienta básica para la valoración nutricional.* Editorial Complutense, Madrid.
- *Ottawa Charter for Health Promotion.* (1986). WHO / HPR / HEP / 95.1. OMS, Ginebra.
- Palmer, S.R.; Soulsby, E.J.L.; Torgerson, P.R.; Brown, D.W.G.: *Oxford Textbook of Zoonoses. Biology, Clinical Practice, and Public Health Control.* Oxford University Press, Nueva York.
- Pearson, T.A.; Fuster, V. (1996). Matching the intensity of risk factor management with the hazard for coronary disease events, *J. Am. Coll. Cardiol.* 27:961-963.
- Pederson, A.; O'Neill, M.; Rootman, I. (1994). *Health promotion in Canada: provincial, national and international perspectives.* W.B. Saunders, Toronto.
- *Real Decreto 39/1997, de 17 de enero* (y modificaciones posteriores) por el que se aprueba el reglamento de los servicios de prevención.

- *Real Decreto 1627/1997, de 24 de octubre*, por el que se establecen las disposiciones mínimas de seguridad y salud en las obras de construcción.
- *Real Decreto Legislativo 1/1994, de 20 de junio, Ley General de la Seguridad Social*.
- *Real Decreto Legislativo 5/2000, de 4 de agosto, Ley de Infracciones y Sanciones*.
- Ríos Martín, R.M. (2012). Promoción de hábitos de vida y salud: Concepto de Promoción de la Salud, *Diplomado en Salud Pública*, IECSCYL, Valladolid.
- Riquelme, M. (2012). Metodología de Educación para la Salud, *Rev. Pediatr. Aten. Primaria Supl.* 21: 77-82.
- Rochon, A. (1991). *Educación para la Salud. Guía práctica para realizar un proyecto*. Ed. Masson, Barcelona.
- Rodríguez Ferri, E.F. (2012). Enfermedades emergentes y reemergentes, *Diplomado en Salud Pública*, IECSCYL, Valladolid.
- Rodríguez Ferri, E.F. (2004). *Infecciones emergentes y enfermedades nuevas. De la gripe del pollo a la tuberculosis*. Imp. Rubín, León.
- Rodríguez Ferri, E.F. (2004). *Lo que Vd. debe saber sobre infecciones emergentes y enfermedades nuevas de la gripe del pollo a la tuberculosis* (Cartilla de divulgación 18). Caja España-Imprenta Rubín, León.
- Rodríguez Ferri, E.F. (1995). *Microorganismos patógenos de nueva identificación o de interés creciente (patógenos emergentes) en los animales*. Discurso de investidura como Académico de Número de la RAD. G. Cromotip, Barcelona.
- Rodríguez Ferri, E.F. (2009). *Zoonosis emergentes. Actualidad*. Conferencias ACNV-Colegio de Veterinarios de Madrid, Madrid.
- Sáez, S.; Font, P.; Pérez, R.; Marqués, F. (2008). *Promoción y Educación para la Salud: Conceptos, metodología, programas (Aula de Salud)*. Milenio Pub., Lérida.
- Sáez, S.; Marqués, F.; Colell, R. (1995). *Educación para la Salud. Técnicas para el trabajo con grupos reducidos*. Ed. Pagés, Lérida.

- Saunders, L.Z. (2000). Virchow's contributions to veterinary medicine: Celebrated then, forgotten now, *Vet. Pathol.* 37, 199-207.
- Seebach, C.; Fuenzalida, P.; Fuentes, S. (1977). Síndrome de Edwards, *Rev. Chil. Pediatr.* 48:255-258.
- Serra-Majem, L.; Aranceta, J. (2006). *Nutrición y Salud pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones.* Ed Masson, Barcelona.
- Soberón, N.E.; Martín, R.; Suárez, J.E. (2007). New method for evaluation of genotoxicity, based on the use of Real-Time PCR and Lysogenic Gram-positive and Gram-negative bacteria, *Applied Environ. Microbiol.* 73:2815-2819.
- Sontag, J.M. (1981): Carcinogens in foods, *Carcinogens in Industry and the Environments*, Marcel Dekker, INC, EEUU, pp. 465-475.
- Suárez, J.E.; Soberón, N.E. (2009). *Método rápido de detección y evaluación de agentes genotóxicos (patente de invención con examen previo).* OEPM. ES 2307395B2.
- Suárez Fernández, G. (1997). *Patógenos emergentes y zoonosis. Curso sobre zoonosis.* Serv. Publicaciones de la Universidad de León, León.
- Taylor, L.H.; Latham, S.M.; Woolhouse, M.E. (2001). Risk factors for human disease emergence, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 356:983-989.
- Tellería Orriols, J.J. (2012). Genética y Salud, *Diplomado en Salud Pública*, IECSCYL, Valladolid.
- VV.AA. (2007). Riesgos ocupacionales y su prevención, *Manual de Medicina Preventiva en Operaciones.* Ed. Subsecretaría de Defensa, Inspección General de Sanidad de la Defensa, Madrid, pp. 245-264.
- VV.AA. (2004). Tributes to Dr. Martin M. Kaplan, *Conference on Science and World Affairs.* Pugwash.
- Wilkinson, R.; Marmot, M. (2003). *Social Determinants of Health: The solid facts.* OMS, Copenhagen.
- Woolhouse, M.E.J. (2002). Population biology of emerging and re-emerging pathogens, *Trends Microbiol.* 10:S3-S7.
- *Yakarta Declaration on Leading Health Promotion into the 21st Century.* (1997): HPR/HEP/41CHP/BR/97.4. OMS, Ginebra.

- Zalacaín, M.; Sierrasesúmaga, L.; Patiño, A. (2005). El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos, *An. Sist. Sanit. Navarra* 28:227-236.





ANEXO

Enfermedad por el virus de Zika

Definiciones provisionales de los casos

12 de febrero de 2016

WHO/ZIKV/SUR/16.1



Organización
Mundial de la Salud

Introducción

Estas definiciones provisionales de los casos se han elaborado a fin de normalizar a nivel mundial la clasificación y notificación de los casos de enfermedad por el virus de Zika (ZIKV). Asimismo, la OMS está elaborando orientaciones con respecto a la vigilancia de la enfermedad.

La OMS revisará periódicamente estas definiciones provisionales y las actualizará en función de la información que se vaya obteniendo.

Caso sospechoso

Paciente que presente exantema y/o fiebre y al menos uno de los signos o síntomas siguientes:

- artralgias, o bien
- artritis, o bien
- conjuntivitis (no purulenta/hiperémica).

Caso probable

Paciente que cumpla los criterios de caso sospechoso y presente también anticuerpos IgM anti-ZIKV¹ y un vínculo epidemiológico².

Caso confirmado

Paciente con confirmación de laboratorio de infección reciente por el virus de Zika, es decir, presencia de:

- RNA o antígeno del virus de Zika en muestras de suero o de otro tipo (por ejemplo, saliva, orígenes, orina o sangre estéril); o bien
- anticuerpos IgM anti-ZIKV positivos y prueba de neutralización por reducción de placa (PRNT₅₀) para ZIKV a títulos ≥ 20 , y cuatro o más veces mayores que para otros flavivirus; y exclusión de otros flavivirus.

Notas

¹ Sin signos de infección por otros flavivirus.

² Contacto con un caso confirmado o antecedentes de residencia o viaje a una con transmisión local del virus de Zika en las 2 semanas anteriores a la aparición de los síntomas.

© Organización Mundial de la Salud, 2016.

Se autoriza a todos los usuarios. Las publicaciones de la Organización Mundial de la Salud están disponibles en el sitio web de la OMS (<http://www.who.int>) o pueden ser compradas a Editorial de la OMS, Organización Mundial de la Salud, 29 Avenue Appia, CH-1211 Ginebra 27, Suiza (tel.: +41 22 791 3206 fax: +41 22 791 4002, correo electrónico: book.orders@who.int). Las solicitudes de autorización para reproducir o traducir las publicaciones de la OMS – ya sea para la venta o para la distribución sin fines comerciales – deben dirigirse a Ediciones de la OMS o a través del sitio web de la OMS (http://www.who.int/about/licensing/copyright_in_who_publications).

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentadas los datos que contiene no implican, por parte de la Organización Mundial de la Salud, juicio alguno sobre la validez jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites. Las líneas discontinuas en los mapas representan de manera aproximada fronteras respecto de las cuales puede que aún haya controversias.

La inclusión de determinadas entidades geográficas o de nombres comerciales de ciertos productos no implica que la Organización Mundial de la Salud los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos farmacéuticos llevan sus marcas registradas.

La Organización Mundial de la Salud ha adoptado todas las precauciones razonables para verificar la información que figura en la presente publicación, no obstante lo cual, el material publicado se distribuye sin garantía de ningún tipo, ni explícita ni implícita. El lector es responsable de la interpretación y el uso que haga de ese material, y en ningún caso la Organización Mundial de la Salud podrá ser considerada responsable de daños o perjuicios causados por su utilización.



PRINCIPALES NOVEDADES

- Países y territorios que han notificado por primera vez en la última semana infecciones por virus de Zika transmitidas por mosquitos:
 - Islas Vírgenes Británicas y Singapur
- Países y territorios que han notificado por primera vez en la última semana casos de microcefalia y otras malformaciones del sistema nervioso central posiblemente asociados a la infección por el virus de Zika:
 - Ninguno
- Países y territorios que han notificado por primera vez en la última semana casos de síndrome de Guillain-Barré (SGB) asociados a la infección por el virus de Zika:
 - Ninguno
- Actualizaciones operacionales remitidas por la Oficina Regional de la OMS para las Américas:
 - La OMS proporcionó asesoramiento técnico sobre la detección y respuesta ante síndromes congénitos, y sobre la atención de mujeres embarazadas y recién nacidos en la República Dominicana.
- Los Juegos Paralímpicos de Verano de 2016 se celebrarán en Río de Janeiro (Brasil) del 7 al 18 de septiembre. La OMS sigue prestando apoyo técnico al Ministerio de Salud del Brasil para garantizar la seguridad de todos los atletas, voluntarios, visitantes y residentes durante dichos Juegos.
- La secuenciación genética de aislados de virus de Zika procedentes de cuatro muestras recogidas en Guinea-Bissau ha indicado de forma preliminar que estas están relacionadas con el linaje africano del virus.

ANÁLISIS

- En términos generales, la evaluación del riesgo mundial no ha cambiado.
- La expansión geográfica del virus de Zika, tras ralentizarse de abril a junio, ha registrado un ligero aumento en julio y agosto. Ello se debe probablemente al incremento de la actividad del mosquito vector en el hemisferio norte durante los meses de verano.
- Si bien algunos países, como los de Sudamérica, señalan tendencias descendientes en la transmisión del virus de Zika, otras zonas, entre ellas las recientemente afectadas (por ejemplo, San Bartolomé en el Caribe) y las afectadas en fechas anteriores (por ejemplo, Puerto Rico) experimentan tendencias ascendentes. Puesto que la mayoría de los países no notifican

números absolutos de casos de la enfermedad por el virus de Zika, no es posible generalizar sobre la tendencia mundial del brote.

- Aunque el linaje africano identificado preliminarmente en Guinea-Bissau no está asociado con casos de microcefalia y otras complicaciones neurológicas, es necesario mantener la vigilancia puesto que son muy pocos los casos confirmados del linaje africano. En estos momentos todavía es demasiado pronto para descartar esta posible amenaza.

SITUACIÓN

- Desde 2007, 72 países y territorios (figura 1 y cuadro 1) han notificado transmisión vectorial del virus de Zika (69 de ellos desde 2015):
 - 55 han notificado el primer brote en 2015, o posteriormente (figura 2 y cuadro 1).
 - Cuatro países presentan posible transmisión endémica o infección local transmitida por mosquitos en 2016.
 - 13 países registran infección local transmitida por mosquitos en 2015, o antes, pero sin casos documentados en 2016, o cuyos brotes se han dado por finalizados.
- Desde febrero de 2016, 11 países han notificado casos de transmisión de persona a persona (cuadro 2).
- 20 países o territorios han notificado casos de microcefalia y otras malformaciones del sistema nervioso central posiblemente asociadas a la infección por el virus de Zika o que sugieren infección congénita (cuadro 3). Cuatro de esos 20 países, sin transmisión endémica de transmisión del virus de Zika, notificaron casos de recién nacidos con microcefalia cuyas madres tenían antecedentes recientes de viaje a países afectados por el virus de Zika.
- Resultados de embarazos con posible presencia del virus de Zika en los Estados Unidos de América¹, según las pruebas de laboratorio:
 - En total 16 lactantes nacidos vivos con malformaciones congénitas
 - En total cinco pérdidas de embarazo con malformaciones congénitas
- Resultados de embarazos con posible presencia del virus de Zika en territorios de los Estados Unidos de América, según las pruebas de laboratorio:
 - En total 1 lactante nacido vivo con malformaciones congénitas
 - En total 1 pérdida de embarazo con malformaciones congénitas
- 18 países y territorios han notificado un aumento de la incidencia del síndrome de Guillain-Barré (SGB) y/o de confirmación de infección por el virus de Zika en casos de SGB (cuadro 4).
- En Guinea-Bissau, los resultados de la secuenciación genética de los cuatro casos de enfermedad por el virus de Zika enviados en julio han confirmado preliminarmente el linaje africano, es decir, no forman parte de linaje asiático predominante en el brote mundial. Continúa la investigación de cinco casos notificados de microcefalia.
- Los Juegos Paralímpicos de Verano de 2016 se celebrarán en Río de Janeiro (Brasil) del 7 al 18 de septiembre. La OMS, en particular a través de la Oficina Regional para las Américas, sigue prestando apoyo técnico al Ministerio de Salud del Brasil para garantizar la seguridad de todos los atletas, voluntarios, visitantes y residentes durante dichos Juegos.

¹<https://www.cdc.gov/zika/geo/pregnancy-outcomes.html>

Cuadro 1. Países y territorios que han notificado transmisión vectorial del virus de Zika

Clasificación	Oficina Regional de la OMS	País o territorio	Total
Categoría 1. Países con un primer brote notificado en 2015, o posteriormente	AFRO	Cabo Verde; Guinea-Bissau	2
	AMRO/OPS	Anguila, Antigua y Barbuda, Argentina, Aruba, Bahamas, Barbados, Belice, Bolivia (Estado Plurinacional de), Bonaire, San Eustaquio y Saba (Países Bajos)*, Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, Curazao, Dominica, Ecuador, El Salvador, Estados Unidos de América, Guayana francesa, Granada, Guadalupe, Guatemala, Guyana, Haití, Honduras, Islas Caimán (Reino Unido), Islas Turcas y Caicos (Reino Unido), Islas Vírgenes (EE.UU.), Islas Vírgenes (Reino Unido), Jamaica, Martinica, México, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, Puerto Rico, República Dominicana, San Bartolomé (Francia), San Martín (Francia), San Martín (Países Bajos), Santa Lucía, San Vicente y las Granadinas, Suriname, Trinidad y Tabago, Venezuela (República Bolivariana de)	46
	WPRO	Fiji, Islas Marshall, Micronesia (Estados Federados de), Samoa, Samoa (EE.UU.), Singapur, Tonga	7
Subtotal			55
Categoría 2. Países con posible transmisión endémica o infección local transmitida por mosquitos en 2016	SEARO	Indonesia, Tailandia	2
	WPRO	Filipinas, Viet Nam	2
Subtotal			4
Categoría 3. Países con infección local transmitida por mosquitos en 2015, o antes, pero sin casos documentados en 2016, o cuyos brotes se han dado por finalizados	AFRO	Gabón	1
	AMRO/OPS	Isla de Pascua (Chile)**	1
	SEARO	Bangladesh, Maldivas	2
	WPRO	Cambodia; Islas Cook**; Islas Salomón; Malasia; Nueva Caledonia; Papua Nueva Guinea; Polinesia francesa**; República Democrática Popular Lao; Vanuatu	9
Subtotal			13
Total			72

* Incluye los casos confirmados de infección por el virus de Zika notificados en Bonaire, San Eustaquio y Saba (Países Bajos).

** Estos países y territorios no han notificado casos de infección por el virus de Zika en 2015 ni 2016.

Las categorías se definen como sigue:

Categoría 1. Países con un primer brote notificado en 2015, o posteriormente

- algun caso de infección autóctona transmitida por mosquitos y confirmado mediante pruebas de laboratorio en una zona donde no haya pruebas de circulación del virus de Zika en el pasado (antes de 2015), tanto si el caso ha sido detectado y notificado por el propio país como si ha sido diagnosticado por otro Estado Parte en un viajero de regreso. **O BIEN**
- algun caso de infección autóctona transmitida por mosquitos y confirmado mediante pruebas de laboratorio en una zona donde la transmisión se hubiera interrumpido anteriormente (se presume que el tamaño de la población vulnerable ha aumentado a un nivel suficiente para permitir de nuevo la transmisión; la magnitud del brote dependerá del tamaño de la población vulnerable). **O BIEN**
- en una zona donde haya transmisión en curso, un aumento de la incidencia de casos de infección autóctona transmitida por mosquitos y confirmado mediante pruebas de laboratorio que supere el doble de la desviación típica de la tasa basal, o una duplicación del número de casos en un plazo de 4 semanas. Los conglomerados de casos de enfermedad febril deben someterse a estudios microbiológicos, especialmente si están vinculados epidemiológicamente a un caso confirmado.

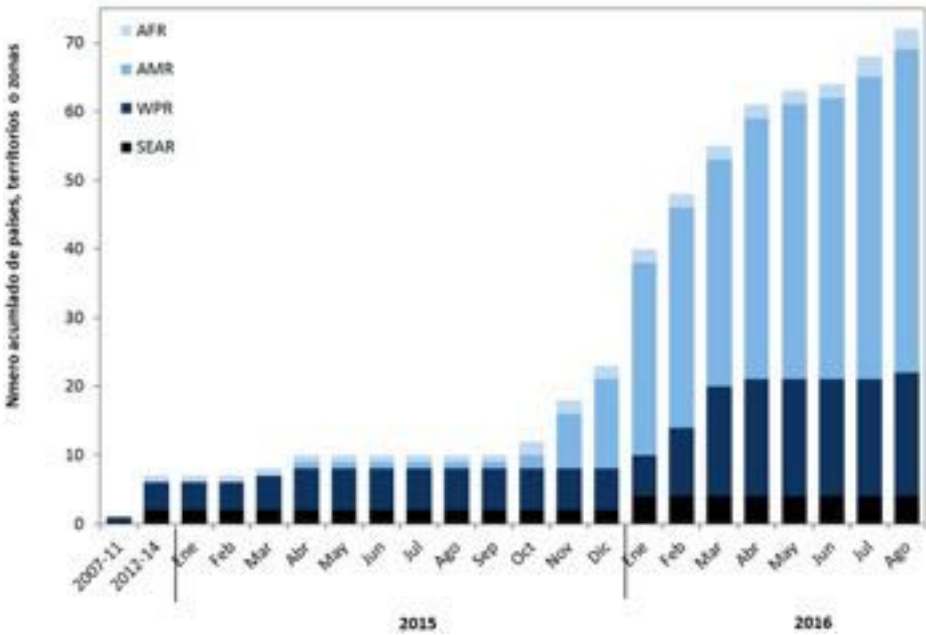
Categoría 2. Países con posible transmisión endémica o infección local transmitida por mosquitos en 2016, desde el inicio del periodo de notificación en 2007

- países o territorios que hayan notificado algún brote y hayan tenido casos constantes de infección autóctona transmitida por mosquitos y confirmada mediante pruebas de laboratorio en los 12 meses siguientes al brote. **O BIEN**
- países o territorios en los que el virus de Zika haya estado circulando durante varios años y haya habido casos constantes de infección autóctona transmitida por mosquitos y confirmada mediante pruebas de laboratorio o infección autóctona transmitida por mosquitos en 2016. Las notificaciones pueden proceder del país o territorio en el que se produjo la infección o de otro Estado Parte en el que inicialmente se haya registrado el caso de conformidad con el Reglamento Sanitario Internacional (2005). Los países con casos de infección antes de 2007 se enumeran en http://www.who.int/bulletin/online_first/16_171062.pdf

Categoría 3. Países con infección local transmitida por mosquitos en 2015, o antes, pero sin casos documentados en 2016, o cuyos brotes se han dado por finalizados, desde el inicio del periodo de notificación en 2007

- ausencia de casos confirmados durante un periodo de 3 meses en una zona geográfica con condiciones climáticas propicias a la transmisión de arbovirus durante todo el año, o durante un periodo de 12 meses en zonas con actividad estacional de los vectores.

Figura 1. Número acumulado de países y territorios por región de la OMS² que han notificado transmisión vectorial del virus de Zika en 2007-2014 y, mes a mes, del 1 de enero de 2015 al 31 de agosto de 2016



² <http://www.who.int/about/regions/es/>

Cuadro 2. Países que han notificado transmisión no vectorial del virus de Zika desde febrero de 2016

Clasificación	Oficina Regional de la OMS País o territorio	Total	
Países con indicios de transmisión del virus de Zika de persona a persona, no mediada por mosquitos	AMRO/OPS	Argentina, Canadá, Chile, Estados Unidos de América, Perú	5
	EURO	Alemania, España, Francia, Italia, Portugal	5
	WPRO	Nueva Zelandia	1
Total		11	

Cuadro 3. Países y territorios que han notificado casos de microcefalia u otras malformaciones del sistema nervioso central posiblemente asociados a la infección por el virus de Zika

País o territorio notificante	Número de casos de microcefalia u otras malformaciones del sistema nervioso central con indicios de infección congénita o posiblemente asociados a la infección por el virus de Zika	Probable lugar de la infección
Brasil	1845 ³	Brasil
Cabo Verde	9	Cabo Verde
Canadá	1	No determinado
Colombia	34 ⁴	Colombia
Costa Rica	1	Costa Rica
El Salvador	4	El Salvador
Eslovenia	1 ⁵	Brasil
España	2	Colombia, Venezuela (República Bolivariana de)
Estados Unidos de América*	21 ⁴	No determinado**
Guayana francesa	3 ⁷	Guayana francesa
Haití	1	Haití
Honduras	1	Honduras
Islas Marshall	1	Islas Marshall
Martinica	10 ⁷	Martinica
Panamá	5	Panamá
Paraguay	2 ⁸	Paraguay
Polinesia francesa	8	Polinesia francesa
Puerto Rico	1	Puerto Rico
República Dominicana	3	República Dominicana
Suriname	1	Suriname

* Los CDC de los EE.UU. han modificado la forma de presentar la información. A fin de proteger la privacidad de las mujeres y los niños afectados por el virus de Zika, han dejado de proporcionar datos personales sobre el estado, tribu, territorio o jurisdicción.

** Los lugares donde probablemente se produjeron tres de las infecciones fueron: Brasil (1 caso), Haití (1 caso), y México, Belice o Guatemala (1 caso).

³ http://www.combateaedes.saude.gov.br/images/sala-de-situacao/informe_microcefalia_epidemiologico40.pdf

⁴ <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiologico/2016%20Boletin%20epidemiologico%20semana%2033.pdf>

⁵ <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa1600651>

⁶ <http://www.cdc.gov/zika/geo/pregnancy-outcomes.html>

⁷ <http://www.invs.sante.fr/Publications-et-outils/Points-epidemiologiques/Tous-les-numeros/Antilles-Guyane/2016/Situation-epidemiologique-du-virus-Zika-aux-Antilles-Guyane.-Point-au-21-juillet-2016>

⁸ <http://www.mspbs.gov.py/v3/paraguay-reporta-sus-dos-primeros-casos-de-microcefalia-asociados-al-zika/>

Figura 2. Propagación mundial del virus de Zika, 2013-2016



La isla de Pascua (Chile) no figura en el mapa debido a su aislamiento con respecto a la fecha de inicio del brote. La circulación del virus de Zika en Camboya, la República Democrática Popular de Corea y Tailandia empezó antes de 2013. Los países en los que ha habido transmisión sexual no figuran en el mapa. La información disponible no permite medir el riesgo de infección en ningún país; por consiguiente, el mapa NO refleja la variación en la intensidad de la transmisión entre los países. El virus de Zika no está necesariamente presente en toda la extensión de los países o territorios señalados en el mapa.

Cuadro 4. Países y territorios que han notificado casos de síndrome de Guillain-Barré (SGB) posiblemente asociados a la infección por el virus de Zika

Clasificación	País o territorio
Con notificación de un aumento de la incidencia de casos de SGB y al menos uno de ellos con infección confirmada por el virus de Zika	Brasil, Colombia, El Salvador*, Guayana francesa, Honduras, Jamaica, Martinica, Polinesia francesa, República Dominicana, Suriname**, Venezuela (República Bolivariana de)
Sin notificación de un aumento de la incidencia de casos de SGB, pero con al menos un caso con infección confirmada por el virus de Zika	Costa Rica, Granada ⁹ , Guadalupe ¹⁰ , Guatemala, Haití, Panamá, Puerto Rico

* Los casos de SGB con antecedentes de infección por el virus de Zika fueron notificados por el Centro Nacional de Enlace para el Reglamento Sanitario Internacional (2005) de los EE.UU.
 **A mediados de enero de 2016 los Países Bajos notificaron un caso residente en el territorio europeo de este país que fue diagnosticado en el Centro Médico Académico Erasmus.

⁹ http://health.gov.gd/index.php?option=com_content&view=article&id=434:nine-confirmed-zika-cases-in-grenada&catid=83:latest-news&Itemid=932&lang=en
¹⁰ <http://www.invs.sante.fr/Publications-et-outils/Points-epidemiologiques/Tous-les-numeros/Antilles-Guyane/2016/Situation-epidemiologique-du-virus-Zika-aux-Antilles-Guyane.-Point-au-23-juin-2016>

GANADORES PREMIOS RACVE 2016

IV PREMIO ANDRÉS PINTALUBA, S.A. “CARLOS LUIS DE CUENCA Y ESTEBAN”

INMUNIDAD POBLACIONAL EN POBLACIONES CANINAS Y TOMA DE DECISIÓN EN LOS PLANES DE CONTROL E INMUNIZACIÓN DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

D. VAHID SHOKOUHI

RESUMEN

Después de una breve revisión del concepto de la inmunidad poblacional se discute el estado de la inmunidad poblacional en población canina urbana en España.

Para el control y manejo de la inmunidad poblacional, en situaciones normales, se puede recurrir a estimación de prevalencia con determinación serológica de anticuerpos para los patógenos principales y aumento de coberturas vacunales en casos necesarios.

Se subrayan la interpretación de los resultados vacunales, existencia de posibles mutantes, la diferencia de la inmunidad poblacional para los virus y las bacterias. La familiarización de los clientes con las técnicas de control y su orientación para la toma de decisión están entre otros temas discutidos.

SUMMARY

After a brief review of Herd Immunity concept, the constitution of herd immunity in urban dogs in Spain has been discussed.

The vaccination coverage and immune response required to establish herd immunity, in normal situations, could be monitored by periodical serologic testing in search of antibodies for core vaccines.

The interpretation of vaccination results, presence of mutants, and the difference between herd immunity for bacterial and viral diseases in dogs are underlined. Client information as well as cooperation with pet owners in decision making are between other discussed subjects.

INTRODUCCIÓN

La inmunidad poblacional se refiere a la protección indirecta que surge dentro de una población vacunada en su mayoría, donde los individuos no vacunados pueden protegerse gracias a que los individuos vacunados detienen la propagación de los agentes infecciosos.

La proporción necesaria de animales vacunados para que se constituya esta protección depende de varios factores entre ellos la naturaleza del agente infeccioso.

Aunque este tema se ha desarrollado y aplicado desde hace tiempo en la medicina humana y considerado en grandes animales, no ha sido así en animales de compañía, y concretamente en cánidos. Con excepción de la rabia, no se ha tratado seriamente por la forma peculiar que tienen las poblaciones y quizás por la amplitud de especies que comparten ciertas enfermedades infecciosas con ellas.

La evaluación aproximativa de la existencia o no de una inmunidad poblacional adecuada a pesar de ser una forma de vigilancia de enfermedades ya controladas, también puede ser útil para las revacunaciones cuando se realizan desplazamientos importantes a lugares con una situación sanitaria desconocida.

El panorama de la distribución geográfica de la población canina y el cuidado sanitario que suelen recibir los animales son otros factores a tener en cuenta en este sentido.

No cabe duda que la información facilitada a los clientes puede ayudarlos a encontrar alguna respuesta a las preguntas que suelen surgir

respecto a la eficacia o la necesidad de realizar vacunaciones periódicas.

¿Por qué ciertos animales no desarrollan la enfermedad sin haber sido vacunados o al contrario se enferman a pesar de haber sido inmunizados? Después de revisar brevemente la inmunidad poblacional, se discuten las distintas razones de obtener resultados vacunales inesperados, poniendo de relieve la realidad dinámica y cambiante de la biología frente a nuestras expectativas que habitualmente tienden de estabilizarse en la rutina.

El termino inmunidad poblacional puede aportar diferentes significados según el uso (3) .Algunos autores lo utilizan para referirse a la proporción de individuos inmunes en una población.

Otros lo utilizan como referencia a un umbral particular de proporción de individuos inmunes que han de contribuir a la detención de la incidencia de una infección .El significado normal del término es que el riesgo de la infección de individuos susceptibles de la población se ve reducido por la presencia y proximidad de individuos inmunes. A veces a este se refieren como la protección indirecta o el efecto de la población. Hay que considerar que la protección por la inmunidad poblacional se aplica tanto a los animales vacunados como no vacunados (5).

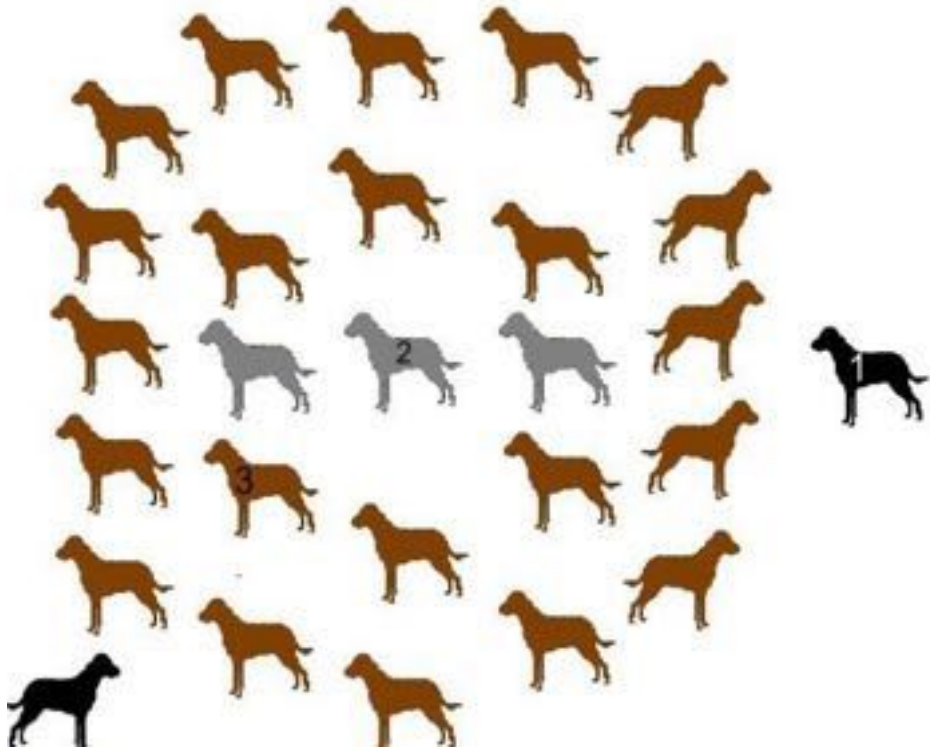
La vacunación selectiva de capas de la población que son importantes en la transmisión de la enfermedad, puede ralentizar la transmisión en la totalidad de la población o reducir la incidencia en capas que pueden correr el riesgo de las consecuencias severas de la infección. (3) Si el único efecto de la vacunación fuese la prevención de la enfermedad, sin alterar el riesgo de la infección o la transmisión, no existiría ningún efecto indirecto o la inmunidad poblacional. En realidad cuando se vacuna un individuo ocurren dos hechos, el primero es la inmunización del sujeto vacunado y en segundo lugar es la contribución a la inmunidad del grupo.

La magnitud del efecto indirecto de la inmunidad derivada de la vacunación está en función de la capacidad de transmisión del agente infeccioso, la naturaleza de la inmunidad inducida por la vacuna, el esquema de la mezcla poblaciones, la distribución de la vacuna, y el porcentaje de animales vacunados. La oscilación de la inmunidad y el tema complejo de la heterogeneidad de la población hacen difícil una predicción precisa. Se puede concluir que es posible conseguir la elimi-

nación de un agente infeccioso de una población sin ser necesario vacunarla en su totalidad (1).

Este hecho es importante cuando la vacunación supone un gasto enorme o es imposible de realizar cuando se enfrenta a una epidemia.

No habrá inmunidad poblacional si la enfermedad no se transmite generalmente de un individuo a otro.



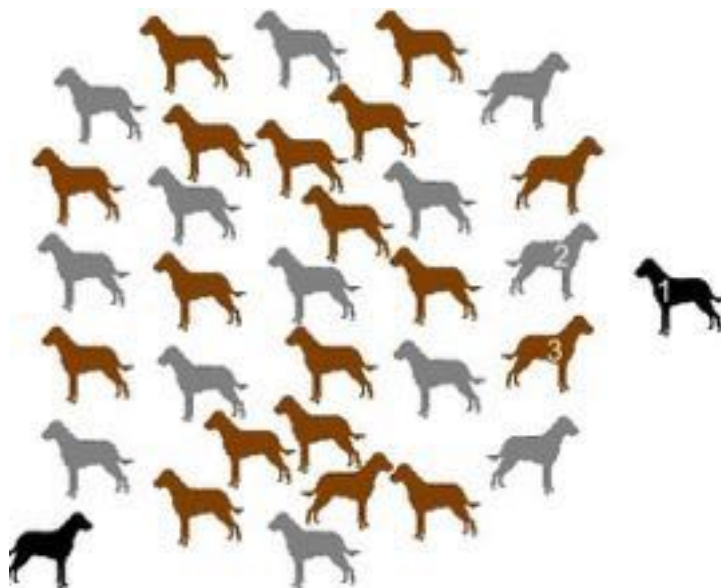
- 1: infectado
- 2: susceptible
- 3: inmune

Fig. 1: Demostración esquemática de la inmunidad poblacional

Cuando una proporción significativa de la población esta inmunizada, los animales no inmunizados pueden protegerse al amparo de los animales vacunados. A esta protección se le denomina inmunidad poblacional.

Cuanto más animales estén vacunados menor será la probabilidad de que los animales no inmunes se infecten por el contacto.

La teoría de la inmunidad poblacional está basada en que las enfermedades contagiosas se ven detenidas cuando una proporción grande de la población se hace resistente a la infección.



- 1: infectado
- 2: susceptible
- 3: inmune

Fig. 2: Una población raramente puede ser totalmente sensible a una infección a nivel del campo

La proporción de contagio o reproducción efectiva (R) estima la media de casos secundarios (nuevos) en una población compuesta de individuos inmunes y no inmunes.

El umbral de la inmunidad poblacional se refiere a la proporción de una población que ha de ser vacunado para que la infección se estabilice dentro de la población.

MÉTODO DE EVALUACIÓN Y PARÁMETROS IMPLICADOS EN LA CONSTITUCIÓN DE UNA INMUNIDAD POBLACIONAL EFICAZ

Para que se constituya una inmunidad poblacional se ha de existir un porcentaje de animales inmunes cuya proporción varía según el agente infeccioso y otros parámetros relacionados con la probabilidad de contagio. La proporción o el porcentaje de animales que han de ser

inmunes se denomina el umbral de a inmunidad poblacional, cuyo posible metodo de determinación será discutido a continuación.

Para este fin se requieren dos parámetros

- el numero de reproducción básica (contagio)
- el numero de reproducción efectiva

EL NÚMERO DE REPRODUCCIÓN BÁSICA (R₀)

R₀ se refiere a la media de numero de nuevas transmisiones que un agente infeccioso puede producir en una población naif y libre de infección donde se ha introducido un sujeto infectado.

El número de animales que se infectan depende de varios factores como la naturaleza del agente infeccioso y las posibilidades de contacto.

R₀ puede variar según diferentes agentes infecciosos dependiendo de su inefectividad que a su vez está influenciada por factores tales como la supervivencia en el ambiente, la dosis necesaria para la infección, duración de la inefectividad en el huésped y si o no la inefectividad procede a los síntomas clínicos (1).

El R₀ también puede variar de una población a otra dependiendo de factores como la densidad de la población que puede afectar a que suceden contactos efectivos. También las condiciones ambientales pueden afectar la supervivencia del agente infeccioso en el ambiente.

El numero de reproducción efectiva (R)

Normalmente toda una población no suele ser susceptible frente a una infección, por tanto el número de contagios nuevos o la reproducción efectiva es más bajo que el numero de reproducción básica, especialmente donde ha habido vacunaciones parciales o irregulares.

Para calcular el número de reproducción efectiva (R) se ha de disponer de la proporción de la población que esta inmune a la infección. La siguiente formula sirve para calcular el número de reproducción efectiva.

$$R=(1-P)*R_0$$

Donde P es la proporción de la población inmune. R: reproducción efectiva y R₀: reproducción básica.

Para que una infección transmisible se mantenga en una población, cada caso de infección ha de dar lugar como mínimo a otro caso, en otros términos el número de reproducción efectiva ha de ser más de uno.

Si el número de reproducción es menor de 1, lógicamente la infección ha de desaparecer eventualmente de la población (se entiende que menos de uno es cero, por no ser posible fraccionar los individuos).

En general el número efectivo de la reproducción (R) será más bajo que el número reproductivo básico (R^0) dependiendo de la proporción (P) de la población que este inmune a la infección. (Esta inmunidad puede ser inducida con la inmunización activa utilizando una vacuna efectiva).

Este quiere decir que para reducir el R por debajo de 1, la P debe ser igual por lo mínimo a $(1-1/R^0)$:

$$R=(1-P)*R0$$

$$1=(1-P)R0$$

$$1= R0-P*R0$$

$$1-P =1/R0$$

$$P=1-1/R0$$

Ejemplo: El número de reproducción básica o el contagio es 5

$$R0=5$$

Utilizando la fórmula: $P=1-1/R0$

$$P=1-1/5$$

$$P=1-0.2$$

$$P=0.80 \text{ (umbral)}$$

Este quiere decir que 80% de los individuos de la población han de ser inmunizados para el control de la infección.

Umbral de la inmunidad poblacional

El valor de P que reduzca R al máximo se llama umbral de la inmunidad poblacional; el nivel de la inmunidad necesario para que la infección no se mantenga en la población (1).

Estimación de R0

Es importante subrayar que R0 puede variar entre diferentes poblaciones, y en diferentes capas de la población o en diferentes tiempos en la misma población. Por tanto la estimación del umbral puede ser mucho mas complejo que la simple formula expuesta arriba.

Los diferentes virus se transmiten con distintos grados de eficacia entre los huéspedes .El numero básico de de reproducción (R0) indica la media de casos infectados a partir de un único caso infectado. R0 puede variar desde algo más de 1 hasta a más de 10.

R0 bajo se encuentra entre los virus que se cambian rápidamente y que están bajo una fuerte presión positiva de la selección, mientras R0 alto se ve entre los virus que son muy estables (8).

Para matemáticas mas ampliadas consultar literaturas especializadas (2, 11, 26).

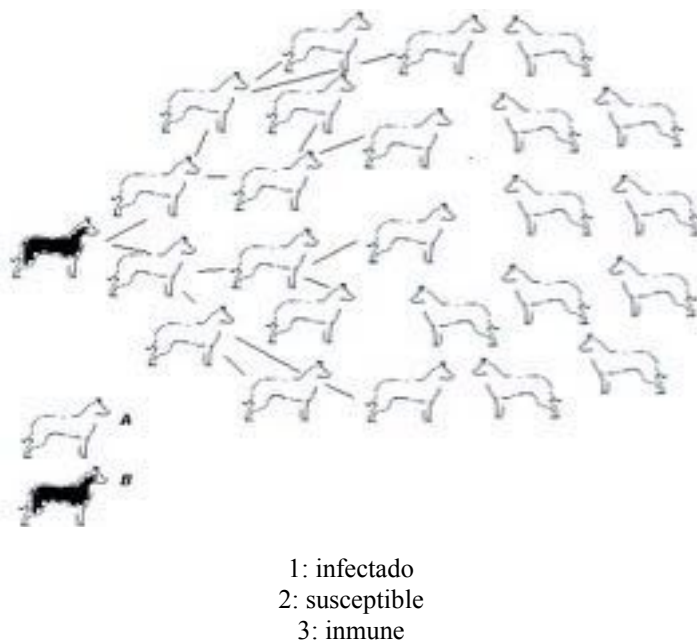


Fig. 3: Contagio o reproducción (R0) en una población naif donde cada animal enfermo puede contagiar a dos animales no inmunes (R0=2). El parametro de reproducción basica se utiliza para medir el potencial de la transmisión de una enfermedad contagiosa. Se refiere a al número de casos nuevos de la infección en una población que es totalmente susceptible. Por lo tanto puede medirse contando el número de nuevos casos despues de la introduccion de un animal infectado en un población totalmente susceptible

A nivel del campo no siempre es posible conseguir la eliminación de la infección, debido por ejemplo a una eficacia vacunal pobre que no permite conseguir una respuesta inmune suficientemente alta. A pesar de todo el riesgo de la infección de individuos no vacunados se ve reducido. Este hecho puede ser de gran ayuda para individuos cuya vacunación está contraindicada (1). La controversia entre los que creían que las epidemias se terminaban por los cambios en la propiedad de los agentes infecciosos (pases seriados) y los que argumentaban que este reflejaba la dinámica de la interacción entre distintas capas de la población (infectados, susceptibles e inmunes) se ha resuelto a favor de estos últimos (2).

Muchos de los trabajos teóricos sobre la inmunidad poblacional asumían que la vacunación inducía una inmunidad sólida contra la infección y que la población está mezclada de forma aleatoria, cosa consistente con un umbral sencillo de la inmunidad para una vacunación aleatoria.

Las investigaciones recientes consideran la complejidad de conseguir una inmunidad adecuada, heterogeneidad de las poblaciones y vacunaciones orientadas y no aleatorias.

Si la vacunación no confiere una inmunidad sólida contra la infección a todos los sujetos el nivel del umbral de la vacunación requerida para proteger la población aumenta.

El modelaje de poblaciones heterogéneas requiere informarse o asumir, como los diferentes grupos interactúan. las interacciones a menudo se observan más frecuentemente dentro de un mismo grupo que entre distintos grupos, en tal caso los grupos más conectados dominan la transmisión, resultando en un valor más alto de R_0 (contagio) y un umbral de vacunación más alto de lo que se puede obtener asumiendo que todos los individuos demuestran un comportamiento igual.

Si la cobertura de la vacunación es diferente entre los distintos grupos de la población y estos grupos difieren en el índice de riesgo según su compartimiento, un planteamiento global ya no es lógico.

En general si los grupos transmitentes pueden ser vacunados preferentemente, valores de la cobertura más bajos de lo indicado pueden ser suficientes para proteger la población entera, usando modelos de vacunación solo aleatoria.

El alto índice de vacunación en una comunidad puede significar que el riesgo de contraer la infección esta cerca a 0. En el campo de la

medicina humana este permite que los oponentes libres aprovechan de la protección indirecta que facilita la vacunación de los demás, sobre todo cuando se percibe que la vacunación aporta un riesgo similar o mayor que la infección.

No es de sorprender que la baja incidencia sostenida de una infección creada en gran parte por un programa adecuado de vacunación haga que el mantenimiento de un alto nivel de vacunación resulte difícil, sobre todo frente a una atención interrogativa o negativa de la media (3).

Un punto importante a considerar es que la inmunidad poblacional no es sinónima de la inmunidad biológica; los individuos protegidos solo por la inmunidad poblacional quedan totalmente susceptibles a la infección si alguna vez se ven expuestos, sin embargo puede ofrecer una ventaja para los individuos cuya vacunación está contraindicada.

Inmunidad poblacional en las poblaciones caninas y posibles conveniencias de conocer el nivel poblacional de la inmunidad para las infecciones más importantes.

Antes de proceder a discutir del posible aprovechamiento de la constitución de la inmunidad poblacional en los canidos, conviene subrayar ciertas particularidades de las infecciones que afectan a los canidos y la amplitud de especies que comparten ciertas de estas infecciones.

Uno de los prerequisites de la inmunidad poblacional perfecta es la exclusividad de tener un huésped único terminal.

Esta condición se puede cumplir difícilmente si consideramos las enfermedades infecciosas más importantes de los canidos, donde existen otras especies que pueden verse afectadas e intervenir en el circuito de contagio.

Dado que la mayoría de los canidos domésticos conviven en un ambiente compartido con el hombre y no suelen tener contacto con muchas de estas especies, en ciertas circunstancias la teoría de la inmunidad poblacional también puede ser factible para ellos.

Sin embargo hay que tener en cuenta los límites de una población canina y las posibilidades de contacto y contagio cuando se quiere recurrir a este método para organizar programas de prevención o interpretar los resultados de vacunaciones.

La inmunidad poblacional puede ser creada sin intención alguna cuando se suele vacunar un porcentaje importante de individuos en una población. En otros términos el establecimiento de una inmunidad poblacional no es únicamente el resultado de la realización de un plan de vacunación diseñado previamente con el cálculo de un umbral para conseguir un objetivo determinado, como suele ocurrir en los planes de erradicación de enfermedades contagiosas en el hombre.

Las vacunaciones realizadas de forma aleatoria en las clínicas veterinarias u otras instituciones pueden contribuir a que surja una buena inmunidad poblacional sin haber sido diseñada previamente, o por el contrario conseguir una inmunidad poblacional deficiente.

De todas formas conviene citar que no solamente de forma teórica sino que en la práctica es posible estimar cuantitativamente la inmunidad poblacional utilizando datos a pequeña escala (5).

Las determinaciones serológicas de título de los anticuerpos de muestras recogidas de forma aleatoria pueden demostrar si existe una inmunidad adecuada en una población determinada (23).

Sin embargo recoger muestras representativas de una población grande puede tener un alto coste y difícil de realizar.

Una vía alternativa podría ser realizar pruebas sobre muestras de suero que se recogen para otras finalidades, aunque de esta forma se puede obtener resultados sesgados o erróneos, podría ser un comienzo para un futuro control periódico, que en parte también podría servir para evaluar posibles condiciones de riesgo.

Ahora bien este tema ha de interpretarse con sumo cuidado especialmente por personas ajenas a la profesión que suelen decidir sobre la necesidad de vacunar, revacunar, o no vacunar un animal determinado para no cometer algún error con resultado indeseable.

Para llegar a una decisión segura hay que discutir ciertas particularidades de las enfermedades contagiosas más importantes de los canidos y así evitar una conclusión simplista.

La inmunización voluntaria en el hombre ha sido una de las razones de la reaparición de enfermedades que desde hace tiempo se consideraban muy controladas. El movimiento de los oponentes a la vacunación, divulgado en las medias profanas ha contribuido sin lugar a dudas a la aparición de estos brotes.

Estos hechos han de tenerse en cuenta cuando se opta por no vacunar a un animal apoyándose en la inmunidad poblacional. Sin embargo si existe algún privilegio tiene que ser reservado para animales cuya vacunación puede comprometer su salud.

Actualmente en ciertos países como los EE .UU hay muchas clínicas que ofrecen servicios de determinación serológica para decidir sobre la revacunaciones periódicas. No cabe duda que este nuevo planteamiento seria más adecuada si se disponía además de un perfil de la inmunidad poblacional a nivel de la zona o del país.

El flujo de información por la media influye mucho sobre la decisión de los clientes respecto a las vacunaciones.

Los partidarios de homeopatía como vía “inofensiva” de inmunización pueden hacer hincapié sobre los efectos adversos de ciertas vacunas recurriendo a las literaturas alternativas, recomendando por ejemplo el uso de nosodes.

De todas formas lo que hay que subrayar es que cada vacuna tiene sus particularidades y no se puede juzgar a todas las vacunas como un producto único. La fabricación de nuevas generaciones de vacunas va abriendo camino para evitar efectos adversos y existan ya productos nuevos en el mercado.

Cabe recordar aquí los estudios realizados sobre la inmunidad poblacional en España en el campo de la medicina humana ,donde se demuestra la necesidad de vacunaciones adicionales para conseguir una inmunidad poblacional adecuada en frente de múltiples agentes infecciosas (6, 7). No cabe duda que sin consejo con los expertos algunos casos de rechazo de vacunación pueden aportar consecuencias indeseables.

Volviendo al tema de inmunización canina hemos de considerar que para una toma de decisión acertada en situaciones especiales pueden ser de interés los datos siguientes:

1. Conocimiento de Umbral de la inmunidad poblacional (Prevalencia actual)
2. Prueba de detección del nivel de anticuerpos individuales
3. Historial sanitario

Puesto que la vacunación de los perros se realiza de forma aleatoria, un ensayo serológico de titulo de anticuerpos sobre unas muestras

representativas de una zona determinada nos puede aportar la prevalencia de anticuerpos protectores en porcentaje (%) que de cierta forma es representativa de la inmunidad poblacional (23).

DISCUSIÓN

La realización de un plan de vacunación no ha de considerarse como una inmunización 100% eficaz. Cabe recordar el caso de la inmunidad poblacional en Finlandia frente al moquillo canino, donde a pesar de una cobertura vacunal satisfactoria la inmunidad poblacional no era más de 50- 65 % en 1990-1993 esto se debía al uso de una vacuna poco inmune, combinado con otra vacuna más efectiva en 1995 la inmunidad poblacional llegó al 90% coincidiendo con fin de la epidemia (16).

Al igual que la inmunidad poblacional puede dar lugar a que un animal no vacunado escape a una infección del campo, también puede ocurrir que un animal vacunado contraiga la infección contra la cual haya sido vacunado.

Los fallos vacunales pueden ser debidos a varios factores a pesar de la interferencia de anticuerpos maternos, hay otros factores de tener en cuenta para evitar la confusión en el momento de la interpretación de los resultados de vacunación o cuando se pone en duda la necesidad de cumplir con los protocolos de vacunación (24).

Una de las razones de la aparición de ciertos fallos vacunales es la aparición de nuevas variantes que no están incluidas en las vacunas utilizadas.

La habilidad de muchos virus de evadir los mecanismos de defensa de huésped mediante variación antigénica fue demostrada hace mucho tiempo. Sin embargo la capacidad que han desarrollado los virus para codificar proteínas que bloquean mecanismos concretos de defensa antiviral se ha empezado a describir en los últimos años.

Existen muchas proteínas virales con función desconocida y no hay duda de que gran número de estas proteínas están implicadas en nuevas estrategias virales de evasión al sistema inmune. El hecho de que todavía no se haya identificado estas estrategias virales refleja nuestro limitado conocimiento de los mecanismos moleculares inmunes.

La compleja interacción de cada virus con el sistema inmune es diferente, y el mejor conocimiento de esta interacción dará lugar a nue-

vas estrategias para inhibir la replicación viral y nos conducirá al diseño de vacunas más eficaces (25).

El parvovirus canino (CPV) que provoca enteritis hemorrágica en canidos tiene 3 variantes antigénicas: tipos 2a, 2b y 2c, el método de determinación molecular de la distribución de variantes de CPV en Europa ha demostrado que el nuevo variante CPV-2c está repartido en Europa y distribuido en distintos países (10, 20). ¿Protegen las vacunas existentes adecuadamente contra la nueva variante o tienen que reemplazarse con vacunas homologadas?.

La existencia de variantes antigénicas distintas de la variante vacunal puede provocar la infección de animales vacunados como casos reportados de Italia de Parvovirus Canina (4, 10), donde sugieren el puesto al día de métodos de diagnóstico y la fabricación de vacunas actualizadas para evitar el problema. Lo mismo puede ocurrir con Adenovirus canino (9, 12).

El virus de moquillo también tiene distintas cepas como las aisladas en Estados Unidos (27) que fueron diferentes de la cepa vacunal.

Hay informes también sobre distintas cepas aisladas en China tanto de granjas de peletería (21) como en otros carnívoros vacunados (visones, zorros y perros mapache) (28).

Otro punto de tener en cuenta es el rango amplio que tienen ciertos virus que infectan a los canidos. El virus de moquillo (CDV) afecta a un rango amplio de carnívoros como el zorro, tejones, perros mapache etc., (17, 18, 15). También existen ciertos informes sobre la prevalencia de anticuerpos de moquillo en gatos domésticos (22).

Otro de los aspectos que hay que considerar es la diferencia de la inmunidad poblacional para las bacterias respecto a los virus.

La inmunidad poblacional no es lo mismo para las bacterias y los virus. Exceptuando ciertos virus como los herpesvirus que provocan infecciones crónicas y asintomáticas, los virus producen enfermedades sintomáticas y no producen estado portador que sirve como reservorio de infección, por tanto son más fáciles de controlar.

Las bacterias, al contrario de los virus, a menudo pueden afectar a los animales sin provocar enfermedad. Este estado portador puede actuar como una especie de vacunación desarrollando inmunidad frente a la bacteria involucrada. Sin embargo los portadores asintomáticos siguen sirviendo como una fuente de infección para otros individuos.

La vacunación reduce el número de animales portadores cosa que es vital para la prevención de infecciones bacterianas.

Aquí la inmunidad poblacional funciona reduciendo el número de individuos potadores de modo que se reduce o se detiene la exposición de individuos arriesgados.

Con los virus lo más importante es detener la expansión de la infección de modo que cuando no hay individuos vulnerables en la población la enfermedad no puede difundirse y perpetuar. La inmunidad poblacional de todas formas es menos eficaz frente a las bacterias que los virus.

De otra parte como la vacunación nunca puede ser 100% efectiva, y habiendo animales que no responden genéticamente a las vacunas y otros problemas que pueden comprometer una vacunación eficaz, hay que actuar con sumo cautela cuando se introduce nuevos animales donde la vacunación no sugiere la existencia de una protección indirecta.

La inmunidad frente a las bacterias se desarrolla más lentamente y la duración de la inmunidad es muy corta en comparación con las enfermedades víricas sistémicas. Es necesario vacunar más frecuentemente a los animales para aumentar la inmunidad poblacional (24).

La Tos de perreras, una enfermedad provocada por el virus de *Parainfluenza* y *Bordetella* bronchiseptica, es un ejemplo interesante a analizar en el contexto de enfermedades que requieren una prevención poblacional. Esta enfermedad del tracto respiratorio superior se difunde rápidamente, su periodo de incubación es de 3 a 7 días, se manifiesta clínicamente con el estornudo y tos y puede durar de 3 días a 7 semanas. Es importante tener en cuenta que la vacunación contra la Tos de perreras puede dar respuestas heterogéneas. Algunos animales pueden afectarse a pesar de estar vacunados pero los síntomas serán mucho más leves. Habrá otros animales que no presentan ningún síntoma a pesar de no estar vacunados.

Los animales que pueden sufrir más esta infección son animales con problemas cardiorespiratorios y animales con carácter anatómico de hocico corto, estos animales además están más predispuestos a sufrir efectos adversos si se vacunan con la vacuna viva, por lo que si se dispone de suficiente tiempo para la inmunización es recomendable el uso de vacunas inactivadas sobre todo en caso de propietarios que se preocupan mucho incluso para cualquier sintomatología leve y pasajero.

Los animales que se alojan en los albergues requieren dosis de refuerzo adicionales (24).

Cuando más alta es la densidad poblacional y más contagiosa la enfermedad, se requiere la adopción de un umbral más alto para la vacunación, en otros términos el porcentaje de animales vacunados ha de ser mas alta.

Otro tema a considerar es la estimación aproximativa de la inmunidad poblacional en poblaciones de destino cuando surge el desplazamiento de algún animal.

Desafortunadamente la inmunidad poblacional no puede estar averiguada de forma aproximada sin tener cierta idea de la demografía de animales en distintos lugares o países y la proporción aproximativa de animales que suelen vacunarse, entre otros.

La estimación de la población canina no es un tema fácil, ciertos investigadores han recurrido a datos de las clínicas veterinarias, compañías de seguros de animales, registros de microchip ,registros de club caninos y esquemas de viajes de animales de compañía (13). Aunque todavía queda incluir a los animales sin propietarios (14).

De todas formas no cabe duda que tanto el desconocimiento de la situación sanitaria como el aumento de riesgo de contacto en países donde la densidad poblacional es más alta, hacen de tener una actitud prudente respecto a administrar dosis de refuerzo para desplazamientos importantes.

Un repaso a los datos de la demografía canina de la zona de destino puede influir en el momento de toma de decisiones, aunque estos datos no sean tan precisos.

CONCLUSIÓN

La evaluación cuantitativa de la inmunidad poblacional en los cánidos puede ser utilizada como un panel de control de las enfermedades infecciosas usando la prevalencia serológica como un centinela.

Un muestreo representativo de una zona determinada puede aportar suficiente información a este respecto, facilitando la cobertura vacunal necesaria para detener posibles rebrotes de las epidemias ya controladas.

El reflejo de la polémica de inmunidad poblacional de la medicina humana con los resultantes resurgimientos de casos de epidemias

controladas antaño ha influido en la opinión de los dueños respecto a la vacunación de sus mascotas.

Hay necesidad de comunicar los pormenores y porqués de los fallos y efectos adversos, explicando la teoría de la inmunidad poblacional, así como otras particularidades de la inmunización como la existencia de variantes antigénicas (los mutantes) que son distintos de las cepas incluidas en las vacunas, y la particularidad de las infecciones bacterianas en comparación con las víricas para evitar que surjan casos parecidos en la veterinaria.

La falta de enfermedad de un animal no vacunado, o al contrario el contagio de un animal vacunado puede tener varias razones, algunas muy fáciles de acertar.

Uno de las aplicaciones de la inmunidad poblacional es sin lugar a dudas en animales cuya vacunación puede haber sido contraindicada por intolerancia de ciertas vacunas o por presentar un cuadro de anafilaxia.

Hay que cuidar a la inmunidad poblacional sin olvidar que no es sinónima de la inmunidad biológica.

Sería conveniente antes de retroceder y buscar en métodos misteriosos de prevención del pasado, mirar hacia el prometedor aporte de las tecnologías del futuro.

BIBLIOGRAFÍA

1. Smith PG. Concepts of herd protection and immunity *Procedia in Vaccinol* 2010; 2:134-139.
2. Fine P. Herd immunity: History, Theory, Pract *Epidemiol Rev.* 1993;15(2):265-302.
3. Fine P, Eames K, Heymann DL. Herd Immunity A Rough Guide *Clin Infect Dis* (2011) 52(7):912-916.
4. Decaro N, Buonavoglia C. Canine parvovirus - A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c *Veterinary microbiology* 155 (2012):1-12.
5. De Jong MCM, Bouma A. Herd immunity after vaccination: how to qualify it and how to use it to halt disease. *Vaccine* 2001;19:2722-2728.

6. Plans-Rubio P. Evaluation of the establishment of herd immunity in a population by means of serological surveys and vaccination coverage. *Hum Vaccin Immunother* 2012;8(2):184-188.
7. Plans-Rubio P. The vaccination coverage required to establish herd immunity against influenza viruses. *Prevent Med* 2012;55:72-77.
8. Rodpothong P, Auewarakul P. Viral evolution and transmission effectiveness. *World J Virol* 2012;1(5):131-134.
9. Cavanagh, H.M.A., Gallagher CF, Spibey N: A mutant of canine adenovirus type-2 with duplication of the E1a region exhibits altered expression of early region 4. *J Gen Virol* 1991;72:2121-2127.
10. Decaro N, Desario C, Addie DD, Martella V, Vieira MJ, Elia G, Zicola A, Davis C, Thompson G, Thiry E, Truyen U, Buonavoglia C. Molecular epidemiology of canine parvovirus, *Eur Emerg Infect Dis* 2007;13(8):
11. Blumberg S, Lloyd-Smith JO. Comparing methods for estimating R_0 from the size distribution of subcritical transmission chains. *Epidemics* 2013;5(3):131-145.
12. Balboni A, Mollace C, Giunti M, Dondi F, Prosperi S, Battilani M. Investigation of presence of canine adenovirus (CAV) in owned dogs in Northern Italy. *Res Vet Sci* 2014;97(3):631-636.
13. Asher L, Buckland EL, Phylactopoulos CI, Whiting MC, Abeyessinghe SM, Wates CM. Estimation of the number and demographics of companion dogs in the UK *BMC Vet Res* 2011;7:74.
14. Morters MK, Mc Kinley MK, Conlan AJ, Cleaveland S, Hampson K, Whay HR, Damriyasa IM, Wood JLN. The demography of free-roaming dog populations and applications to disease and population control. *J Appl Ecol* 2014;5(4):1096-1106.
15. Frolich K, Czupalla O, Haas L, Hentschke J, Dedek J, Fickel J. Epidemiological investigations of canine distemper virus in free-ranging carnivores from Germany. *Vet Microbiol* 2000;74(4):283-292.
16. Rikula, U. Canine distemper in Finland: Vaccination and epidemiology *Evira Research Reports-1/2008*.

17. Endo Y, Ulema M, Miura R, Tsukiyama-Kohara K, Tsujimoto H, Yoneda K, Kai C. Prevalence of canine distemper virus, feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in captive African lions (*Panthera leo*) in Japan. *J Vet Med Sci* 2004;66(12):1587-1589.
18. Cha SY, Kim EJ, Kang M, Jang SH, Lee HB, Jang HK. Epidemiology of canine distemper virus in wild racoon dogs (*Nyctereutes porcynoides*) from South Korea. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2012;35(5):497-504.
19. Tizard IR: The use of vaccines, in *Veterinary Immunology* 9th Ed. Elsevier Saunders, 2012, pp. 272-282.
20. Filipov C, Decaro N, Desario C, Amorisco F, Sciarretta R, Buonavolgia C. Canine parvovirus epidemiology in Bulgaria *J Vet Diagn Invest* 2011(23):152-154.
21. Wang F, Yan X, Chai X, Zhang H, Zhao J, Wen Y, Wu W. Differentiation of canine distemper virus isolates in fur animals from various vaccine strains by reverse transcription-polymerase chain restriction fragment length polymorphism according to phylogenetic relations in China. *Virology J* 2011;8:85.
22. Ikeda Y, Nakamura K, Miyazawa T, Chen M-C, Kuo T-F, Lin JA, Mikami T., Kai C, Takahashi E. Seroprevalence of canine distemper virus in cats *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology Clin Vaccine Immunol* 2011;8(3):641-644.
23. Plans P. Prevalence of antibodies associated with herd immunity: a new indicator to evaluate the establishment of herd immunity and to decide immunization strategies. *Med Decis Making* 2010; 30(4): 438-443.
24. Shokouhi V. Bases practicas de elaboracion y modificacion de los protocolos de vacunacion en canidos. *Prof Veterinaria* 2016;86:76-90.
25. Alcamí A. Mecanismos de evasión de la respuesta inmune en Virus Patógenos, Editorial Helice, 2009 pp: 479-496.
26. Nicho J. The SIR Epidemiology Model in Predicting Herd Immunity. Undergraduate. *UJMN One+Two* 2010;2(2), Article 8.

27. Kapil S, Allison RW, Johnston L, Murray BL, Holland S, Meinkoth J and Johnson B. Canine Distemper Virus strains circulating among North American dogs. *Clin Vaccine Immunol* 2008;15(4):707-712.
28. Zhao J, Zhang H, Bai X, Martella V, Bo H, Sun Y, Zhu Zhang L, Liu H, Xu S, Shao X, Wu W, Yan X. Emergence of canine distemper virus strains with two aminoacids substitutions in the haemagglutinin protein, detected from vaccinated carnivores in North-Eastern China in 2012-2013 *Vet J* 2014;200(1):191-194.

GANADORES PREMIOS RACVE 2016
III PREMIO LABORATORIOS OVEJERO
ASPECTOS RELEVANTES DE LA EVOLUCIÓN
EMBRIOLÓGICA EN OJOS DEL POLLO DOMÉSTICO
(GALLUS GALLUS)
PROF. DR. D. JOSÉ P. CIRIACO TISTA OLMOS

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue revisar el desarrollo embriológico de una especie animal domestica, desde la fecundación hasta su formación o desarrollo total, desde luego el órgano de nuestro interés, en este caso el globo ocular.

En virtud del tiempo que requiere el desarrollo embriológico total en cada especie animal, es muy variable, por ello se consideró a una que por su rapidez en dicha evolución fuera factible estudiarla. Tal situación permitió utilizar al pollo doméstico que en este caso fue de raza Legorn (*Gallus gallus*) mismo que desde la ovoposición hasta el término de su formación se logró en 21 días (1, 2, 3, 5)

Esta especie animal permite facilidad en la obtención de embriones a distintas etapas ya que los huevos mantienen su desarrollo embriológico una vez colocados en la incubadora.

ABSTRACT

This work has the goal of looking through the embryonic development of a domestic animal, since it is fertilized to its total development, focusing our interest in the eyeball.

The time required for the complete embryonic development is variable in all animal species, but since the chicken has a rapid embryonic development it makes it a privileged model in developmental studies. In the present research we use a domestic chicken breed: Legorn (*Gallus gallus*), which its embryonic development, since its fertilization until it extricates itself lasts 21 days.

This animal model, allows an easy embryo extraction, from the different stages of development because the eggs maintain its embryonic development by keeping them on the incubator.

INTRODUCCIÓN

El objetivo del presente trabajo fue revisar el desarrollo embriológico de una especie animal doméstica, desde la fecundación hasta su formación o desarrollo total el órgano de nuestro interés fue el globo ocular.

El tiempo que requiere el desarrollo embriológico total en cada especie animal, es muy variable, por ello se consideró al pollo doméstico que en este caso fue de raza Legorn (*Gallus gallus*), por su rapidez en dicha evolución. Se analizó el desarrollo en esta especie, desde la ovoposición hasta el término de su formación que se logró en 21 días (1, 2, 3, 5)

Esta especie animal permite facilidad en la obtención de embriones a distintas etapas ya que los huevos mantienen su desarrollo embriológico una vez colocados en la incubadora.

MÉTODO DE TRABAJO

Los tiempos que se consideraron para la revisión de dichos embriones fueron al azar dando algunos días entre cada uno de ellos. Tales tiempos de colección fueron a los 6, 8, 12, 16 y 20 días.

Para un estudio más completo, se consideró lo siguiente:

- Que ojos de embriones con 6 y 8 días se hicieran incluidos en el cráneo con la finalidad de observar otras estructuras anexas. (Fig.1) (1, 2, 14, 15)

- Los ojos de embriones colectados de todos los días, fueron enucleados y colocados en formol al 20% para su proceso de histoquímica, y posterior inclusión en parafina. (15, 16)
- Se realizaron cortes en micrótomos con 3 y 5 micras, para acto continuo pasar a tinción con hematoxilina. (15, 16)

RESULTADOS

6 días

El primer espécimen estudiado fue un embrión a los seis días de evolución, puesto que previamente se habían revisado otros de menor tiempo sin obtener resultados visibles en los que fuera factible observar desarrollo de algunas estructuras.

En este se observó que los párpados no se han formado, la córnea está representada por un epitelio de 2 o 3 células (2, 5, 6, 7, 9, 13). La copa óptica está formada y el cristalino aun no acaba de cerrar completamente la vesícula cristalina. (1, 2, 4, 5, 6) (Fig. 2)

No se ha desarrollado el cuerpo ciliar. La retina está formada por 2 o 3 hileras sin observar separación en capas. (8,11). El epitelio pigmentado está constituido por 2 o 3 hileras de células y muy separado de la retina (Fig.3). No hay cartílago rodeando la copa óptica, no se ha formado la coroides y tampoco se observa nervio óptico. (1, 2, 3, 9, 11, 12, 13, 14)

8 Días

En el embrión de 8 días, se realizó corte horizontal de la cabeza y en la observación se encontró que en esta etapa todavía no se han formado los párpados solo se encuentran pequeños mamelones temporales. (1, 2, 3, 17) (Fig. 3).

La córnea muestra un epitelio de una sola hilera de células, por debajo de él una zona que representa una delgada membrana basal (lo que sería Bowman) (1, 3, 8, 9), un estroma laxo y una hilera irregular de células endoteliales tapizando la cara posterior de la córnea sin membrana de Descemet. El cuerpo ciliar y el iris muestran sus dos epitelios, pigmentado y no pigmentado (1, 2, 6, 8). No se observan estructuras musculares en el iris. La pupila es amplia. El ángulo de la cámara anterior es abierto y rodeado de tejido mesenquimatoso laxo. (Fig. 4). El cristalino se ve igual que en el humano con su capsula, y el epitelio

recubriendo solamente todo el sector anterior con abundantes núcleos en el ecuador (1, 8, 12). La cámara vítrea ocupada por tejido acelular muy laxo y centralmente por el pecten que parte de la papila. La retina en el polo posterior muestra de afuera hacia adentro las siguientes capas: epitelio pigmentado de una sola hilera de células, una gruesa capa de células fusiformes y redondas con separación de las más internas en una sola hilera celular (células ganglionares), una delgada capa acelular (fibras nerviosas) y una limitante interna. Por debajo del epitelio mesenquimatoso laxo correspondiente a coroides. (Fig. 5) La esclerótica constituida casi en su totalidad por tejido cartilaginoso. La capa de fibras nerviosas de la retina se engruesa para formar la papila, en la que se observan superficialmente grupos celulares que recuerdan la papila de Bergmeister (15). El nervio óptico intraocular muy delgado se ensancha para unirse con el del lado opuesto. (1, 2, 3, 8, 12)

12 Días

A los 12 días, el ojo del embrión presenta aspectos importantes: los párpados no se han cerrado, en cambio la membrana nictitante ya se encuentra desarrollada (Fig. 6). La córnea muestra epitelio, estroma y células endoteliales (Fig. 7), el espacio de Fontana (plexo venoso en animales) no se ha formado. El iris poco desarrollado y los procesos ciliares poco prominentes. El cristalino con su capsula, epitelio anterior sin alteraciones. El vítreo ocupado por material fibrinoso. La retina hacia el polo posterior muestra conos y bastones, la limitante externa y sus capas nucleares con área ganglionar bien desarrollada. El pecten poco desarrollado (Fig. 8). El nervio óptico se une con el otro globo ocular para formar el quiasma (6, 7, 10). La coroides poco desarrollada y la esclerótica totalmente cartilaginosa. (1, 2, 3, 5, 8)

16 días

Después de 16 días en su desarrollo, el ojo observa que los párpados están abiertos (9, 11) y en su espesor contienen fibras de músculo liso y tejido conjuntivo denso. Su cara posterior tapizada por un epitelio poli estratificado, con algunas células mucosas. Se observan las estructuras de la membrana nictitante y los fondos de saco conjuntival formados. La cornea tiene un epitelio con tres capas celulares. Lo que corresponde a la lamina de Bowman (10) (lamina basal) es visible. El estroma corneal presenta densidad variable. Hay endotelio unicelular y no se observa membrana de Descemet. El estroma del iris muy celular con 2 epitelios posteriores pigmentados, la cámara anterior bien formada (Fig. 9). El cristalino con capsula y con epitelio solo en su hemisferio ante-

rior. El límite esclero-corneal bien definido. El cuerpo ciliar con sus procesos muy desarrollados. La cavidad vítrea con tenues redes fibrosas. La retina en casi toda su extensión tiene de fuera adentro, capa de conos y bastones, plexiforme interna, capa de células ganglionares, capa de fibras nerviosas y limitante interna. (Fig. 10). La coroides con escaso tejido conjuntivo y vasos sanguíneos. El pecten y el nervio óptico muy desarrollados. La esclerótica constituida por cartílago en toda su extensión. Los músculos extra oculares constituidos.

20 días

El día 20, el desarrollo del embrión, es decir uno antes de finalizar la etapa total embrionaria (21 días) (5, 6, 8), se encontró lo siguiente: en términos generales todas las estructuras son semejantes a las observadas en la etapa de 16 días, aunque tal desarrollo es más completo, además los párpados parecen abiertos aunque solo en su parte media, la cornea está completada y se observa la supuesta lámina de Bowman (capa basal) (Fig. 11), el pecten ya aparece completo (Fig. 12) y la retina presenta todas sus capas, observando parte del nervio óptico.

CONCLUSIONES

Sin lugar a duda, el conocer la evolución embriológica de los seres vivos desde el punto de vista histológico es un privilegio que nos brinda la ciencia, sobre todo teniendo elementos auxiliares como el microscopio, micrótopo, histoquinete, métodos de tinción para observar contraste celular, y llevar a cabo estudios de bioquímica en los que son factibles colorantes específicos para que de forma selectiva se estudien, el ADN, proteínas, etc.

La embriología, rama de la ciencia médica que nos permite observar la formación celular integral de los seres vivos, nos demuestra el desarrollo paso a paso, de cada estructura, tejido, u órgano, el observar ese desarrollo, de como cada célula o tejido conoce su lugar de acomodo sin equivocación, nos hace sentir pequeños para entender a la naturaleza.

Este trabajo nos brinda la oportunidad de observar detenidamente el desarrollo de un órgano de importancia vital para la mayoría de los seres vivos, desde su primera fase hasta su conformación total, nos permite considerar que de esta manera se desarrolla ese mismo órgano en otras especies animales, sin embargo es difícil y un tanto complicado estudiar a cada especie ya que tiene diferente tiempo para su desarrollo

embriológico total, como ejemplo se mencionan algunos de ellos: Perros 62 días, Leones 108 días, caballos 336 días cerdos 115 días, elefantes 660 días.

De esta manera, los que hemos participado en este estudio, esperamos contribuir a la medicina veterinaria en su parte de anatomía comparada y desde luego a la rama oftalmológica.

Me permito ofrecer mi reconocimiento y agradecimiento al Dr. Alfredo Gómez Leal, Profesor y Jefe de Patología del APEC Coyoacán Mex y al personal del propio laboratorio por el procesamiento de las muestras utilizadas para el presente trabajo.

FOTOGRAFÍAS DEL TEXTO



Fig. 1 Ojos incluidos en el cráneo con la finalidad de observar otras estructuras anexas

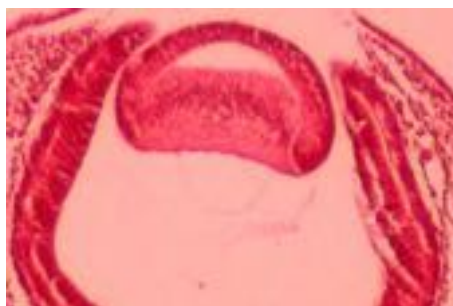


Fig. 2 El cristalino aun no acaba de cerrar completamente la vesícula cristalínea



Fig. 3 Los párpados no se han formado. Solo hay pequeños mamelones temporales



Fig. 4 El ángulo de la cámara anterior es abierto y rodeado de tejido mesenquimatoso

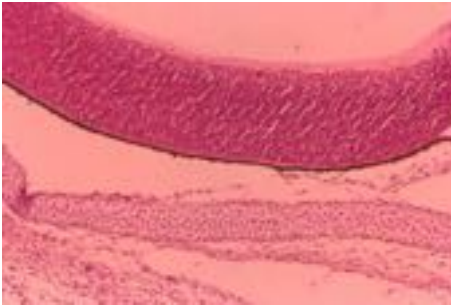


Fig. 5 Se observa epitelio mesenquimatoso laxo, correspondiente a coroides

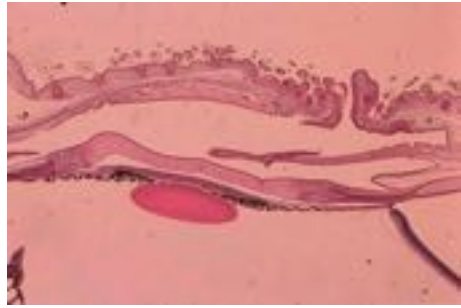


Fig. 6 La membrana nictitante ya se encuentra desarrollada

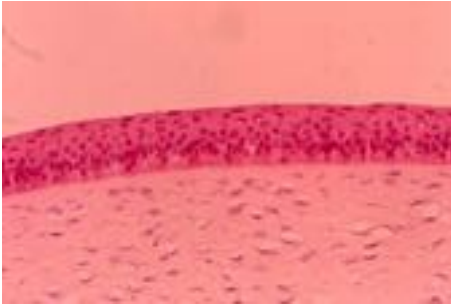


Fig. 7 La córnea muestra epitelio, estroma y células endoteliales



Fig. 8 El pecten se observa poco desarrollado



Fig. 9 El estroma del iris muy celular con 2 epitelios posteriores pigmentados. La cámara anterior bien formada

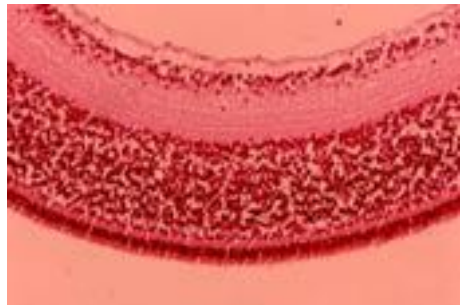


Fig. 10 Capa de células ganglionares, capa de fibras nerviosas y limitante interna



Fig. 11 La cornea esta completada y se observa la supuesta lámina basal



Fig. 12 El pecten ya aparece completo

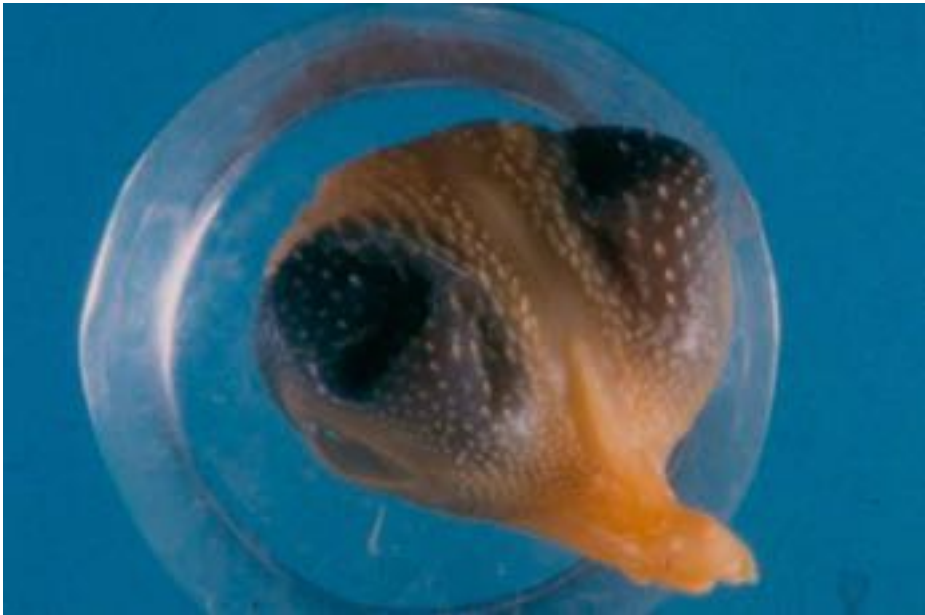


Foto de embrión a los 12 días

BIBLIOGRAFÍA CITADA

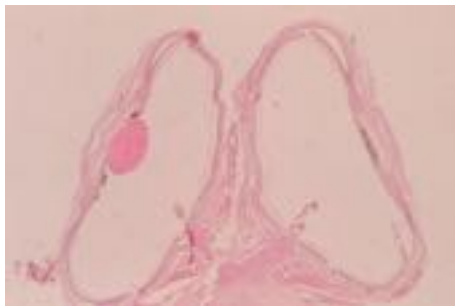
1. Keith L.M. Embriología Básica, 3ª ed. México: Ed. Interamericana. Mc. Graw Hill. 1980.
2. Carlson BM. Embriología Básica de Patten, 5ª Ed México: Ed. Interamericana Mc. Graw Hill. 1990.
3. Gartner PL, HiattJI, Histología (Texto/Atlas). 2ª ed. México. Mc Graw Hill Interamericana 1997.
4. Mc.Graw Hill Diccionario Enciclopédico de las Ciencias Médicas. México, D.F 1985.

5. Pearson RG. The avian brain. 1ª Ed. London: Academic Press INC, 1972.
6. Romero GE, Manual de la Anatomía y Fisiología del Ojo y sus Anexos en el perro y el gato: Estudio Recapitulativo (tesis licenciatura). México, FMVZ UNAM, 1998.
7. Peiffer RL, Petersen-Jones SM. Small Animal Ophthalmology a problem- oriented approach. 2ª Ed. London: W.B. Saunders 1997.
8. Tista, OC. Oftalmología en Animales, 1ª Ed. Trillas México D.F. 2009.
9. Prience JH, Diesem CD, Eglitis I, *et al.* Anatomy and Histology of the Eye and Orbit in Domestic Animals. 1ª Ed. USA: Springfield, Charles C, Tomas Publishers, 1956.
10. Sisson S, Grossman JD. Anatomía de los Animales Domésticos. 4ª Ed. España Salvat Editores 1981.
11. Gelatt KN, Gelatt JP. Handbook of Small Animal Ophthalmic Surgery. Vol 2: Corneal and intraocular procedures. 2ª Ed. USA: Pergamon, 1995.
12. Kent GC. Comparative Anatomy of the Vertebrates. 7ª Ed. Louisiana: Mosby Year Book, 1992.
13. Climent S, Sarasa M, Muniesa P, Terrado. J. sentido de la Vista. En: Manual de la Anatomía y Embriología de los Animales Domésticos. Zaragoza España: Editorial Acribia, 1998.
14. Samuelson DA. Ophthalmic embryology and anatomy. In Gelatt KN (ed): Veterinary Ophthalmology, 2ª Ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1991.
15. Hogan. Histology of the Human Eye. An Atlas and Textbook. 2ª Ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1971
16. Gorodner O. Z., Godoy RR. Técnica Histológica: Métodos e instrumentos para estudio de la Histología. Parte I: , Guía de actividad N°1 Facultad de Medicina de la Universidad Nacional del Noreste, 2005.
17. Castell RAE. Manual de prácticas Biología Celular e Histología Médica. Ed. Facultad de Medicina U.N.A.M., 2014.

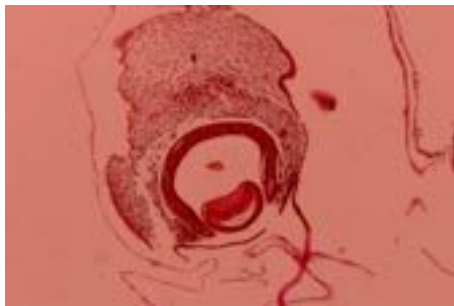
ANEXO

Como un sencillo obsequio para los amigos, colegas y académicos, que se interesan de manera especial en la embriología y oftalmología, se ponen a consideración algunas laminas histológicas, de cada uno de los días en que fueron estudiadas.

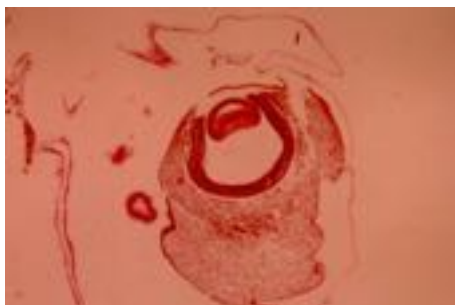
PROCESO EN DESARROLLO 6 DÍAS



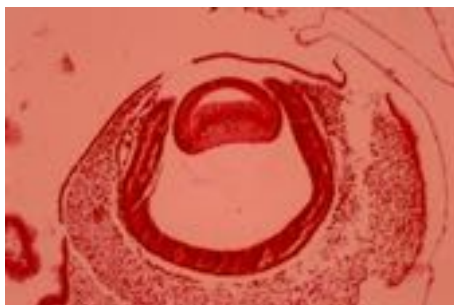
1. Se observa formación de vasa hialoidea



2. Inicia la formación de vesícula cristalínea

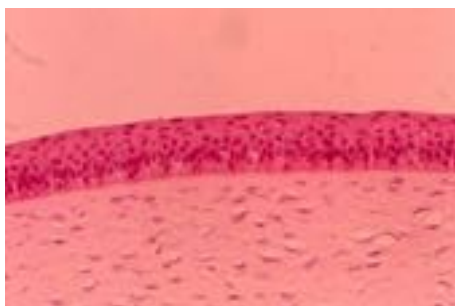


3. El mesénquima ya inicia formación del iris

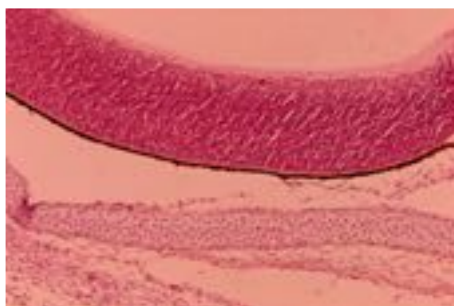


4. Inicia formación de retina, y vítreo secundario

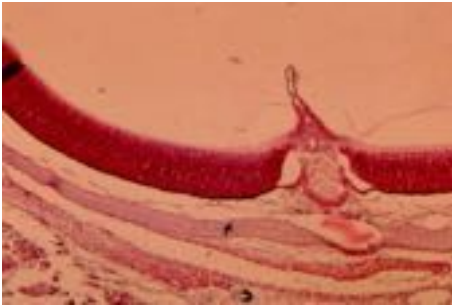
PROCESO EN DESARROLLO 8 DÍAS



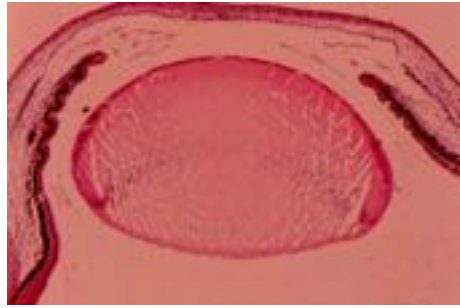
1. Cornea epitelio de una sola hilera de células



2. Retina, y esclerótica cartilaginosa



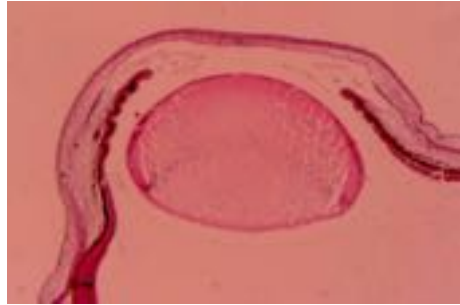
3. Retina, nervio, coroides, pecten



4. Cristalino, iris, cornea



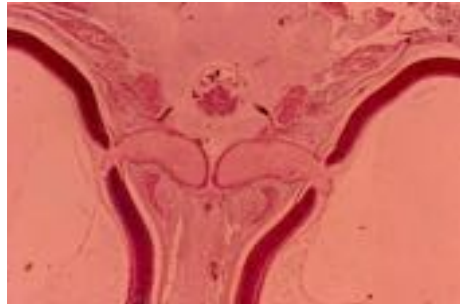
5. Iris, ángulo, cornea



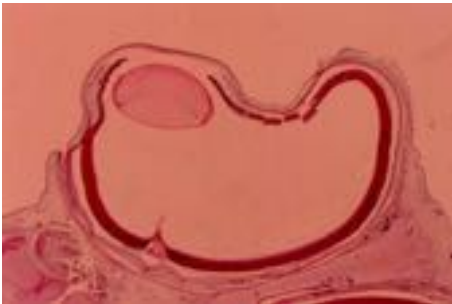
6. Cristalino, iris, córnea



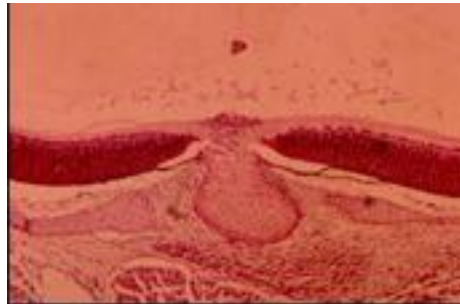
7. Córnea



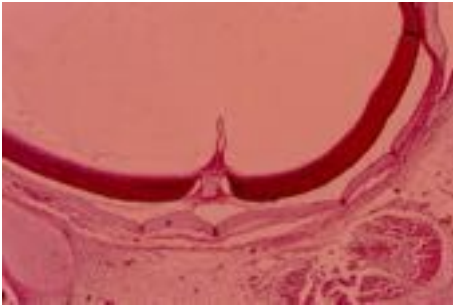
8. Nervio



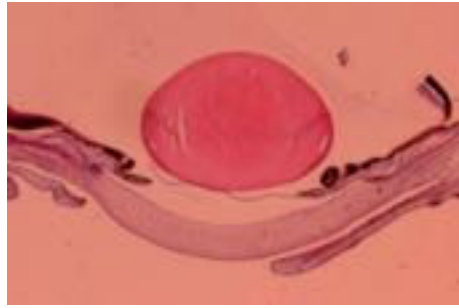
9. Córnea, iris, cristalino, S, posterior, retina



10. Retina, nervio

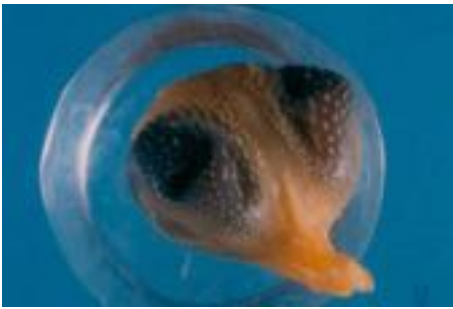


11. Nervio, inicio del pecten

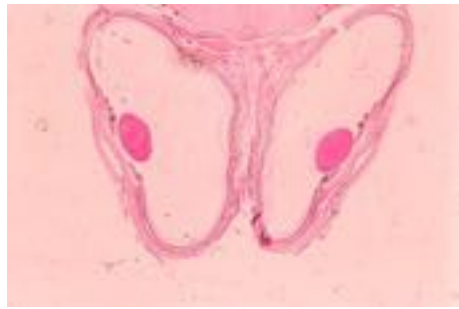


12. Cristalino, iris, córnea, parpado desarrollando

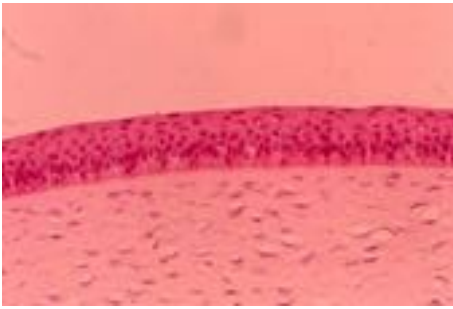
PROCESO EN DESARROLLO 12 DÍAS



1. Cráneo



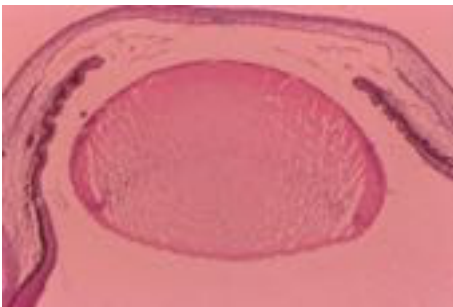
2. Cráneo histológico



3. Córnea



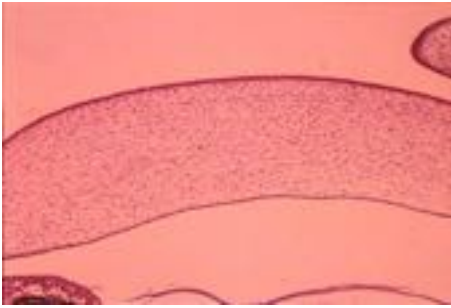
4. Coroides, Cartílago escleral



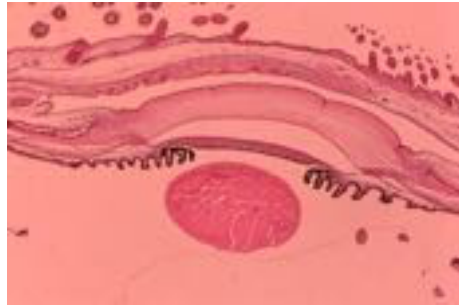
5. Cristalino, iris, cornea



6. Pecten, nervio, retina



7. Córnea



8. Cristalino, iris, córnea

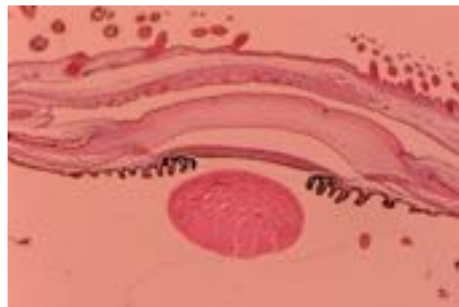


9. Pecten mas desarrollado

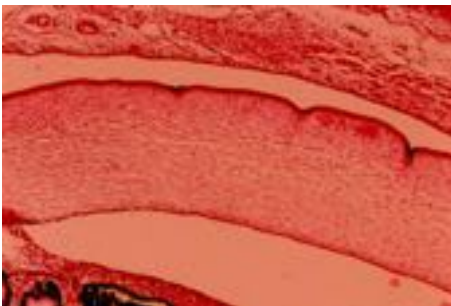
PROCESO EN DESARROLLO 16 DÍAS



1. Corte horizontal de cabeza



2. Cristalino, iris, cornea párpados abiertos



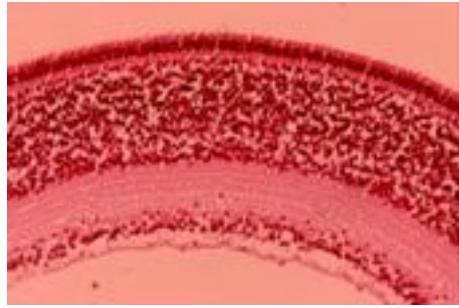
3. Córnea



4. Angulo iris, cuerpo ciliar



5. Cristalino, c. ciliar, cornea fusionada

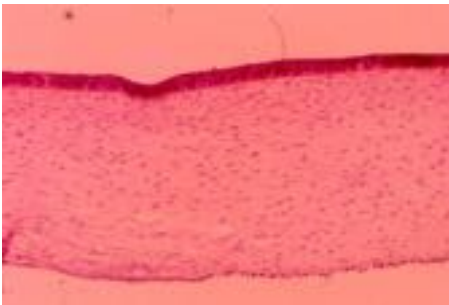


6. Retina, capa de conos y bastones

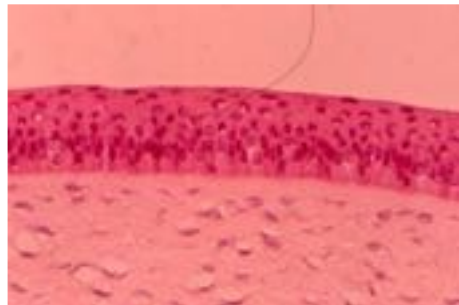


7. Pecten muy desarrollado

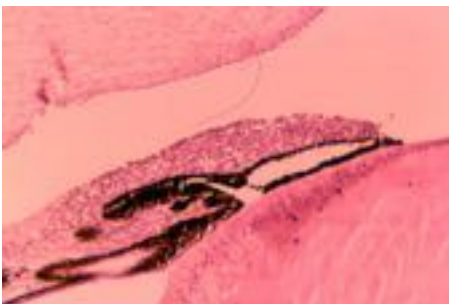
PROCESO EN DESARROLLO 20 DÍAS



1. Córnea con, lamelas colágena, endotelio



2. Epitelio corneal, lamina basal



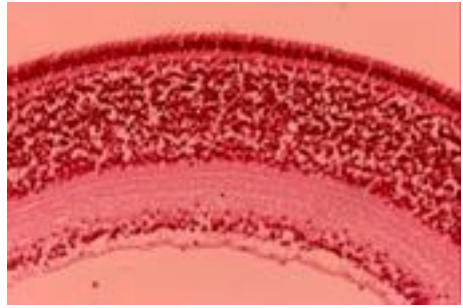
3. Iris, adherido a capsula anterior



4. Cuerpo ciliar



5. Pecten Nervio, retina, coroides plexiforme



6. Retina, capa de conos y bastones

GANADORES PREMIOS RACVE 2016

VI PREMIO INSTITUTO TOMÁS PASCUAL SANZ

LA CADENA DE VALOR DE LA LECHE EN ESPAÑA EN UN MERCADO DESREGULADO

D. JULIÁN BRIZ ESCRIBANO

RESUMEN

El análisis de la cadena del sector lácteo objeto de la convocatoria de la RACVE, en su modalidad Premio Instituto Tomas Pascual Sanz, supone una sensibilidad especial para enfocar todos los problemas que afectan a los actores involucrados en el sector lácteo, y la capacidad de buscar soluciones conjuntas, como única forma de supervivencia en un mercado cada vez mas competitivo.

El trabajo que aquí se presenta es fruto de un enfoque global, apoyado en una metodología contrastada en otros sectores agroalimentarios, así como experiencias en otros países lecheros de nuestro entorno europeo. En momentos de incertidumbre política y socioeconómica, los expertos tienen la responsabilidad de aportar líneas de trabajo para diseñar estrategias que se puedan ir modificando en función de la evolución del entorno. Describimos la situación en algunos países, pues las experiencias sirven de aprendizaje, especialmente si se identifican los errores cometidos.

El trabajo se ha apoyado en estudios y publicaciones realizadas por instituciones oficiales (Comisión de la UE, MAGRAMA), Asocia-

ciones Profesionales (UITA), y trabajos académicos tanto nacionales (Arce C, 2014) como internacionales (FAO).

ABSTRACT

This analysis of the milk sector prepared for the RACVE Awards, under the Premio Instituto Tomas Pascual Sanz modality, requires special sensibility to include the complex set of problems affecting the sector's stakeholders, as well as their capacity to come together in search of solutions that are the sole means of survival in an increasingly competitive market.

This document is the result of a global outlook, based on a comparative methodology that takes into account other agricultural sectors, in addition to experiences in the milk sectors of other countries in our European context. In times of political and socioeconomic uncertainty, experts bear the responsibility of coming up with methodologies to create strategies capable of adapting according to the evolution of the current situation. The history and status quo in some countries is described, since their experience can provide lessons by means of an analysis of errors incurred.

This study was based on studies and publications by official government organizations (European Commission, Spanish Ministry of Agriculture, Food Supply and Environment Z MAGRAMA), Professional Associations (International Union of Food Workers – UITA), and both national (Arce C, 2001) and international (FAO) academic research.

1. INTRODUCCIÓN

El sector lácteo es uno de los más significativos del sistema alimentario. Constituye una pieza esencial en la alimentación humana, con un consumo frecuente y extendido a todos los estratos de la población.

Su importancia socioeconómica es relevante al ocupar una parte del sistema productivo, siendo además de amplia y variada cobertura, desde explotaciones extensivas a intensivas. Es por ello que las políticas agrarias, como la PAC, le han dedicado una atención especial.

Simultáneamente, es uno de los sectores más dinámicos, con un sistema innovador continuo que aporta sin interrupción nuevos productos, tratando de satisfacer las necesidades del consumidor.

La cadena de valor que sustenta el sector comprende todos los eslabones: producción, industrialización, distribución y consumo, los cuales están estrechamente interrelacionados. Cualquier cambio experimentado en uno de ellos tiene repercusión en el resto, y la debilidad de la cadena está condicionada por el eslabón más vulnerable. Ello obliga a estudiar de forma integral toda la cadena por su estrecha dependencia.

Históricamente se viene presentando a las empresas de los diferentes eslabones como competidores entre sí. Hay enfrentamientos y acusaciones desleales entre ganaderos, industrias lácteas transformadoras y distribuidores. Los nuevos horizontes muestran que la verdadera competencia se va a producir entre las diversas cadenas de valor lácteas, las de producción nacional de las distintas regiones compiten con las de importación.

Las regulaciones administrativas deben tener en cuenta las consideraciones mencionadas, así como las limitaciones presupuestarias y las nuevas orientaciones políticas.

Se debe prestar atención especial a los efectos colaterales: así, por ejemplo, unos precios de garantía elevados a los productores y una liberalización del comercio exterior para apoyar a los consumidores, puede poner en situación crítica a la industria láctea, con elevados costes de la materia prima y la dificultad de transmitirlos a los otros eslabones.

Por otro lado, unos precios anómalamente bajos en producción pueden destruir el tejido empresarial ganadero y, a medio plazo, eliminar las fuentes de abastecimiento de la industria haciendo al mercado dependiente del exterior.

La propia dinámica del mercado, con su carácter innovador, está llevando a una hipersegmentación del consumidor por edad, género, capacidad adquisitiva, hábitos y costumbres tradicionales. Ello implica una mayor complejidad en el proceso productivo al diversificar la oferta y reducir los beneficios de las economías de escala. La logística y distribución se ven también afectadas. Como efectos colaterales, supone una oportunidad, tanto para las grandes empresas innovadoras como para las PYMES, que pueden ocupar segmentos de mercado de pequeñas dimensiones que no son atractivos para las grandes empresas.

El nuevo horizonte generalizado en las economías de mercado, marca una tendencia a la desregularización con menos compromiso de la Administración y mayor iniciativa empresarial. En el sector lácteo, uno de los eventos más notorios ha sido la supresión del sistema de cuotas previamente anunciado. Ello obliga a un cambio en las estrategias empresariales y una coordinación adecuada público privada que evite el colapso de sectores tan estratégicos como el lácteo. Para ello, exponemos más adelante algunos aspectos metodológicos y el material disponible que ayude a elaborar estrategias para adaptarse a la nueva situación.

El índice del trabajo supone una aproximación progresiva al conocimiento del sector lácteo español. Hay una primera visión del marco de la UE, seguido de una exposición de la situación en España, con especial hincapié en el mundo del cooperativismo, que se vislumbra como eje básico para una estrategia de sostenibilidad en toda la cadena.

El capítulo de material y métodos describe el ámbito general, que permite comprender y diseñar el panorama de nuestro sector, apoyándonos en el concepto de cadena de valor con un enfoque GLOBAL que exponemos seguidamente. Con ello incorporamos factores que habitualmente quedan fuera de los estudios, pero que tienen una importancia decisiva en la estructura, conducta y funcionamiento.

El análisis de resultados, discusión crítica y conclusiones, es una extensión de método deductivo empleado, después de los planteamientos generales y la documentación utilizada. La experiencia en otros países, perspectivas futuras y conclusiones completan el trabajo presentado.

1.1. Situación actual del sector lácteo en la UE

Actualmente, la UE pasa por un periodo de adecuación a cambios en el mercado de lácteos a nivel interno y mundial, que han llevado a importantes ajustes por parte de todos los eslabones de esta cadena de valor, con implicaciones directas a todos los actores involucrados. A continuación, se presenta un panorama de ese punto de inflexión en esa cadena.

La UE se posiciona como líder mundial con más de 150 millones de t/año de producción de leche de vaca, (Díaz Yubero *et al.*, 2016). La producción de leche es la actividad agraria más importante en

casi todos los países de la UE y según la Comisión Europea supone, alrededor del 18% del valor total de la producción agraria.

Un aspecto importante de la cadena de valor de lácteos a nivel de la UE es la dependencia del mercado internacional para mantener el equilibrio interno. Históricamente, uno de los grandes desafíos ha sido conseguir precios de mercado por encima de sus costes de producción para los productores y la existencia de desequilibrios a nivel internacional que pueden suponer desafíos para ese sector de crucial importancia para la economía, según los participantes en la conferencia *“The EU Dairy Sector: Developing Beyond 2015”*. Por lo tanto, hay que tener en cuenta que las exportaciones son esenciales para el equilibrio interno del mercado, ya que actualmente la UE abastece la fuerte demanda externa en competencia con Nueva Zelanda, Estados Unidos o Australia, sin olvidar la importancia de encontrar la forma de generar valor añadido suficiente para cubrir los costes de producción.

Algunas de las vulnerabilidades que supone esa dependencia en el mercado internacional son eventos como la primavera árabe, los cambios climáticos, enfermedades y los temas sanitarios. Por otro lado, se espera que la demanda a nivel internacional siga creciendo a un ritmo constante a lo largo de los próximos años.

Sin embargo este crecimiento va acompañado de una volatilidad alta de los precios de insumos y del precio final de los productos, debido a los factores expuestos anteriormente. Una de las principales preocupaciones actuales está relacionada con la búsqueda de formas de protección para los productores frente a esa volatilidad.

No hay consenso entre los representantes del sector, como demuestra el informe de la conferencia *“The EU Dairy Sector: Developing Beyond 2015”*, acerca de que las medidas de la Política Agraria Común sean suficientes para cumplir ese papel de protección de los productores. Por ello, además de la demanda de nuevos instrumentos de financiación para optimizar el aprovechamiento de las oportunidades existentes en la misma PAC, hay una preocupación por buscar nuevos instrumentos de protección para adecuar la cadena de valor a la realidad que se presenta.

Acerca de los temas relativos al equilibrio de mercado y competitividad, un importante cambio fue el fin del sistema de cuotas en 2015, lo que ha acelerado las diferencias regionales. Esa heterogeneidad, vista

por muchos como negativa, puede ser inevitable, y las organizaciones de productores no siempre son capaces de redistribuir el poder de negociación para homogeneizar el valor añadido a sus productos, aunque aporten otros beneficios para la producción, logística y servicios.

Según expertos, ese panorama incluye una evolución divergente entre regiones. Se espera que un 25% de los países aumente su producción a lo largo de los próximos años, mientras que el 50% se espera que produzcan menos, siendo ambos modelos de producción poco sostenibles. Los países que experimenten crecimiento de la productividad necesitarán de límites ambientales, financieros y de bienestar animal. Por el contrario, los países en los que hay abandono de la producción debido a costes altos (en especial Estados Bálticos, Rumania, Bulgaria y Estados más al sur) deberán buscar alternativas reales como la producción de carne y otros nichos de mercado, para evitar la pérdida de empleo y la disminución de vitalidad de las zonas rurales.

Por ello, se torna importante buscar formas más sostenibles de producir, donde no solo importa el volumen de producción y la intensificación, sino que se da importancia a la gente y al ambiente. Eso supone también que se encuentren respuestas a asimetrías a favor de minoristas y otros problemas percibidos por los productores.

1.1.1. Evolución de la PAC

La política de la UE para lácteos existe desde los años 1960, con el fin de proporcionar condiciones estables de mercado para productores de leche de la UE. Esta política sufre actualizaciones constantes para adecuarse a los cambios de mercado.

En junio de 2003, se implementaron cambios significativos en la PAC de la UE. Esos cambios dieron seguimiento a una reforma que tuvo inicio en 1992, con el objetivo de trasladar el apoyo a los productores que garantizaba precios mínimos a pagos directos al productor. Eso supondría trasladar el enfoque del primer pilar de la PAC (programas de apoyo específicos a commodities) al segundo pilar (medidas transversales de promoción de la sostenibilidad social y ambiental en el medio rural).

Aunque se haya buscado reducir la presión de los gastos de la agricultura en el presupuesto, en 2002, esos gastos todavía representaban el 47% del total de gastos de la UE, aportando la agricultura solo el 4,2% de los puestos de trabajo y 1,7% del PIB.

El mercado internacional presionaba a la UE para cambiar lo que se consideraban políticas proteccionistas que generaban distorsiones en el mercado. Por otro lado, el mercado interno de la EU presionaba a los productores para bajar los precios, debido a que, a pesar del apoyo recibido, los alimentos se consideraban caros en comparación con el mercado internacional. Además, se les presionaba demandando su atención en temas relacionados con el medio ambiente, paisaje, calidad alimentaria y bienestar animal.

La primera gran reforma de las políticas de la PAC creadas en los años 1960 fue realizada en 1992, con el objetivo de cambiar el enfoque y pasar de aumentar los precios a los consumidores a pagar directamente a los productores con el presupuesto de la UE (Burrell, 2004). Esa reforma permitió a la UE cambiar la posición de negociación lo que resultó un éxito en el Acuerdo General sobre Aranceles y Comercio (GATT). Otras reformas en el mismo sentido se implementaron con la Agenda 2000. El sector de lácteos se había quedado fuera de la reforma de 1992, aunque hubo una serie de medidas y cuotas posteriores que llevaron a la creencia de que el presupuesto destinado al sector estaba controlado. Además, se consideraba que el sector lácteo era altamente sensible políticamente, lo que explicaba la resistencia a las reformas.

En líneas generales, dentro de la UE, Francia y Alemania producen juntas el 43% de la leche, en proporciones similares. La producción en ambos países se basa en gran parte de pequeños productores familiares, cuya supervivencia depende de apoyos. Irlanda, Dinamarca y Holanda son exportadores netos de productos lácteos. Por otro lado, España, Italia y Grecia tienen condiciones no muy favorables para la producción láctea y debido a esto, al tener menos apoyo, se genera una mayor dependencia en importaciones.

La Reforma de la PAC de 2003 innovó en buscar integración entre las distintas políticas de apoyo a commodities. Se estableció un nuevo sistema de ayuda directa a los ganaderos, denominado Pago Único, que no se introdujo en España hasta el 2006.

El modelo surge en España con la finalidad de minimizar los riesgos del desacoplamiento de las ayudas en determinados sectores cuya actividad productiva podía verse afectada.

Según este sistema, a los ganaderos se les asignan derechos de ayuda calculados en función de las ayudas que recibieron en un determinado período de referencia, que son independientes de sus niveles de producción en un futuro. El Pago Único va sustituyendo a los pagos

directos acoplados a la producción, con el objetivo de buscar una mayor orientación al mercado (MAGRAMA, 2016).

El chequeo médico de 2008 se planteó por la necesidad de dar una mayor legitimidad social a las ayudas y una gestión más eficiente de los recursos presupuestarios. Por otra parte, se continúa con la incorporación de subsectores agrícolas y ganaderos al sistema de Pago Único, reduciéndose las ayudas acopladas en el seno de la Unión Europea con el fin de encaminarse a los objetivos marcados por la Organización Mundial del Comercio (MAGRAMA, 2016).

En el 2013, se completo una nueva reforma importante de la Política Agrícola Común (PAC) donde se dieron a conocer las modalidades de aplicación del primer pilar de la nueva PAC en los Estados miembros y los programas de desarrollo rural se encuentran en la fase de aprobación por parte de la Comisión Europea.



Figura 1. Evolución del Sistema de Cuotas en el sector lácteo. (Comisión Europea; elaboración propia)

Con el final de la cuota láctea el 1 de abril de 2015, el mercado de la producción de leche de vaca se liberaliza. Lo más preocupante para la UE es que su producción de leche ha aumentado en 2014-2015 en 10 millones de toneladas y sigue aumentando en el 2016, mientras su consumo y las exportaciones se mantienen (Díaz Yubero *et al.*, 2016).

La próxima reforma de la PAC tendrá lugar al terminar el periodo cubierto por el marco financiero plurianual (MFP) 2014-2020.

1.2. Situación del sector lácteo en España

A diferencia de otros países, el sector lácteo español, aunque se centra en la leche de vaca, incluye una pequeña parte de leche de cabra y oveja.

España produce 6,5 millones de toneladas representando el 4,25% de la producción europea de leche de vaca (INLAC, 2016). Ocupa la séptima posición dentro de la UE (Díaz Yubero *et al.*, 2016) por detrás de Francia, Alemania, Reino Unido, Holanda, Italia y Polonia.

En 2010 el sector lácteo español representó el 18,94% de la producción ganadera final y un 10,46% de la producción final agraria, con leche de vaca como el producto principal (86% de la producción lechera total) (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012). Aunque la agricultura representa sólo un corto porcentaje de la economía total española, la industria de los alimentos derivados de la agricultura y gandería es muy importante y representa una parte principal de las exportaciones nacionales. De hecho, la industria de alimentos y bebidas española supone un 14% de los ingresos netos en toda la industria española y el 7,6% del PIB, por lo que es el primer sector industrial en la economía española y el quinto en Europa (FIAB, 2013). La industria lechera es importante, y representa alrededor del 11% de la facturación total y el 7,14% del total de empleados en la industria alimentaria española (Calabozo Moran y FeNIL, 2012). Con estos datos España se sitúa como el séptimo país productor de leche en la UE en términos de volumen de leche por detrás de Alemania, Francia, Reino Unido, Holanda, Italia y Polonia (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012). La producción de leche española representa el 4,2% del volumen total de leche producida en la UE (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012).

El sector lácteo español se viene enfrentando a una crisis de competitividad, que está dando lugar a una falta de rentabilidad y la retirada de la actividad de muchas granjas. La incertidumbre de las negociaciones europeas y los planes de reestructuración, la abolición del sistema de cuotas lecheras, un nivel de precios detenido en el tiempo, junto con el aumento natural de los costes de producción y el desacoplamiento de las ayudas podrían ser algunas de las causas de la situación actual. Sin embargo, como podremos comprobar, el sector lácteo español es complejo y tiene algunos factores específicos de acondicionamiento importantes que se detallan a continuación.

La cuota láctea. Hasta el 1 de abril de 2015 funcionó la cuota láctea, una norma europea que limitaba la producción de leche de vaca de las explotaciones ganaderas. Fue creada por la Unión Europea en 1984 y empezó a utilizarse en España tras su entrada en la UE en 1986. A su entrada España aceptó una cuota por debajo de su producción y muy alejada de sus niveles de consumo. La cuota láctea preveía una multa monetaria para todas aquellas explotaciones que rebasaran la cuota, la llamada Tasa láctea (INLAC, 2016).

El consumo de leche y productos lácteos en España era de unos 9 millones de toneladas (MARM, 2009). Sin embargo la cuota láctea asignada a España en 2013 por la Unión Europea fue de 6.435.917 toneladas de leche (El País, 2013a), por lo que hay un déficit estructural ya que España sólo produce 2/3 de sus necesidades de leche y productos lácteos. Esta brecha entre la producción y las necesidades obliga a España a importar leche cruda o productos lácteos elaborados de otros países, lo que supone una amenaza para la producción nacional de leche y su industria, porque generalmente los precios de la leche extranjera suelen ser más bajos.

El diario español “El Mundo” informó en 2009 que los productores de leche españoles transmitieron datos más bajos de producción de leche al gobierno a cargo de la negociación de las cuotas lecheras con el fin de evitar el pago de más impuestos y para obtener beneficios de una especie de mercado negro para la leche. Con el paso del tiempo, este hecho debilitó el sector lácteo español y los ganaderos requirieron que el gobierno español negociara un aumento de la cuota láctea (El Mundo, 2009). Ahora, la abolición del sistema de cuotas lácteas a partir de 2015 es un auténtico reto para un sector que ha estado trabajando bajo tal limitación de la producción durante tantos años.



Figura 2. Entregas de leche de vaca (miles de toneladas). (Datos FEGA, 2015; INLAC, 2016)

La gráfica anterior compara las entregas de leche de vaca para los periodos abril-diciembre del año 2014 todavía con cuota láctea y el del 2015, primer año sin cuota láctea.

Como se observa en la grafica, en todos los meses de 2015, se ha entregado más leche que en 2014. Destacan especialmente noviembre y diciembre, con incrementos del 5,8% y del 6,5% respectivamente (INLAC, 2016). Si se acumulan todas las entregas de leche de los nueve meses estudiados y se comparan las cifras de 2014 y 2015, se deduce que en los meses de 2015 se produjo un incremento acumulado de la producción de un 3,1 (INLAC, 2016).

Localización de la producción. Aunque existe producción de leche en todo el territorio español, la producción se concentra principalmente en algunas áreas o comunidades autónomas, a menudo lejos de las grandes áreas de consumo. Este hecho contribuye a una compleja y costosa logística para la recogida de la leche y la distribución de los productos elaborados a los consumidores finales.

Atomización del sector, especialmente a nivel de ganadería. Algunas granjas y empresas no tienen el tamaño y la gestión adecuada para ser competitivas.

Escasez de pastos. La escasez de pastos en algunas zonas de producción conduce a una mayor dependencia de los piensos y los cereales para las vacas y de este modo a una mayor repercusión de la alimentación en los costes totales.

Gran heterogeneidad en el tamaño de las empresas de productos lácteos, sus objetivos y el tipo de entidad de negocio, y de las leyes y reglamentos que a menudo pueden variar de una Comunidad Autónoma a otra.

Industria y mercado muy enfocados en la leche líquida para consumir, que tiene un peso mayor en el consumo y la producción de productos lácteos que en otros países de la UE (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012). Por otra parte, existe una fuerte posición en el mercado por parte de las marcas de los distribuidores (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012).

Asociaciones de productores desorganizados. Los colectivos de productores de leche en España están muy desorganizados. No hay ningún tipo de coordinación entre todos los productores de leche a nivel

nacional, porque hay división entre ganaderos de diferentes comunidades autónomas (El Mundo, 2009). Por otra parte, los productores de leche a menudo se centran más en las operaciones del día a día a corto plazo que en hacer frente a los retos del futuro comunes para todo el sector lácteo con estrategias a largo plazo.

Organización del sector no adecuada. Organizaciones como la “Interprofesional del Sector Lácteo” (INLAC) a menudo han tenido en el pasado falta de recursos económicos, herramientas, falta de un sistema de representación adecuada y un marco legal para trabajar como una organización de apoyo real, para dar soluciones al sector (MARM, 2009).

Presencia de capital extranjero en el sector. Grandes grupos multinacionales, especialmente de Francia están ganando cada vez más cuota de mercado en España, que es un mercado ideal para asignar los excedentes de leche francesa.

1.3. Las cooperativas, origen e importancia en el sector

Por su especial interés, al configurarse como una de las soluciones para la supervivencia del sector lácteo en España, dedicamos una atención especial al mundo cooperativo, que en países como Holanda o Dinamarca, han permitido un escenario de competitividad e innovación, con una fuerte vocación exportadora.

Antes de 2003, había en España 207 cooperativas lecheras y Sociedades agrarias de transformación-SAT. Para tener una idea de su importancia y tamaño, estas cooperativas suponen el 34% de la producción de leche, y 72 de ellas recogen la leche de más de 50 productores, mientras que 39 solo recogen leche a cuatro productores o menos de cuatro (MAPA, 2004).

Cooperativas agrícolas (numero)		Cuota de mercado (%)		Ganaderos miembros ('000)		Facturación (miles de millones de €)		
2003	2008	2003	2008	2003	2008	2003	2008	VAR (%)
242	396	40	40	43,5	27,8	0,713	0,88	23%

Tabla 1. Desarrollo del sector lácteo cooperativo en España, años 2003-2008
(Datos: Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012; elaboración propia)

La mejora de las cooperativas condujo a un aumento en el número de cooperativas lecheras, a pesar de la reducción en el número de ganaderos, como puede verse en la Tabla 1.

Los datos nacionales muestran que en 2010, 135 cooperativas operaban en el sector lácteo español con una facturación total de 797,7 millones de euros, lo que representa aproximadamente un tercio de la facturación de todo el sector (Cooperativas Agroalimentarias de España, 2011a). Estas cooperativas lecheras recogen el 41% de la cuota láctea nacional bajo la figura de comprador autorizado (Cooperativas Agroalimentarias de España, 2011a). Sin embargo, es importante señalar que, la mayoría de ellas no integran las actividades de procesamiento, se transforma sólo el 21% de dicha cuota láctea (Cooperativas Agroalimentarias de España, 2011a). Como puede verse, estos datos sacan a la luz la atomización mencionada, debido a que 135 cooperativas lecheras son demasiadas para sólo ese porcentaje de cuota láctea.

Las cooperativas lecheras de España que transforman la leche se ubican más como como mayoristas en la cadena de valor que como minoristas, por esto se reducen las ventas directas realizadas por las cooperativas, a pesar de su importancia en las cooperativas más pequeñas. Por lo tanto, los métodos más comunes son el uso de distribuidores no exclusivos y la venta a grandes cadenas minoristas (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012). Por otra parte, los intermediarios se utilizan para los mercados externos (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012).

Hay que señalar que, al igual que sucede en general en el sector lácteo español, el sector cooperativo tiene la leche líquida como principal línea de producción, todo lo contrario que ocurre en otros mercados grandes de la UE, que se basa más en el queso, la mantequilla y la leche en polvo (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012). Además, puesto que las cooperativas a menudo no tienen suficiente poder de negociación frente a los minoristas debido a la atomización comentada, venden la mayoría (más del 50%) de la producción bajo las “marcas blancas” (marcas propias de minoristas) en lugar de bajo sus propias marcas (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012). Además, debido a que las cadenas minoristas tienen un poder de mercado mucho mayor, son ellos quienes fijan los precios que por lo general son bajos. Por lo tanto, para los jóvenes, la ganadería no es una opción muy atractiva como profesión, por lo que los miembros de las cooperativas son cada vez mayores y el número de miembros cada vez más reducido (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012).

Con esta situación, se está llevando a cabo un gran esfuerzo en las dos últimas nuevas leyes aprobadas para la promoción de las cooperativas y la mejora de la cadena de valor en el sector alimentario español, con el fin de fortalecer a las cooperativas agrícolas para aumentar la competitividad en el sector lácteo español.

Nombre de la cooperativa	Facturación (millones de €)
Covap, S.C.A	282,64 *
SAT Central Lechera Asturiana	125,37
Feiraco, S.C.G.	73,22
Kaiku, S. Coop	58,95 **
Cadi SCCL	47,28

*Fuente: COVAP
**Fuente: Cooperativas Agroalimentarias 2010

Tabla 2. Facturación de las cinco cooperativas lecheras más importantes en el sector español
(Datos: Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012; elaboración propia)

El objetivo es simplificar la cadena de valor y favorecer la fusión entre las cooperativas existentes para concentrar la oferta, siguiendo el ejemplo de países como Dinamarca, Holanda o Suecia (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012). Se está alentando a las cooperativas a producir productos de alta calidad con mayor valor agregado para abrirse a los mercados internacionales, y mejorar sus estrategias de marketing para ello. Por otra parte, aunque los resultados no están siendo particularmente satisfactorios, las administraciones están tratando de ampliar también la inversión en el desarrollo de productos y la innovación (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012). Mejorar la educación y la formación también es muy importante, ya que hay muy pocas políticas o programas en España para estas cuestiones, y la mayoría de ellas están orientadas incorrectamente a las principales necesidades como el logro de un alto nivel de gestión profesional en cooperativas lecheras, por lo que los resultados son dudosos (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012). Por último, las administraciones están tratando de aumentar el papel de la interprofesional “Inlac” (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012), ya que dada la atomización del sector, tener una organización de apoyo

fuerte para unificar criterios, ideas y estrategias para los futuros retos, es fundamental.

En este contexto, sólo algunas cooperativas destacan entre el resto de las cooperativas lecheras españolas y están haciendo avances para ser competitivas en el sector lácteo español lleno de competidores. Las más importantes se muestran en la Tabla 2.

COVAP, en Andalucía, es la principal cooperativa de productos lácteos en España, mientras que la principal SAT sería Central Lechera Asturiana (CLAS) siendo la propietaria del 56,39% de las acciones de CAPSA (Corporación Alimentaria Peñasanta SA), que es uno de los principales grupos de productos lácteos españoles. Se concentra su producción sobre todo en Asturias, pero tiene algunas plantas de producción en otras áreas. Feiraco, compuesto por miembros de las cooperativas de Galicia, se centró inicialmente en la leche líquida. Kaiku, desde el País Vasco, se centra actualmente en productos derivados de la leche de alto valor añadido, como yogures y bifidus, y está buscando una internacionalización de sus marcas (tiene algunas plantas de producción en el norte de África). Cadi por su parte es una cooperativa catalana especializada en quesos con DOP.

Cooperativas como COVAP o CLAS están haciendo actualmente grandes esfuerzos para crecer en busca de una estrategia adecuada para mejorar su posición de mercado en el sector lácteo español, con el reto de competir también en un mercado completamente libre en Europa debido a la supresión del sistema de cuotas lácteas. Por lo tanto, estas dos cooperativas miran hacia países como Dinamarca u otros países del norte de Europa, con una fuerte tradición cooperativa y donde a menudo hay sólo una única industria nacional que es el comprador de la leche nacional.

2. EXPOSICIÓN DE MATERIAL Y MÉTODOS EMPLEADOS

En esta sección se analiza la situación actual del sector lácteo español siguiendo los diferentes eslabones de la cadena de valor, exponiendo los impactos de las diversas políticas aplicadas.

El componente metodológico trata de sintetizar las diversas medidas aplicadas y aplicables con la propia realidad de la cadena de valor láctea.

Al ser un sector complejo dentro del ámbito de la UE obliga a tener una visión amplia sobre las líneas marcadas por la PAC. No obs-

tante la heterogeneidad de las condiciones en producción, industria, distribución y consumo, necesita tener en cuenta esa situación específica. Utilizaremos por ello la estrategia GLOCAL, visión global y actuación local que se ha venido aplicando en otros casos (Briz *et al.*, 2013).

2.1. Metodología GLOCAL de análisis de la cadena de valor láctea

El sector lácteo es de los más complejos y dinámicos del sistema alimentario, y su estudio requiere prestar atención de todos los actores involucrados, desde los abastecedores de factores productivos (piensos, sanidad, genética), hasta los ganaderos, industrias, comerciantes y consumidores, para lo cual utilizaremos la metodología GLOCAL, ya empleada en otros sectores como el hortofrutícola, cereales y carnes.

En el trabajo, se utilizarán algunas de las fases indicadas en la metodología, que pueden ser complementadas en estudios posteriores adaptados a las necesidades del mercado en ese momento.

El sistema GLOCAL es un método mixto de análisis sectorial, donde se combinan enfoques tanto cualitativos como cuantitativos, buscando sinergias, de acuerdo con objetivos generales y específicos, tanto en amplitud como en profundidad (Johnson *et al.*, 2007).

Hay una etapa que podríamos denominar exploratoria o Global (Creswell *et al.*, 2007), que precede a la específica o local, y que puede orientar o complementar aspectos necesarios para la evaluación deseada.

El enfoque cualitativo, que frecuentemente se desarrolla a través de Grupos de Discusión (Focus Groups) analiza la forma en que las actividades se desarrollan, observando la conducta de los agentes socioeconómicos (Bogdan y Taylor, 1978) La interacción entre los miembros del grupo de discusión, permite aflorar sus opiniones sobre temas concretos, afinidad o distanciamiento entre los componentes del grupo, hábitos y prácticas comunes, no siempre reflejadas en un simple cuestionario. Ello nos permite conocer las motivaciones intrínsecas de los sujetos y, en definitiva, explicar al menos parcialmente su comportamiento. En cierta medida complementa el análisis cuantitativo que tiene un enfoque más estructuralista y de funcionamiento.

En todo caso, se requiere contrastar experiencias o situaciones similares en otras regiones o países, soluciones aplicadas y resultados

obtenidos. Conviene contar con la participación de los diferentes grupos involucrados en la cadena alimentaria: empresarios, administración, consumidores y su integración con el mundo académico[científico]. Surge así, metodológicamente, la existencia de un paradigma, reconocido por la mayoría de los estudiosos, como el modelo que permite aclarar o resolver una parte significativa de los problemas. La propia dinámica del mercado hace que los paradigmas queden obsoletos y sean sustituidos por otros que incorporen los nuevos fenómenos o factores.

Considerando el interés del sector alimentario y su larga tradición, son numerosos los trabajos que se han venido realizando. El planteamiento y forma de desarrollo varían ampliamente, según los objetivos y el marco político y socioeconómico en el que se aplican. Algunos estudios (Cifuentes *et al.*, 2011) identifican cinco fases de trabajo: análisis de los puntos críticos, análisis de los servicios de desarrollo empresarial, perspectiva de la cadena, comparación entre la oferta y la demanda y, finalmente, diseño del plan de acción.

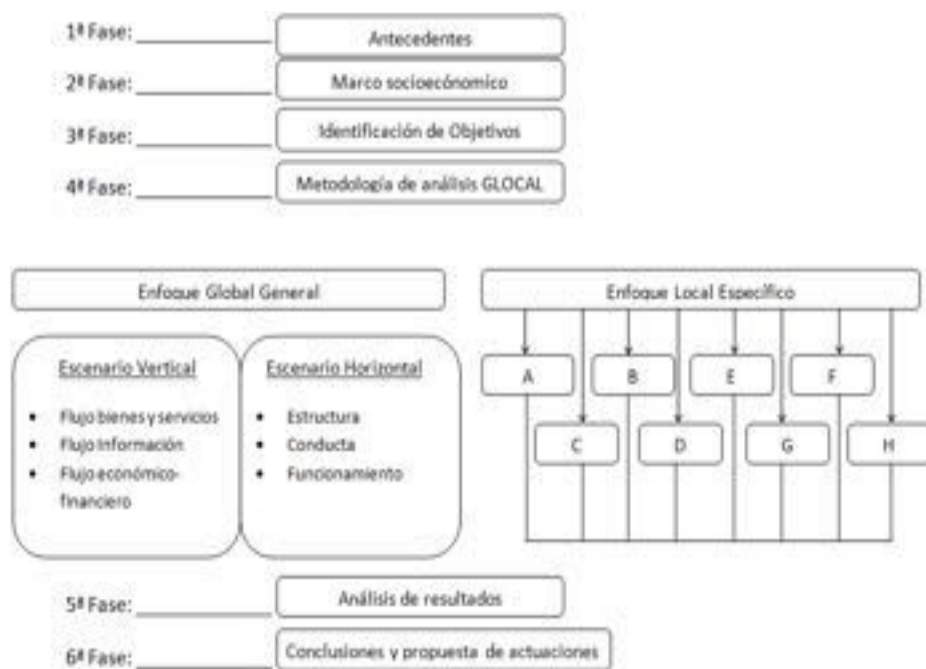


Figura 3. Anagrama metodológico de estudio de la Cadena de Valor (Briz *et al.*, 2013)

En nuestro caso exponemos un método que incorpora experiencias ya existentes, con capacidad de aplicarse a circunstancias muy diversas, de forma sencilla y dinámica.

En la figura 3, exponemos varias fases o etapas que nos permiten su desarrollo sucesivo.

Fase 1. Antecedentes:

Es la etapa descriptiva sobre las motivaciones de realización, el estudio y circunstancias en que se ha planificado (Briz *et al.*, 2013).

Fase 2. Marco socioeconómico:

En este apartado incluimos las principales dimensiones económicas y sociales en las que se desenvuelve el sector alimentario, objeto de análisis. Cabe hacer un planteamiento de su evolución histórica o un análisis transversal sobre la situación de varios escenarios alimentarios en un periodo determinado (Briz *et al.*, 2013).

El análisis del marco nos permitirá conocer los problemas más significativos que afectan al sector, su repercusión social y su trayectoria histórica (Briz *et al.*, 2013).

Fase 3. Identificación de los objetivos de estudio:

Esta fase resulta crucial para el logro de un estudio útil y eficiente. Han de establecerse prioridades en su exposición, si los objetivos son de carácter general o específico (Briz *et al.*, 2013).

En la medida que puedan definirse de forma cualitativa y/o cuantitativa, más fácil resultará posteriormente la realización del estudio. Pueden tener una dimensión económica o comercial (elevar los ingresos, las ventas, cuotas de mercado, diversificar riesgos), social (creación de puestos de trabajo, desarrollo de una zona) o impulsar la innovación y la competitividad (Briz *et al.*, 2013).

Fase 4. Metodología de análisis GLOCAL:

Esta metodología trata de combinar una visión Global de la Cadena de Valor Alimentaria-CVA con una actuación específica Local. Aunque se ofrece la posibilidad de hacer un análisis por separado, según los objetivos marcados y las restricciones de tiempo y presupuestarias, la situación más completa e ideal es si se combinan ambas, es decir la situación GLOCAL (Briz *et al.*, 2013).

La visión Global contempla tres escenarios verticales que corresponden a los distintos flujos que recorren la CVA, desde el productor al consumidor y viceversa. En primer lugar podemos mencionar el

movimiento de bienes y servicios que partiendo del productor, pasa por el fabricante, comerciante hasta llegar al consumidor. En segundo término el flujo económico-financiero que se mueve en sentido inverso desde el consumidor al productor, pagando los bienes y servicios recibidos. El tercero es el flujo de información que se mueve en ambos sentidos, e influye en el funcionamiento de los dos flujos anteriormente mencionados.



Figura 4. Esquema de la cadena de valor (Briz *et al.*, 2011)

El escenario horizontal incluye tres grupos de factores innatos en la propia organización y desarrollo de la CVA: la estructura, la conducta y el funcionamiento.

La estructura se refiere al sistema organizativo, tanto empresarial como institucional, en la CVA, y dispone de una serie de dimensiones que permiten evaluar y contrastar situaciones diferentes.

- Organización empresarial en cada uno de los eslabones. Entre los índices a aplicar se pueden comentar varios tipos. En un primer nivel se encuentra la cuota de concentración de las primeras empresas del sector, por orden de importancia. Así, el C4 es la cuota de las cuatro primeras empresas, el C6 las seis primeras y así sucesivamente. Es un sistema fácil de identificar y a veces se utiliza por el sector público para establecer los límites de concentración que pueden vulnerar la competencia y el buen funcionamiento de un mercado.
- Barreras de entrada y salida, tanto internas, dentro de la cadena, como externas a la misma. Por barreras internas se entienden las dificultades que pueden presentarse para moverse de un eslabón a otro de la CVA, tanto ascendente como descendente.
- Organización de los canales comerciales. Una dimensión estructural de la CVA concierne a las relaciones entre actores de la cadena y su

forma organizativa. Se pueden considerar tres escenarios: relaciones horizontales, verticales y en diagonal.

- Diferenciación del producto a lo largo de la CVA. Se puede analizar la gama de productos en origen, y contrastarla con la que se ofrece por el detallista. A mayor variedad, mayor posibilidad del consumidor para elegir, pero mayor complejidad, pérdida de economías de escala e incremento de costes. La diferenciación trata de aminorar la competencia vía precios y conseguir una mayor fidelización del cliente. Cabe considerar una diferenciación vertical a través de distintas categorías de calidad (extra, 1^a, 2^a, 3^a) u horizontal (Denominaciones de Origen, país, región, etc.) En el sector lácteo tiene especial interés en el caso de los quesos, como DOP (Briz *et al.*, 2011).

La conducta recoge el comportamiento de los agentes sociales y económicos que operan en la CVA y, en muchos casos, se relacionan con cuestiones éticas y morales. Implica el análisis del comportamiento de los actores que intervienen en la CVA, tanto públicos como privados. En el sector lácteo, la problemática más reciente ha venido siendo el comportamiento de las empresas de distribución en la fijación de precios de venta de la leche, y en los pagos de la industria a los ganaderos (Briz *et al.*, 2011).

Se pueden considerar los problemas existentes dentro de cada eslabón o entre eslabones. En estos casos, se puede evaluar la situación enumerando los conflictos generados y su frecuencia. (Theuvsen, 2007).

Otra dimensión de interés es el incumplimiento o inexistencia de normativas que garanticen una seguridad alimentaria. Su evaluación puede realizarse teniendo en cuenta los escándalos alimentarios, las denuncias de los ciudadanos y el impacto social. En el caso lácteo, los controles higiénico sanitarios en los países desarrollados vienen siendo bastante eficaces y no hay grandes problemas en la actualidad.

En las relaciones inter-empresariales la información ofrece una serie de modalidades, que se pueden agrupar en:

- Características ocultas, cuando el agente principal no puede comprobar todos los caracteres del producto, lo que ofrece ciertas ventajas negociadoras.

- Intenciones ocultas. Cuando se puede influir después de firmado el contrato.
- Otros aspectos relacionados con la conducta: el espionaje industrial, la competencia desleal y las prácticas fraudulentas en el mercado (Briz *et al.*, 2011).

Finalmente tenemos **el funcionamiento (performance)**, que refleja el resultado de cómo desempeñan sus funciones los distintos elementos de la CVA.

El funcionamiento se considera el resultado que aporta la cadena como consecuencia de la estructura y conducta existentes (Briz *et al.*, 2011).

El reto es identificar una serie de criterios que permitan evaluar y comparar situaciones varias. Se exponen a continuación algunos de ellos.

a) Eficacia y eficiencia en la gestión

En términos generales, podemos señalar que el sector lácteo español cumple de forma eficaz el abastecimiento a la población, en cuanto a cantidad, calidad y servicio de los productos ofrecidos. Otra cuestión es la sostenibilidad del modelo, en base a la nueva situación de competencia destructiva, al desaparecer el sistema de cuotas.

La primera se refiere al grado de consecución de los objetivos propuestos por cada agente de la cadena. A mayor divergencia, menor eficacia. La eficiencia tiene un enfoque más parcial. Puede ser eficiencia técnica (grado de rendimiento de un factor productivo como energía, agua, recursos humanos, etc.) o económica (relación beneficio-coste).

b) Transparencia

Implica la existencia y disponibilidad de información para todos los involucrados en la gestión de la CVA. Una variable de aproximación para medir la transparencia vertical, a lo largo de los diversos eslabones, es el margen comercial como diferencia de precios.

Es este campo donde la polémica ha sido constante en el sector lácteo, al utilizarse como producto reclamo por la gran superficie co-

mercial, con escasos márgenes comerciales, ya que la venta a pérdidas esta prohibida.

c) Confianza

Está relacionada con la transparencia y la información. Los criterios para evaluar la confianza están en función de la parte contratante, vendedora o compradora. En las transacciones hay una asimetría en la información, donde una de las partes sabe más que la otra y lo aprovecha en su beneficio. Akerlof, premio Nobel de Economía en 2001, estudió cómo transmitir la información para ganar la confianza del otro. También cabe plantear, según Stiglitz (también premio Nobel de Economía) cómo descubrir la información de la contraparte si no existe confianza plena (Hartford, 2006).

d) Dinamismo

La dinámica de la CVA se puede relacionar con la capacidad de respuesta para resolver los problemas planteados. Esta se ve condicionada por una serie de factores:

- La agilidad en satisfacer los deseos finales del consumidor, transmitiendo información rápida y objetiva, mejorando la transparencia y confianza mutua.
- La superación de los problemas estructurales concernientes a la interacción de las pequeñas y medianas empresas (PYMES) con grandes empresas, modalidades de cooperación mutua y coo-competencia (cooperar y competir) entre firmas del mismo distrito industrial.
- La posibilidad de readaptarse dentro de la red de cadenas de valor, mediante acuerdos con otras empresas afines o complementarias.
- La capacidad de analizar los distintos escenarios alternativos, estimando los costes y los beneficios (tratando que estos superen a los costes a corto y largo plazo) en las distintas acciones a desarrollar y teniendo en cuenta los problemas, las posibles soluciones y los riesgos.
- El contemplar no sólo los costes y beneficios empresariales, sino también los sociales (Briz *et al.*, 2011).
- En todo caso, el sector lácteo español viene mostrando un gran dinamismo en el cambio de las estructuras empresariales.

e) Innovación-Obsolescencia

Este binomio alternativo muestra la disponibilidad de una empresa a incorporar innovaciones. Las innovaciones ofrecen un amplio abanico (técnicas, de organización y gestión y de formación de recursos humanos, entre otras). El sector lácteo es uno de los más innovadores de la alimentación, con una gran variedad de productos y la incorporación de atributos, con gamas de convencional y ecológico.

f) Capacidad de adaptación

El mundo empresarial se encuentra sometido a un entorno cambiante, a cuya adaptación se ve condicionada su continuidad. Un sistema de medida a aplicar es el Índice de Supervivencia Empresarial (ISE), contabilizando las empresas que sobreviven y sus características (dimensión, actividad, organización) (Briz *et al.*, 2011). Es de interés el estudio a realizar para constatar el número de empresas tanto ganaderas como industriales que han tenido que adaptarse o desaparecer del mercado lácteo.

La capacidad de adaptación también puede medirse identificando las empresas líderes del sector y las estrategias exitosas empleadas. Para ello, suelen utilizarse técnicas de comparación (benchmarking) (Bremmers, 2004).

g) Nivel de conflictividad

Esta dimensión del funcionamiento es el resultado de problemas más o menos encubiertos. Si se refiere a conflictividad laboral (huelgas, manifestaciones, paro patronal, despidos, entre otros) puede cuantificarse por número de días, horas o puestos de trabajo perdidos. Las causas pueden ser muy variadas y obligan a un análisis detallado. Puede existir una conflictividad entre agentes de diversos eslabones comerciales por incumplimiento de contratos o pactos, que se reflejan en conflictos planteados en juzgados, cámaras de comercio o tribunales específicos (Briz *et al.*, 2011).

De forma frecuente, el sector lácteo europeo, y de forma específica el español, viene manifestando el malestar, especialmente de los ganaderos ante la imposibilidad de cubrir sus costes de producción, los cambios en la política agraria, o las relaciones comerciales con los otros eslabones comerciales.

Cruzando el escenario vertical y horizontal tenemos una matriz que se muestra en la Tabla 3, que da una visión global de la cadena de valor, láctea, en este caso.

Matriz de la visión básica global de la CVA			
	Estructura	Conducta	Funcionamiento
Flujo de bienes y servicios. Logística	M11	M12	M13
Flujo de información	M21	M22	M23
Flujo económico financiero	M31	M32	M33

Figura 4. Esquema de la cadena de valor (Briz *et al.*, 2011)

A continuación exponemos cada uno de los correspondientes de la matriz, que denominamos M_{ij} según la fila (i) o columna (j) correspondiente, indicando algunos de los factores identificativos de la misma:

- Flujo bienes y servicios (Logística) – Estructura (M11)
 - Concentración empresarial
 - Barreras de entrada y salida
 - Canales comerciales
 - Diferenciación del producto
- Flujo bienes y servicios – Conducta (M12)
 - Comportamiento actores de la cadena
 - Equilibrio poder negociador
 - Prácticas coercitivas
 - Actuación instituciones públicas
- Flujo bienes y servicios – Funcionamiento (M13)
 - Relación beneficio-costes
 - Sostenibilidad
 - Conflictividad entre actores
 - Diferenciación del producto
 - Nivel de soberanía alimentaria
 - Innovación
 - Las relaciones contractuales entre los agentes económico-comerciales de la CVA deben desarrollarse en un marco de transparencia y seguridad jurídica, que evite situaciones de

desamparo. El hecho de formalizar contratos con modelos homologados, dentro de unos determinados límites, puede apoyar en esa línea, tratando en todo caso de evitar una carga burocrática. En todo caso, los acuerdos logrados no se pueden modificar unilateralmente, ni aplicar pagos comerciales no considerados (Briz *et al.*, 2013).

- La coexistencia de distintas marcas en los mercados alimentarios es un componente esencial de su propia dinámica. No obstante, es un hecho conocido la polémica entre las Marcas del Fabricante (MDF) y las Marcas del Distribuidor (MDD), que han degenerado en prácticas desleales. La propia Comisión Nacional de la Competencia (CNC) española identifica varias modalidades de prácticas abusivas (Briz *et al.*, 2013).
 - a) Las MDF tienen una presencia en los lineales de ciertas empresas en una proporción inferior a sus relevancias.
 - b) Discriminación negativa en los márgenes aplicados, sensiblemente superior (20%) a otros de la competencia.
- Flujo información – Estructura (M21)
 - Canales de información públicos
 - Canales de información privados
 - Organización de trazabilidad
 - Asociaciones profesionales
 - Información a corto y medio plazo
 - La información sesgada de que todos los productos de una gama son básicamente iguales y solo les distingue la publicidad, sería como en la industria farmacéutica con el tema de los genéricos. No obstante en alimentación, la gama de atributos es más amplia y además de la composición básica (proteínas, hidratos de carbono, vitaminas...) están los aspectos sensoriales y de presentación. Briz *et al.*, 2013).
- Flujo información – Conducta (M22)
 - Existencia de información privilegiada
 - Acceso libre a la información
 - Abuso de los controladores de información

- Información distorsionada
 - Imitación y copia desleal de envase que confunde al consumidor
 - Ubicación discriminatoria en el lineal respecto a otras marcas de la competencia
- Flujo información – Funcionamiento (M23)
- Transparencia vertical a lo largo de la CVA
 - Transparencia horizontal en cada eslabón de la CVA
 - Nivel de confianza entre agentes de la CVA
 - Riesgos existentes y su corresponsabilidad
- Flujo económico financiero – Estructura (M31)
- Organización del sistema financiero
 - Canales de financiación
 - Políticas monetarias
 - Grado de concentración empresas financieras públicas y privadas
 - Grado de internacionalización
- Flujo económico financiero – Conducta (M32)
- Discriminación en la concesión de créditos
 - Burocratización financiera para las empresas
 - Problemática de los tipos de cambio
 - Inestabilidad en los mercados financieros
 - La existencia de prácticas abusivas en las interrelaciones de los actores de la CVA, deben ser contempladas por la legislación oportuna facilitando los mecanismos para evitar las mismas. Los agentes más débiles se retraen de denunciar los casos de abusos sufridos por temor a represalias. De ahí la importancia de la existencia de organismos de la Administración que puedan actuar ante denuncias que mantienen su anonimato.
 - La venta a pérdidas se considera una práctica desleal pues intenta captar a los consumidores hacia los productos reclamo. Las

pérdidas experimentadas en esos productos concretos se compensan con mayores beneficios en otros productos.

- Simultáneamente, los bajos precios aplicados estresan las relaciones contractuales en las CVA respectivas. Suelen aplicarse a productos de consumo frecuente, como la leche y el aceite de oliva, en el caso español.
 - El aplazamiento excesivo de los plazos de pago o incumplimiento de los acuerdos sobre los mismos, son prácticas abusivas. Este problema ha sido denunciado en España por su elevada frecuencia y en el fondo tiene un impacto financiero de gran relevancia con aspectos positivos y negativos según quien lo aplique. En muchos casos se requiere la disponibilidad de una legislación que se aplique con decisión Briz *et al.*, 2013).
- Flujo económico financiero – Funcionamiento (M33)
- Coste financiero en la CVA
 - Facilidades a cooperativas y asociaciones empresariales
 - Funcionamiento de subvenciones a los actores
 - Actuación de los organismos internacionales (FMI, Banco Mundial)

En todo caso una CVA eficaz es aquella que atiende las necesidades de consumo, dentro de su marco de transparencia y competitividad, equilibrada entre todos los eslabones de la misma.

El Enfoque Local Específico (ELE) trata de responder a una cuestión o preocupación específica, sin interrelacionarla, necesariamente, con el conjunto de la CVA. Cabe analizar distintas posibilidades:

- A. Análisis dinámico: ¿De dónde venimos? ¿Dónde estamos? ¿Hacia dónde vamos? Estudio de tendencia, ciclos o estacionalidad, evolución de tipos de empresas y sus asociaciones. La utilización del método Delphi, mediante entrevistas secuenciales a expertos puede ayudar en los pronósticos del mercado.
- B. Análisis comparativos nacionales o internacionales, con una selección de buenas prácticas institucionales y empresariales.
- C. Seguridad Integral Alimentaria que incluye la de abastecimiento (*food security*) y la sanitaria (*food safety*).

- D. Análisis de competitividad en los diversos sectores o cadenas, teniendo en consideración las aportaciones de M. Porter, en el denominado Diamante de Competitividad.
- E. Estudio de la interacción entre actores de la cadena (tanto en sentido vertical como horizontal) o entre cadenas (análisis diagonal). Las relaciones contractuales, modelos de contratos y niveles de confianza, son aspectos a considerar (Briz *et al.*, 2013).

Fase 5. Análisis de Resultados:

En esta fase procede evaluar los resultados de los métodos aplicados (Glocal o de forma independiente).

Para ello puede considerarse la identificación de los puntos fuertes y débiles, amenazas y oportunidades (Matriz DAFO), así como otras dimensiones acordes con los objetivos planteados.

Fase 6. Conclusiones y Propuestas:

De forma clara, el estudio debe resaltar las principales conclusiones y subsiguientes propuestas de actuación que permitan lograr los objetivos marcados.

Ha de especificarse su aplicación temporal, haciendo referencia en su caso a los periodos a desarrollar, con el oportuno calendario.

La evaluación y seguimiento de las propuestas debe también contemplarse en este capítulo, con objeto de proceder a su corrección si hubiese necesidad de ello.

2.2. Aplicación de la metodología en el sector lácteo

La aplicación metodológica al sector lácteo puede reflejarse en varios aspectos.

Flujo de bienes y servicios: Se incluyen en este apartado los productos lácteos que ofertan al mercado leche líquida, quesos, yogures, etc. Los servicios aportados están en función de las propias características de los productos, duraderos o perecederos y del mercado al que abastecen. Un producto como la leche puede discriminar el mercado. La leche fresca, con un corto periodo de duración de apenas unos días, tiene un radio comercial limitado lo que da prioridad a empresas locales. En el caso de la leche esterilizada, con una vida útil de varios meses, permite la comercialización por empresas a mayor distancia que

desplazan a las locales. Los servicios incluyen también el envasado, etiquetado y la promoción, entre otros. En el sector lácteo son de gran importancia por la gran variedad de productos, el carácter innovador y la necesidad de informar y formar al consumidor.

Financiación: Es otro componente esencial en la cadena de valor láctea. El flujo financiero va de consumidor a productor y está condicionado por el contrato y la capacidad negociadora. Una desregulación administrativa que liberalize la producción y reduzca o elimine los precios de garantía deja en precario la posición de los productores.

La ley de cadena alimentaria al obligar a los contratos por escrito y aumentar la transparencia del mercado, apoya a los distintos eslabones de la cadena. Los procesos de integración vertical y horizontal se apoyan también en la capacidad negociadora y en definitiva en los precios y la financiación.

Información: Es otro flujo de interés en la cadena de valor láctea, pues condiciona en buena medida el comportamiento de los movimientos. El ganadero y la industria necesitan saber la reacción del consumidor final a los productos que envían al mercado, para actuar en consecuencia sobre su modificación o no. El consumidor puede estar interesado en el origen de los productos que adquiere, y las garantías oportunas. El sistema de información de precios y los estudios sobre márgenes comerciales son de gran utilidad.

El hecho de que la leche y productos lácteos sean de consumo frecuente, hace que el consumidor recuerde los precios y le influyan las campañas de promoción sobre la bajada de los mismos. Por ello, se utiliza el llamado producto reclamo, y son frecuentes las denuncias de ventas ilegales por debajo del coste.

La organización sectorial de la cadena de valor se basa en tres componentes principales, estructura, conducta y funcionamiento.

La estructura del sector lácteo se refiere a las dimensiones empresariales a lo largo de la cadena, desde la producción, la industria y la distribución. Es conocida la atomización de la producción lechera en España. No obstante, hay ejemplos a nivel mundial que muestran las posibilidades de concentración tanto en número de vacas como en los rendimientos, lo que eleva la concentración.

La industria y la distribución siguen patrones heterogéneos, donde coexisten las PYMES con grandes empresas. Se contemplan

también las barreras naturales y artificiales para las empresas que desean establecerse en un mercado determinado o eslabón de la cadena. Suelen ser de carácter administrativo sobre regulaciones existentes o necesidades de inversión. La eliminación del sistema de cuotas supone un cambio en el enfoque de la nueva estructura empresarial ganadera.

La conducta se enfoca al comportamiento de los agentes de la cadena de valor. Incluye las propias relaciones empresariales de la industria y distribución con sus proveedores. El código de buenas prácticas es aplicable a este campo, el abuso de poder dominante o los márgenes comerciales aplicados, son algunas piezas claves en la conducta. Puede darse una competencia destructiva empresarial para quedar luego en una posición dominante en el mercado. La calidad del producto y la información aportada al consumidor reflejan, en buena medida, el comportamiento de los empresarios.

El funcionamiento recoge los resultados que se aportan a la sociedad. El abastecimiento continuado al mercado en una adecuada relación calidad/precio, la variedad de productos ofertados, la sostenibilidad del sector con carácter estratégico para la alimentación, son algunas de las dimensiones más significativas.

La evaluación adecuada del funcionamiento, como consecuencia de la estructura y conducta previas existentes, es una buena base para diseñar estrategias comerciales y de sostenibilidad futuras.

2.3. Estructura

2.3.1. Estructura de la cadena de valor

Las cadenas lácteas abarcan la producción, transporte, procesamiento, envasado y almacenamiento de la leche y vinculan a todos los actores involucrados con el consumidor final. En cada una de las actividades de la cadena se necesitan unos insumos y unas materias primas, que añaden valor al producto. Cada participante en la cadena debe dar al producto el mayor valor añadido al costo mínimo (FAO, 2013).

La estructura de la cadena de valor de la leche es tan amplia que se puede dividir en producción, transporte y distribución.

Además de estos operadores, se deberían mencionar los centros de recogida, los cuales tuvieron hace años un peso importante en la logística de recogida, aunque actualmente no tienen gran relevancia y los circuitos de importación y exportación de leche (cruda y/o envasa-

da), generalmente controlados por la industria cuando se trata de importaciones de leche cruda, y controlados por la distribución cuando se trata de leche envasada.

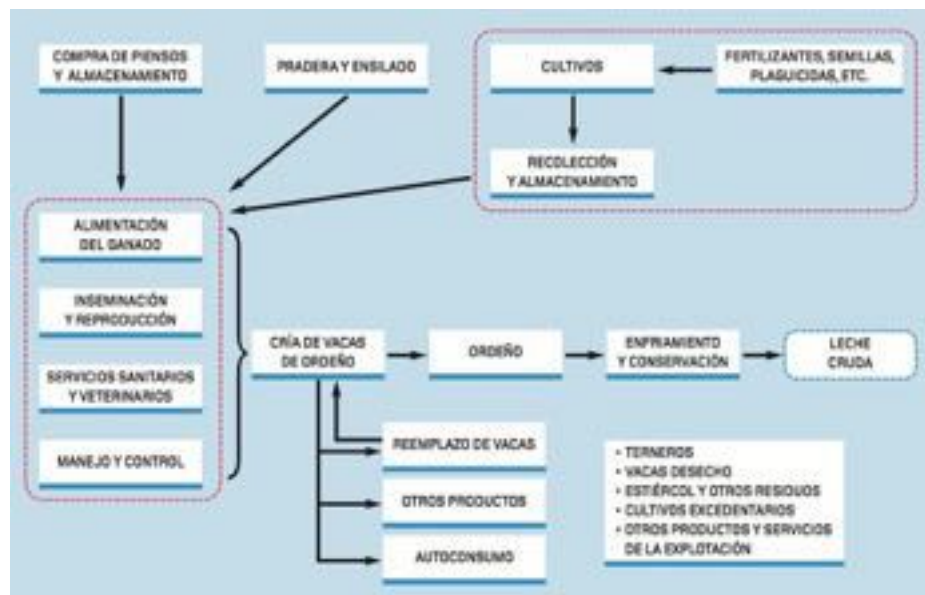


Figura 5. Estructura de la producción de leche en campo (MAGRAMA, 2013c)

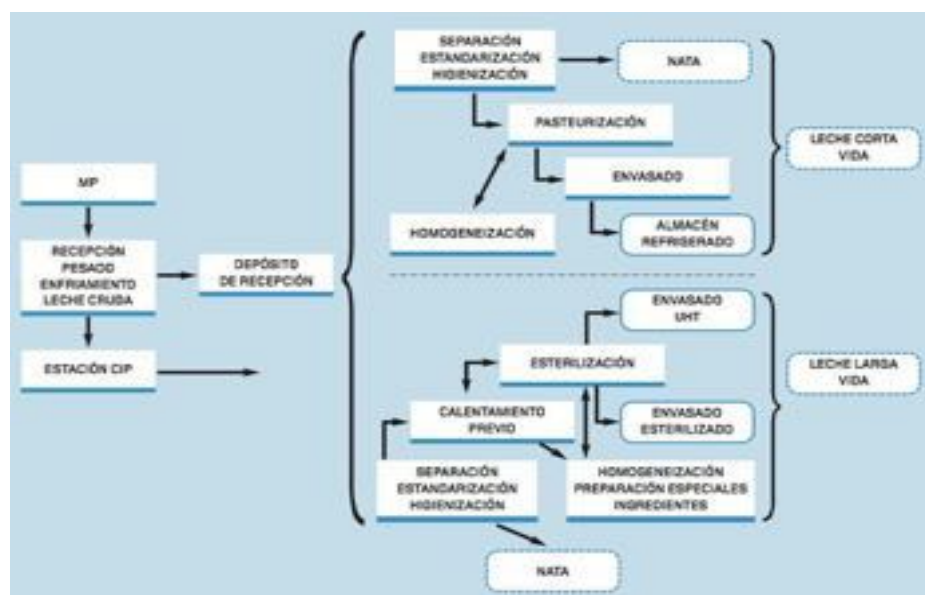


Figura 6. Estructura de transformación. Circuito de la leche líquida en el proceso de fabricación (MAGRAMA, 2013c)

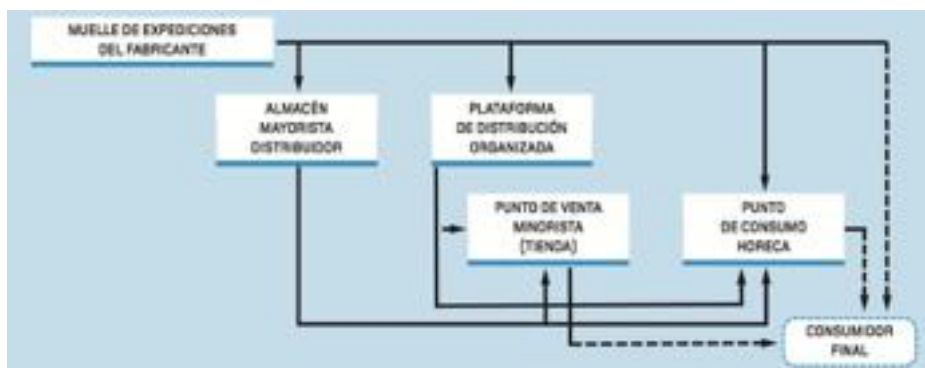
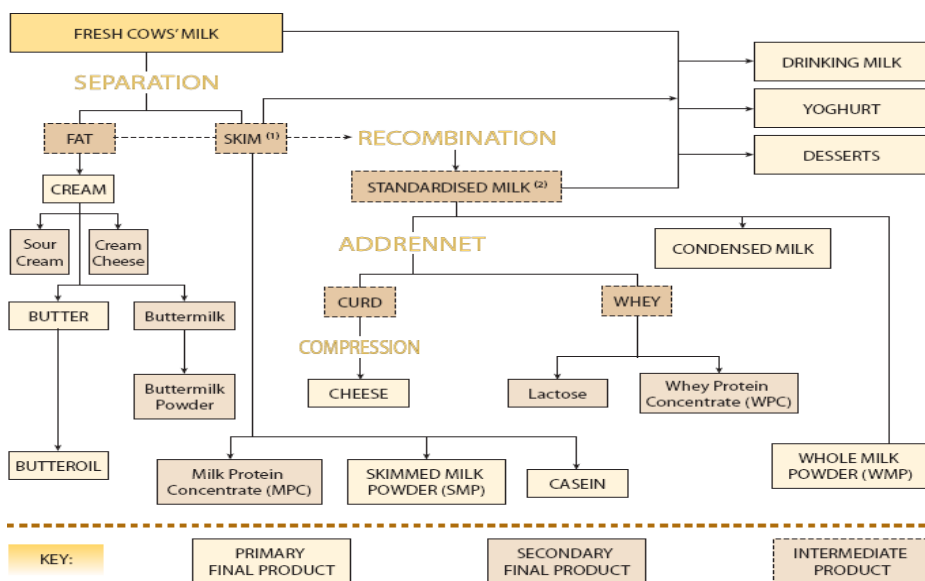


Figura 7. Estructura de distribución hasta llegar al consumidor final (MAGRAMA, 2013c)



- 1) SKIM (leche descremada) = Proteína + otros productos sólidos (lactosa + minerales) + agua
- 2) STANDARDISED MILK (leche estandarizada) = Leche con contenido de grasa ajustado por la adición de leche descremada o crema

Figura 8. La leche y productos derivados (Comisión Europea, 2006; Arce 2014)

La leche se compone de una mezcla de grasas en un 4%, 3,2% de proteínas, 5,3 de otros sólidos y un 87,5 de agua (Comisión Europea, 2006). Puede ser consumida como leche líquida o convertida por algunos de los diferentes procesos de transformación, tradicionales o modernos, en una gran variedad de productos lácteos e ingredientes de alimentos para otras industrias alimentarias (Comisión Europea, 2006).

Por lo tanto, todos esos productos y su línea de producción se pueden observar en el esquema de la figura 8.

2.3.2. Principales empresas

El sector lácteo español es un mercado complejo lleno de competidores en el marco de la industria alimentaria, donde hay alrededor de 500 empresas de productos lácteos (Calabozo Moran y Fenil, 2012), de distinta naturaleza, tamaño, tipo de entidad comercial y nacionalidad.

Es importante tener en cuenta no sólo los grupos nacionales de productos lácteos, sino también grupos lácteos de capital extranjero, especialmente de Francia, con una posición fuerte. La búsqueda de las formas adecuadas para entrar en el mercado español llevada a cabo por las empresas extranjeras (empresas francesas en general) ha sido fundamental en la adquisición de empresas nacionales con la red de distribución bien establecida, abandonando o reduciendo las líneas de producción de dichas empresas (Langreo Navarro, 1994).

Por otro lado, muchas empresas llevan a cabo sus actividades en el sector laboral en una o varias etapas de la cadena de suministro y en una, o más de una sub-cadenas desarrollando diferentes líneas de producción. De este modo, las empresas pueden ser agrupadas según las líneas de producción en tres grupos principales (MAPA, 2004):

- Las empresas de leche líquida: Puesto que la leche líquida es el producto lácteo de mayor demanda, las empresas productoras de leche líquida son los que acaparan un mayor volumen de leche cruda.
- Las empresas de productos lácteos frescos y refrigerados: Con una demanda creciente y alto valor añadido.
- Las empresas productoras de queso: la sub-cadena de queso es donde operan la mayor parte de las empresas del sector lácteo español. Además, es donde hay una mayor heterogeneidad entre las empresas de productos lácteos.

Las principales empresas que operan en el sector lácteo español se enumeran en la Tabla 4 por el volumen de negocio en 2009. Es importante señalar que las posiciones de mercado y los datos de volumen de negocios de algunas compañías podrían haber variado desde el año 2009. Por otra parte, algunas empresas han sido adquiridas por otras y algunas de ellas incluso han desaparecido como grupo. De todos mo-

dos, esta lista de empresas es útil para obtener una idea acerca de los principales actores del sector y su papel.

Empresa/Grupo lácteo	Facturación (millones de €)	Empleados
<i>New Láctalis Group*</i>	1.254,0	2.234
<i>Danone</i>	1.159,0	1.640
<i>Grupo Leche Pascual S.A.</i>	781,0	2.400
<i>CAPSA (CLAS)</i>	723,6	1.182
<i>Grupo Unilever España S.A.</i>	694,0	2.100
<i>Kraft Foods</i>	550,0	1.400
<i>Grupo TGT</i>	525,0	600
<i>(Grupo Lactalis Iberia)</i>	477,0	820
<i>(Puleva Food)</i>	444,0	1.000
<i>Grupo Clesa**</i>	368,9	1.000
<i>Leche Pascual S.L.</i>	360,0	350
<i>Industrias Lácteas Asturianas</i>	350,0	900
<i>Lactiber Corporacion Alimentaria S.L.</i>	340,0	150
<i>Kaiku Corporacion Alimentaria</i>	300,0	800
<i>Senoble España</i>	295,0	200
<i>Iparlat</i>	280,0	476
<i>COVAP</i>	272,3	605
<i>Leche Celta</i>	267,0	276
<i>Lácteas García Baquero</i>	230,0	300
<i>Leite Río</i>	200,0	105
<i>Grupo Kalise Menorquina</i>	177,7	1.287
<i>(Grupo Quesos Forlasa)</i>	168,0	270
<i>(Lactalis Nestlé P.L.R. Iberia)</i>	165,0	144
<i>Mantequeras Arias</i>	150,0	600

Tabla 4. Principales empresas de productos lácteos en el sector lácteo español enumerados por volumen de negocio en 2009 (De Antonio, 2010)

Como puede verse en la Tabla 4, “Nuevo Grupo Lactalis” (*), la rama española de la gran empresa multinacional francesa “Lactalis” (el tercer grupo de productos lácteos en todo el mundo), es el principal grupo de lácteos en España, donde está bien colocado en diferentes sub-cadenas del sector lácteo. El grupo actual, lo que antes era “Lactalis Iberia” (Lactalis entró en España por una primera trayectoria importante de adquisiciones, principalmente de empresas de queso, aunque también de otros productos derivados de la leche), es el resultado de la adquisición de la empresa láctea “Puleva Foods” (empresa importante de leche líquida, líder en leches enriquecidas), “Quesos Forlasa” (el rey del

queso Manchego con muchas marcas populares) y la empresa conjunta con Nestlé (60% Lactalis / 40% Nestlé) para la comercialización de productos lácteos frescos y refrigerados, no sólo en España sino también en la UE y Suiza y Noruega.

La segunda empresa es “Danone”, otro gigante del sector lácteo (la segunda mayor compañía de productos lácteos por volumen de negocio en el mundo), también de capital francés. El principal mercado de esta empresa en España es el de los productos lácteos frescos y refrigerados, tales como yogures, batidos, otras bebidas a base de leche y postres. Además realiza fuertes inversiones en el desarrollo de productos y en la publicidad (MAPA, 2004).

La tercera empresa de productos lácteos en 2009 fue “Leche Pascual S.A.”, que es uno de los mayores grupos nacionales en el sector de la alimentación, con diferentes líneas de producción. Leche Pascual es una empresa que comenzó como una empresa tradicional de leche líquida y que ha diversificado su producción. Está en guerra continua con CAPSA para la posición en el mercado de productos lácteos como el grupo nacional principal. De hecho, durante los últimos años algunos datos dicen que “Leche Pascual” ha sido superada por CAPSA, sobre todo en algunos segmentos como en el de la leche líquida. De hecho, Leche Pascual se encuentra actualmente en una reorganización de sus negocios y ha cambiado su marca corporativa a “Calidad Pascual”.

“Corporación Alimentaria Peñasanta” (CAPSA), por su parte, es la corporación mencionada, cuyo principal propietario es la SAT Central Lechera Asturiana (CLAS). Nació como un punto de recogida de leche que más tarde desarrolló sus actividades hacia la transformación de la leche líquida y otros productos lácteos. Actualmente algunos datos muestran que es el principal grupo lácteo nacional por delante de Leche Pascual, y está haciendo un gran esfuerzo en el desarrollo y la diferenciación de productos para expandir su negocio y consolidar su posición.

Otra compañía, “Grupo Unilever España S.A.”, se destaca como una gran empresa multinacional y multisectorial.

“Kraft Foods” también se destaca como una importante multinacional de EE.UU. que domina el mercado de queso fundido.

Después de estos grupos principales se pueden mencionar otras empresas como “Grupo TGT”, “Clesa”, “Industrias Lácteas Asturianas”, “Lactiber”, “Senoble”, “Iparlat”, “COVAP”, “Lácteas García Baquero”, “Mantequerías Arias “o” Kalise Menorquina”.

Grupo TGT (Teodoro García S.A.) es un operador importante de queso con una amplia selección de quesos europeos. También tiene su propia corporación industrial para producir las variedades más importantes de los quesos españoles.

Grupo Clesa (**), era una empresa especializada leche líquida y otros productos lácteos que sufrió varios problemas financieros en 2011. Como tal, el Grupo Clesa fue revisado judicialmente y su negocio fue fragmentado. Por lo tanto, Feiraco y la Agrupación de Cooperativas Lácteas (11 cooperativas lecheras gallegas) compraron la planta de procesamiento en Caldas (Pontevedra, Galicia) especializada en yogures y otros postres.

Industrias Lácteas Asturianas (ILAS), con marcas conocidas como “Reny Picot”, es el único grupo nacional de leche que puede ser considerado como una empresa de productos lácteos multinacional. Tiene algunas plantas de producción en diferentes países como Francia, EE.UU., China, México y Polonia, y algunas empresas filiales. Produce leche líquida y en polvo, queso tradicional, europeo y en menor medida suero de leche.

Lactiber es una empresa conjunta de COVAP e Iparlat de producción de leche líquida clásica y otros productos lácteos con valor añadido bajo marcas blancas o del distribuidor (Mercadona). Recientemente, Feiraco se ha incluido en el programa industrial de esta empresa conjunta.

Senoble, de capital francés, es también productor de algunas importantes marcas blancas en el país.

Iparlat, desde el País Vasco, fue inicialmente un grupo único, junto con Kaiku y posteriormente un accionista de esta corporación hasta hace poco, que también se especializó en la elaboración de productos de marca blanca.

Aunque CAPSA y Kaiku están en los puestos más altos de la lista, COVAP es el primer grupo cooperativo cuyos propietarios son en su totalidad socios de la cooperativa (CAPSA y Kaiku tienen otros accionistas)

Lácteas García Baquero es una importante empresa productora de queso Manchego tradicional y queso manchego con DOP.

Mantequeras Arias es controlado por otro grupo francés, Bon-grain, propietario de marcas como “Burgo de Arias” y propietario del 27% de las acciones de CAPSA.

Kalise Menorquina, con capital 100% nacional, está especializada en helados entre otros productos lácteos.

2.3.3. Desarrollo de la estructura del sector

La cadena de producción y transformación del sector lácteo genera en España más de 12.700 millones de euros al año y da empleo a unas 60.000 personas. Además, favorece una importante actividad económica en el sector logístico (INLAC, 2016).

Como ya se ha mencionado, la producción de leche de vaca en España hasta abril del 2014 ha estado sujeta a la cuota láctea asignada a España por la Comisión Europea, que fue 6.435.917 toneladas para el período 2012/2013 (El País, 2013a), totalmente insuficiente para cubrir las necesidades nacionales de consumo. Sin embargo, a pesar del incremento anual autorizado del 1% en la cuota de leche desde el año 2009, España no estaba cubriendo toda esa cuota. Así, la cantidad total de leche de vaca recogida en el período 2012/2013 fue 6.237.000 toneladas (El País, 2013a), por lo que existía un porcentaje de la cuota láctea en espera de asignación.

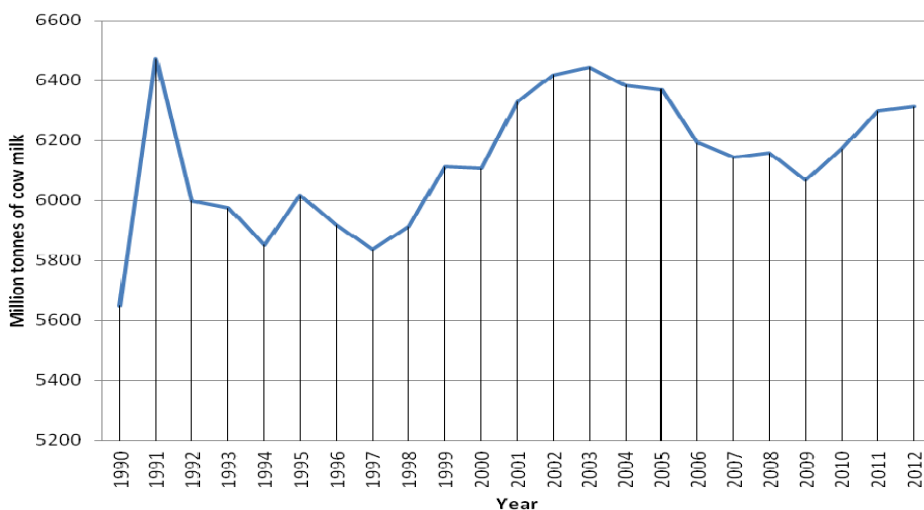


Figura 9. Evolución de la recogida de la leche cruda de vaca
(Datos: INE, 2014; Arce, 2014)

Como puede verse en la figura 9, a pesar del aumento de la cuota láctea nacional, la producción de leche en los últimos años es más baja que hace diez años (INE, 2014). Debido a que las ayudas desacopladas de la PAC y las perspectivas de producción y de mercado poco prometedoras, muchos productores de leche que no podían ser competitivos

porque sus explotaciones no eran rentables, decidieron no producir, reducir su producción o cambiar sus actividades. Por lo tanto, siguiendo la tendencia general en el resto de la UE, los ganaderos productores de leche fueron disminuyendo significativamente su producción láctea en favor de la producción de carne (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012) debido a las mejores condiciones de precio y de mercado. De hecho, en el 2012 sólo el 30% de los rebaños con más de 2 años en España se dedicaban a la producción de leche, mientras que en 1990 representaban un 58% (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012).



Figura 10. Producciones españolas de leche de vaca por comunidad autónoma (Miles de toneladas) (INLAC, 2016)

Por otro lado, es importante señalar que, aunque hay producción de leche en casi todo el territorio español, la producción se concentra principalmente en algunas zonas o comunidades autónomas. Por lo tanto, el conjunto de algunas comunidades autónomas concentra más del 80% de la producción nacional: Galicia 39% Asturias 8%, Castilla y León 13%, Cantabria 7%, Cataluña 10% y Andalucía 7% (INLAC, 2016). Por otra parte, las granjas lecheras están a menudo muy lejos de las grandes zonas de consumo (Observatorio de Precios de los Alimentos del MARM, 2009). Estos hechos contribuyen a una compleja y costosa logística para la recogida de la leche y la distribución de productos elaborados para llegar a los consumidores finales. Incluso en las zonas productoras más grandes hay una estructura compleja para la logística de recogida de leche, con la proliferación de primeros compradores de leche, rutas de recogida de leche cruzadas o superpuestas, etc. (Observatorio de Precios de los Alimentos del MARM, 2009), lo que supone ineficiencias importantes.

La producción de leche de vaca superó los 6,5 millones de toneladas en 2014 y representa el 89.75% del volumen total de leche producida. Su importancia social, de sostenimiento y ocupación territorial del medio rural es estratégica en todo el país, con especial importancia en Galicia, que supone el 39% de la producción nacional de leche de vaca (INLAC, 2016)

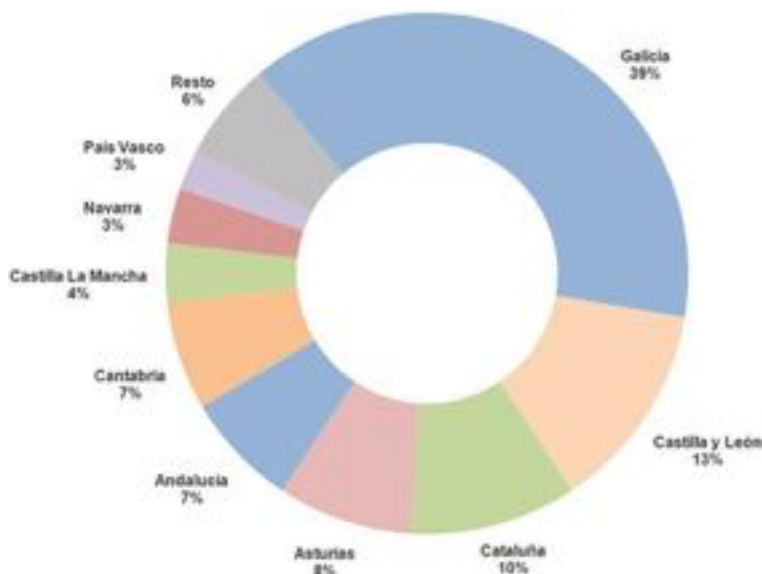


Figura 11. Distribución (%) de la producción de leche de vaca por CCAA en 2014 (INLAC, 2016)

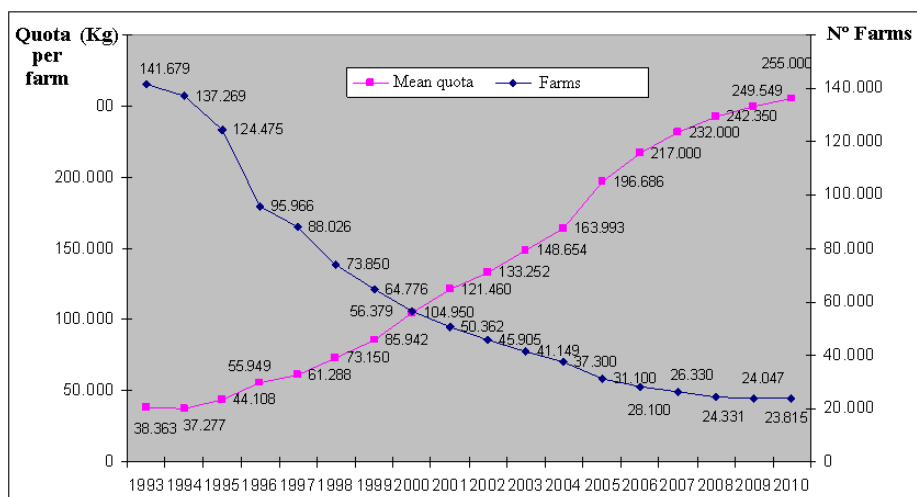


Figura 12. Desarrollo en el número y tamaño de la cuota de leche de las granjas lecheras en España (Calabozo Moran y Fenil, 2012)

Tal y como muestra la figura 12, España a lo largo de los años sufrió un fuerte proceso de reestructuración. En 2010 hubo un total de 23.815 explotaciones lecheras en España, cada una con un promedio de 36 vacas por explotación y una cuota de leche de 255.000 kg por explotación (Calabozo Moran y Fenil, 2012), datos que llaman la atención al compararlo con los datos de las explotaciones de 17 años antes.

Las mejoras en la genética y las infraestructuras han contribuido al aumento de los rendimientos por explotación (Pacheco Colombo, 2011). La prueba es que el sector lácteo español entre el año 2001 y el 2013, redujo el número de explotaciones a menos de la mitad, y el número de vacas lecheras descendió un 30%, hasta situarse en torno a las 840.000 cabezas (INLAC 2016). Sin embargo, la razón principal de estos aumentos en el rendimiento de las explotaciones fue la concentración de la cuota láctea debido a la desaparición de las pequeñas explotaciones sin renovación generacional o granjas incapaces de competir en las circunstancias actuales de los mercados (MARM, 2009).

Actualmente, las cifras muestran como el número de vacas de leche ha aumentado en la última campaña. En enero de 2014, había 854.726 animales pero un año después, en 2015, la cifra ascendió a 867.903 vacas, un 1,5% más. (INLAC 2016).

La productividad por explotación y por vaca ha aumentado de manera exponencial, consecuencia de las inversiones realizadas en el sector. El sector nacional de leche de vaca es cada vez más eficiente, superando incluso algunos parámetros de la media europea. La media de vacas por explotación se situaba en enero de 2015 en 40, un aumento del 8,1% con respecto a enero de 2015 (INLAC 2016).

Este proceso de reestructuración ha sido favorecido por los sucesivos programas públicos para el abandono de la producción en los últimos años (MARM, 2009). Por estos programas, el Ministerio de Agricultura (MARM) adquirió la cuota de leche de las granjas lecheras interesadas en el abandono de la producción, y cada cuota fue reasignada a las explotaciones lecheras consideradas prioritarias en el proceso de reestructuración (MARM, 2009).

Para el período 2009/2010, aproximadamente el 37% de las explotaciones lecheras concentraba alrededor del 80% de la producción nacional (MARM, 2009). La reducción en el número de granjas lecheras ha permitido el aumento de su tamaño medio, que a pesar de los esfuerzos sigue siendo inferior a la media de la UE (Pacheco Colombo, 2011).

Por otra parte, esta estructura presenta importantes disparidades territoriales (INLAC, 2011), y el 90% de estas pequeñas granjas lecheras se concentran sólo en tres comunidades autónomas situadas en el territorio conocido como “España Verde” en el norte/noroeste de la península Ibérica (MARM, 2009). Por lo tanto, el sector lácteo español se puede dividir en dos modelos de producción diferentes (MARM, 2009):

- Un modelo completamente orientado hacia el mercado, el cual hace un uso lo más eficiente posible de los recursos e insumos y se basa en las economías de escala, por lo que nunca tiene suficiente cuota láctea asignada.
- Un modelo rural basado en la mano de obra familiar, con las granjas lecheras más pequeñas situadas en las zonas rurales con tradición lechera sin demasiadas actividades económicas alternativas. Estas granjas lecheras tienen una base territorial amplia destinada una parte importante a pastos verdes y cultivos de maíz propios para la alimentación de las vacas.

Ambos modelos eran válidos y compatibles en virtud de un mercado con un suministro regulado (cuotas lecheras). Sin embargo, sin el sistema de cuotas lecheras, sólo las granjas de productos lácteos orientadas a los grandes mercados tendrán suficiente capacidad de adaptación para sobrevivir (MARM, 2009). Por el contrario, las granjas lecheras más pequeñas del modelo rural no tendrán su viabilidad garantizada sin ayudas suplementarias, debido a que crecer en tamaño es bastante difícil para ellas debido a su ubicación y la escasez de mano de obra (MARM, 2009). El resultado probable, sin ningún tipo de ayuda especial, será la desaparición de la mayoría de estas pequeñas granjas lecheras (MARM, 2009). En consecuencia, habrá una deslocalización de la producción a las regiones con las explotaciones de mayor tamaño y menores costes de recogida y menores gastos de transporte a las zonas de consumo. Otra consecuencia sería la despoblación de estas zonas rurales, con importantes costes sociales y medioambientales.

A nivel de transformación, el 94% de la leche de vaca producida en España tiene como destino la industria transformadora. De tal forma que el 6% restante se consume o se vende (en forma líquida o transformada en productos lácteos) en las propias explotaciones.

2.3.4. Nivel de concentración en el sector

El nivel de concentración contribuye a tener una idea más clara y adecuada de la estructura industrial y las relaciones inter/intra-

industriales en el sector. El objetivo es tratar de mostrar el grado de control de la producción por un grupo de empresas (Aranibar, 1992), en el sector lácteo español. La Tasa de Concentración es una forma de determinar el nivel de concentración en un sector:

$$C_k = \sum_{i=1}^k m_i$$

Figura 13. Ecuación de la tasa de Concentración

Mide la proporción de producción en las “K” empresas más grandes en un sector donde “mi” representa la participación de la empresa “i” en este tipo de producción.

En este caso, ya que disponemos de los datos de facturación de las principales empresas en 2009 (véase la Tabla 4), se utilizarán para obtener una tasa de concentración más representativa. Los datos utilizados para calcular la concentración tarifas son en millones de euros (Arce, 2014).

C1 (Tasa de Concentración de la empresa más grande)

- La empresa: Grupo Lactalis (Lactalis Iberia + Puleva Foods + Grupo Quesos Forlasa + Joint Venture con Nestlé).

$$C1 = \frac{1.254,0}{9.277,5} \times 100 = 13,51\%$$

C4 (Tasa de Concentración de las cuatro empresas más grandes)

- Las empresas: Grupo Lactalis (Lactalis Iberia + Puleva Foods + Grupo Quesos Forlasa + Joint Venture con Nestlé), Danone, Grupo Leche Pascual (Leche Pascual S.A. + Leche Pascual S. L.) y CAPSA.

$$C4 = \frac{1.254,0 + 1.159,7 + (781,0 + 360,0) + 723,6}{9.277,5} \times 100 = 46,11\%$$

C8 (Tasa de Concentración de las ocho empresas más grandes)

- Las empresas: Grupo Lactalis (Lactalis Iberia + Puleva Foods + Grupo Quesos Forlasa + Joint Venture con Nestlé), Danone, Grupo Leche Pascual (Leche Pascual SA + Leche Pascual SL), CAPSA,

Grupo Unilever SA, Kraft Foods, Grupo TGT, Industrias Lácteas Asturianas. Clesa ha sido excluida de esta Tasa de Concentración.

$$C8 = \frac{1.254,0 + 1.159,7 + (781,0 + 360,0) + 723,6 + 694,6 + 550,0 + 525,0 + 350,0}{9.277,5} \times 100 = 68,95\%$$

Como puede verse, la empresa de productos lácteos principal en España (C1) por facturación, Lactalis, representa el 13,51% de la facturación total del sector (la facturación total se calcula como la suma de la facturación de las empresas lácteas más importantes enumeradas en la Tabla 4). El C1 en España representa una importante cuota de mercado de Lactalis, pero no necesariamente un mercado concentrado. El C4 reúne un 46,11% de la facturación total, y el C8 supone un 68,95%.

Dado que el C4 no es superior al 60%, se podría decir que no hay una situación de fuerte concentración en el sector (Pascuale y Quagliani, 2005). Sin embargo, el C8 es superior al 50%, lo que según algunos autores supone un sector concentrado (Pascuale y Quagliani, 2005).

Podríamos afirmar entonces que hay una concentración moderada en el sector lácteo, entre las principales empresas en el marco de la industria alimentaria, debido a que hay un número reducido de empresas con un alto poder de mercado. Sin embargo, el sector lácteo español está compuesto también por muchas otras empresas más pequeñas y heterogéneas (fuera de la lista en la Tabla 9) que supone un segmento ancho y fraccionado del mercado (especialmente en lo que respecta a los quesos tradicionales y DOP) (MAPA, 2004). De hecho, supone que la mayor parte de alrededor de 500 empresas de productos lácteos en España, representan una pequeña porción del mercado de productos lácteos y un volumen reducido de la leche (MAPA, 2004).

En este contexto, hay algunos ejemplos específicos que pueden ser útiles para ilustrar la situación de concentración del sector lácteo español (Calabozo Moran y Fenil, 2012):

- Diez empresas (2% del total) representan el 75% de la leche procesada en España, mientras que 5 empresas representan el 54%.
- Diez empresas produjeron hace 12 años 60% de la leche líquida, mientras que actualmente sólo seis empresas producen más de 90% de la producción total.
- En la sub-cadena de yogures, sólo dos empresas representan el 80% de la producción total en España.

Con la situación de un mercado moderadamente concentrado, estudiando el comportamiento y el desempeño del sector es necesario asegurarse de que este hecho no conduce a una mala ejecución del mercado o a situaciones de abuso dominante por parte de algunos jugadores.

2.3.5. Barreras de entrada y salida del sector

Todos los sectores económicos tienen diferentes obstáculos que pueden suponer una dificultad para iniciar un negocio en dicho sector, o un problema cuando el empresario decide abandonar la actividad. Estas dificultades pueden ser barreras legales o costes adicionales que tienen que ser soportados por el empresario. Por otra parte, hay que señalar las diferencias entre las barreras en general y las barreras relacionadas con las importaciones, que pueden ser las barreras arancelarias y las no arancelarias.

a) Las barreras de entrada:

Anteriormente, cuando se hablaba del sector lácteo, la primera barrera que se debía tener en cuenta tanto para entrar y salir en el sector, y tanto en la ganadería como en la etapa de procesamiento, era la cuota de leche. Si recordamos, la cuota de leche establecida por la PAC a España fue 6.435.917 toneladas para el período 2012/2013 (El País, 2013A). Sin embargo, en el caso español, esta cuota suponía no sólo una limitación fuerte en la producción, ya que no cubría las necesidades de consumo, sino también una clara desventaja para la industria en las disposiciones de la leche cruda. Por lo tanto, el "efecto barrera" de la cuota láctea para la creación de una empresa/industria de productos lácteos en España era mucho mayor que en otros países de Europa, y también una barrera importante a nivel de ganadería, debido a que los derechos de producción eran aún más limitados. Aunque este factor condicionante ha desaparecido después de 2015 con la abolición del sistema de cuotas lecheras, sigue existiendo una barrera, ya que el sector lácteo español no está todavía preparado para aumentar su producción con éxito después de tantos años obligados a no cubrir la totalidad de las necesidades nacionales.

Por otro lado, los procedimientos administrativos que deben seguirse a fin de obtener los permisos y licencias necesarios para la actividad en el sector de los productos lácteos son una barrera importante de entrada. El marco regulador para iniciar un negocio y el desempeño de las administraciones públicas en la aplicación, por ejemplo, de las licencias es a menudo compleja en España.

Las enormes inversiones no sólo en infraestructuras y tecnología, sino también en trabajadores y técnicos bien preparados y formados, son otro tipo de barrera que un nuevo empresario tiene que superar para conseguir situarse dentro del sector. Esta elevada inversión inicial es necesaria en el sector lácteo, debido a la naturaleza perecedera de la materia prima y los estándares de calidad e higiene que deben cumplir en toda la cadena alimentaria, desde el campo hasta el consumidor. En este punto debemos señalar que la situación financiera en España no está en el mejor momento posible para empezar un negocio que requiere tales inversiones.

Por otra parte, el logro de economías de escala para competir con las grandes empresas establecidas es una dificultad y una barrera para las nuevas empresas que desean entrar en el mercado o para los más pequeños existentes que son incapaces de competir.

Una vez que una nueva compañía se establece en el mercado, necesita lograr una buena percepción de los consumidores y por lo tanto el éxito sería un segundo paso y otra barrera. El problema es que a veces, esto se complica cuando los productores existentes están bien posicionados en el mercado, con marcas propias y una base de clientes leales. Además, en el mercado español hay una fuerte competencia entre las muchas marcas de diferentes empresas y cadenas minoristas. Por lo tanto, la diferenciación de productos y la posibilidad de obtener una propia base de clientes puede requerir altos costes lo que puede ser una barrera. Además, el establecimiento de nuevos canales de comercialización para una empresa de reciente creación puede ser costoso y difícil, y los canales existentes, a veces, pueden resultar un tanto herméticos, complejos e ineficientes. Por esta razón las empresas extranjeras quieren entrar en el sector adquiriendo empresas con redes de distribución bien establecidas.

En cuanto a las barreras de importación, en el marco del comercio internacional, hay que recordar que, dado que España es Estado miembro de la Unión Europea, el país forma parte del Mercado Común. Por ello, no existe ningún tipo de barrera, ni arancelaria, ni no arancelaria, lo que podría suponer una dificultad por la entrada de productos lácteos de otras partes de la Unión Europea en los mercados españoles. Por el contrario, existen barreras a las importaciones de otros países externos o terceros, aunque hay cada vez más problemas con las barreras arancelarias a los productos lácteos procedentes de fuera de la UE, ya que la UE está siendo presionada por organizaciones como la OMC

o por los países en desarrollo para eliminar dichas barreras arancelarias. En cuanto a las barreras no arancelarias (incluidas, entre otras medidas, los obstáculos técnicos como los reglamentos y normas técnicas), aunque también se discuten, siguen siendo una dificultad para los países que no son miembros. Si estos terceros países quieren exportar sus productos lácteos a España (como sucede en todos los Estados miembros), tienen que hacerlo a través de acuerdos bilaterales comerciales con España directamente o a través de algunos acuerdos comerciales especiales que la UE tiene a veces con algunos socios comerciales preferenciales.

b) Las barreras de salida:

Como sucede en las barreras de entrada, las cuestiones legales y los procedimientos administrativos también pueden suponer una dificultad cuando es el momento de abandonar el sector lácteo, no sólo porque los permisos y licencias son necesarias para practicar una actividad nueva, sino también al abandonar la producción lechera. En el desarrollo normal, una empresa siempre adquiere una serie de compromisos con proveedores, clientes, bancos, instituciones públicas, etc. Por ejemplo, en el caso del sector lácteo, el ganadero tiene un compromiso, normalmente regulado por un contrato, con una industria láctea o comprador, comprometiéndose a ser un proveedor de leche durante un período de tiempo acordado. Al mismo tiempo, las industrias lecheras tienen también un compromiso como clientes fijos de los ganaderos (si trabajan bajo contrato) y como suministradoras de los minoristas.

A veces, los contratos de trabajo pueden ser una barrera de salida en los países donde el mercado de trabajo no es flexible y no hay libertad de despidos, ya que son muy caros. En este caso, se trata de una barrera difícil de ser superada por la empresa y supone un coste adicional para dejar la actividad. En España los costes de despido son altos en comparación con otros países de la UE.

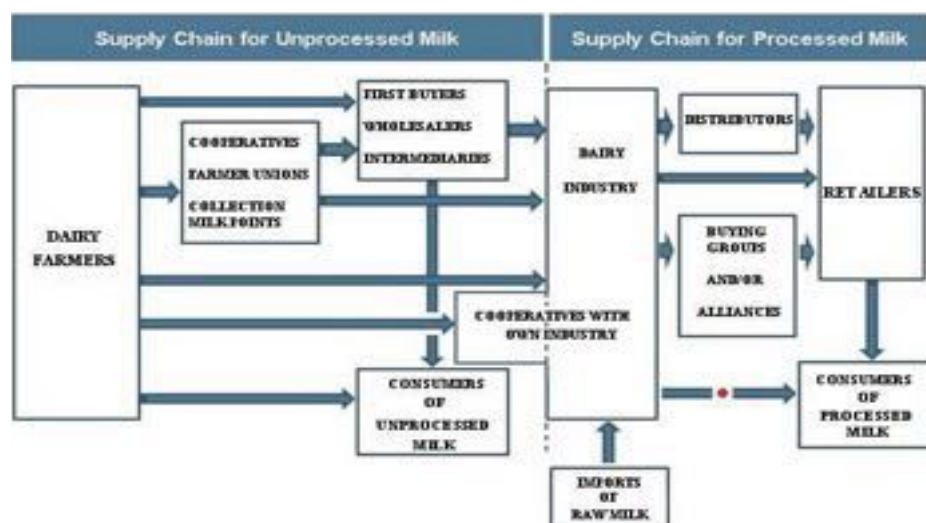
Por último, hay que tener en cuenta el tamaño, la vida útil y la especificidad de los activos económicos, porque cuanto más altas sean estas características de los activos, mayores serán las barreras de salida. Estas características suponen una dificultad para tratar de cambiar la actividad económica de la empresa (para adaptar dichos activos) o simplemente dejarlo. En este sentido, el sector lácteo está muy condicionado por la naturaleza de la materia prima. La leche fresca es un producto relativamente complicado, ya que es un producto altamente perecedero, vulnerable a las diferencias de calidad y cuestiones de higiene (Poppe *et*

al., 2012). Además, la producción y el procesamiento de leche fresca y productos derivados requieren significativas inversiones específicas a largo plazo en infraestructuras, equipamiento y desarrollo de habilidades. Por lo tanto, ya que los rendimientos de las inversiones son a largo plazo, esta característica del sector lácteo supone una fuerte barrera para salir de él.

2.3.6. Canales de comercialización en la cadena de valor

Conocer la estructura de la cadena de valor en el sector lácteo español es muy importante con el fin de explicar más adelante algunas cuestiones sobre el comportamiento y el rendimiento del sector. Mientras que las partes interesadas se definen como todas las partes implicadas en el desempeño del sector con un papel determinado, los canales de comercialización son todos los "flujos" comerciales entre las diferentes partes interesadas, determinando de esta manera una estructura de mercado y, por tanto, en parte, su rendimiento.

El mercado de la leche es un mercado vertical. En consecuencia, hay canales de comercialización estrictos y existe la "obligación" de comercializar exclusivamente a través de ciertas estructuras. La cadena de suministro en el sector lácteo español, con sus canales de comercialización, se muestra en la siguiente figura con el fin de dar a entender mejor esta idea.



* Sólo a través de la venta directa en pequeñas lecherías

Figura 14. Los canales de comercialización y las partes interesadas en la cadena de valor láctea española (Arce, 2014)

Es necesario e interesante estudiar la cadena de valor y sus flujos comerciales en el sector lácteo español, porque es bastante complejo, como muestra la Figura 14 anterior.

El sector lácteo español tiene una cadena de valor con muchas partes interesadas diferentes en cada etapa de la cadena, por lo que hay intermediarios para conectar las diferentes partes que intervienen en el mercado de productos lácteos. El importante papel de los intermediarios en España destaca en comparación con los sectores lácteos de otros países europeos, donde su papel es más reducido. Entre los intermediarios, se destacan, entre otros, los primeros compradores de la leche cruda, ya que en otros países estos primeros compradores o compradores autorizados son principalmente las cooperativas sin ningún intermediario.

Por otra parte, el sector en general se caracteriza por su atomización. La producción a nivel de granjas (donde los ganaderos están lejos de estar bien organizados aún) y el segmento de los primeros compradores son las etapas donde el sector está más atomizado. Este hecho a menudo supone un desequilibrio en el poder de negociación con la industria pero, sobre todo, con las poderosas cadenas minoristas.

Por otra parte, si nos centramos en los suministros de leche cruda para la industria, vale la pena señalar que el 9% de la leche procesada por la industria láctea española proviene de la importación de leche cruda en tanques, leche en polvo o leche concentrada (INLAC , 2011). Por otro lado, la leche producida en las explotaciones lecheras nacionales podía ser vendida directamente a los consumidores finales (era el caso de la cuota láctea asignada a las ventas directas) o venderse a los primeros compradores (cuota de leche procesada por la industria) (MAPA, 2004)

Como se ha comentado, el segmento de estos primeros compradores siempre ha estado atomizado. Los primeros compradores, que eran los compradores autorizados de la leche cruda en el marco del sistema de cuotas, podían ser también los procesadores de leche (cooperativas o empresas) o sólo los intermediarios. En la Tabla 5 se muestra la situación de esta importante y tradicional etapa de la cadena de valor de productos lácteos en España. Aunque los datos son del año 2002, pueden ayudar a transmitir la idea del comportamiento del sector en los primeros pasos de la cadena de valor, que es una de las claves para entender su funcionamiento.

Nº Ganaderos	Nº Compradores	Suministros	Actividad		Naturaleza legal		
			Solo comprar	Comprar y procesar	Individuo	Coop + SAT	S.A. + S.L.
Ninguno	76 (13%)	0	28	48	23	13	36
De 1 a 4	135 (22%)	58.118 (1%)	13	122	51	23	51
De 5 a 9	59 (10%)	53.027 (1%)	20	39	11	19	27
De 10 a 19	77 (13%)	210.231 (4%)	36	36	36	36	36
De 20 a 49	105 (17%)	500.629 (9%)	60	45	16	42	46
De 50 a 99	72 (12%)	660.746 (11%)	48	24	7	41	23
Más de 100	82 (14%)	4.332.519(75%)	40	42	1	31	49
Total	606	5.815.270	245	361	117	207	262

Tabla 5. Estructura de los compradores de leche cruda de acuerdo con el número de ganaderos, actividad y naturaleza jurídica, en el período 2001-2002 (Datos: MAPA, 2003; Arce, 2014)

Como se puede observar en la tabla anterior, sólo 82 compradores tenían más de 100 ganaderos proveedores que recogían alrededor del 75% de la cuota de leche. El grupo más numeroso es el que tiene menos de 4 productores. En cuanto a la naturaleza legal de los compradores, alrededor del 34% eran S.A.T. y cooperativas, 19% individuos y casi el 45% sociedades privadas (MAPA, 2003).

Se puede también observar que más del 50% de los compradores (361) eran también los procesadores de leche. Por el contrario, 245 compradores se dedicaban sólo a la compra de la leche cruda de los productores y a venderla posteriormente a otro procesador, por lo que no eran más que intermediarios. Estos intermediarios podían ser (MAPA, 2003):

- Las cooperativas u organización de ganaderos que sólo recogían la leche (recordando que que las cooperativas en España sólo procesaban el 50% de la cuota de leche que recogían),
- Las grandes empresas que querían entrar en el mercado con mayor agilidad y flexibilidad,

- Los intermediarios que trabajaban “libremente” en calidad de meros concentradores de producción (curiosamente, hay algunos compradores, el 13% del total, que incluso no compran la leche cruda a los productores, sino que compran a otros compradores más pequeños para venderla más adelante, sin dar ningún tipo de tratamiento o valor a la leche).

Por lo tanto, se puede concluir que hay una falta de concentración de la oferta, debido no sólo a la atomización y la desorganización a nivel de los productores, sino también a nivel de los primeros compradores o compradores autorizados. Sin embargo, hay una tendencia de la concentración en esta etapa de la cadena de suministro y, probablemente, permanecerán sólo dos grandes grupos de compradores, las cooperativas de comercialización de la leche cruda y las empresas/cooperativas de procesado de la leche (MAPA 2004).

Por otra parte, además hay que destacar en las etapas posteriores de la cadena de valor la presencia de más intermediarios/distribuidores entre la industria y los minoristas. Dado que las compañías lácteas y cooperativas en España no tienen una posición de mercado tan fuerte como sucede en otros países de Europa, los procesadores de leche a menudo no comercian directamente con las cadenas minoristas, que suelen ser actores más poderosos que en otros países.

2.3.7. Formas de venta

Las distintas formas de vender en el sector lácteo español están condicionadas no sólo por la naturaleza del sector lácteo y su materia prima, la leche, sino también por la estructura de la cadena de suministro que se ha explicado anteriormente y sus canales de comercialización.

Las empresas lácteas en España, incluidas las cooperativas, se sitúan en la cadena de valor más como mayoristas que como minoristas (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012) lo que no es una opción eficiente para las empresas que procesan grandes cantidades de leche y productos lácteos. Por lo tanto, las ventas directas realizadas por las empresas de productos lácteos como minoristas son reducidas, sólo tienen mayor importancia en las pequeñas empresas y cooperativas. Puesto que son las empresas más pequeñas con un nicho o mercado local, probablemente, las que buscan una relación más estrecha con el consumidor.

Por lo tanto, los métodos más comunes para la comercialización de los productos lácteos en España son el uso de distribuidores no exclusivos y la venta a grandes cadenas minoristas (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012). La mayor parte de los productos lácteos en España se venden bajo la denominada “distribución organizada”, que reúne a los hipermercados y supermercados incluyendo las tiendas “hard-discounts” (Figura 15), por lo que sólo hay una participación residual de las ventas en tiendas tradicionales u otras formas de venta (Observatorio de Precios de los Alimentos del MARM, 2009).

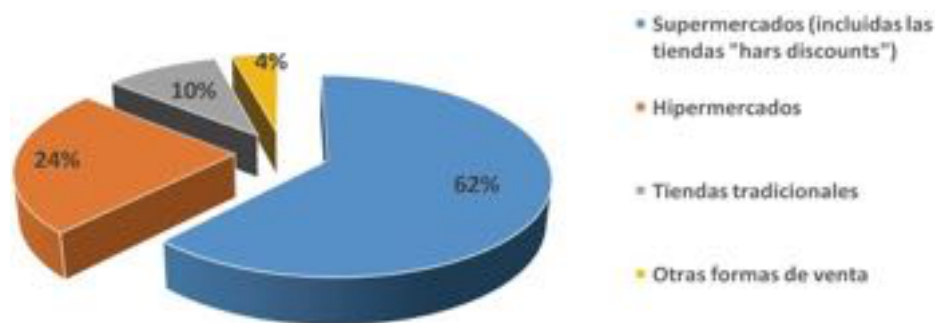


Figura 15. Locales comerciales de productos lácteos por volumen de negocio en los hogares españoles (Datos: MAPA, 2004; elaboración propia)

2.3.8. Estructura de consumo

En la sociedad española se han ido produciendo cambios en los hábitos de consumo a lo largo de los años modificando la dieta alimentaria, pasando de un mercado de escasez, coincidiendo con el periodo de guerra civil y postguerra donde se consumían productos básicos, a un mercado de abastecimiento masivo de productos de origen animal, donde se presiona a los diversos eslabones de la cadena para la innovación.

En el caso de la leche, se ve sustituida progresivamente por otros productos lácteos, que incorporan innovaciones con la ampliación de la gama comercial, marcas diferenciadas, convencionales y ecológicos.

Al mismo tiempo, los gustos del consumidor español van cambiando siguiendo las tendencias internacionales, muy influidos por la llegada de productos nuevos europeos que entran libremente en el mercado nacional.

Según muestra los datos aportados por el MAGRAMA en 2014, el consumo de leche por persona ha venido disminuyendo a lo largo de

los últimos años, salvo en el año 2013 que experimentó un ligero aumento. El consumo per cápita ha caído de 100 a 73 litros, especialmente en leche entera (de 49 a 19 litros), en tanto que la semidesnatada ha aumentado de 26 a 33 litros por persona (Díaz Yubero *et al.*, 2016).

		Consumo por Persona														
		2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008*	2009	2010	2011	2012	2013	AÑO 15*
TOTAL LECHE LÍQUIDA		99,93	96,86	94,81	91,30	88,36	87,27	82,46	79,83	79,96	78,42	76,79	74,50	73,89	75,77	73,33
LECHE LARGA DURACIÓN		82,63	81,38	80,15	77,38	88,10	81,19	79,45	76,93	75,72	74,25	73,55	71,44	70,96	72,97	70,83
LECHE CORTA DURACIÓN		7,28	5,67	4,66	4,32	4,26	4,08	3,01	2,90	4,24	4,16	3,24	3,24	2,91	2,81	2,49
LECHE ENRIQUZADA		95,89	93,62	92,20	88,82	87,60	84,67	80,94	78,33	78,76	77,20	75,88	73,54	72,95	74,84	72,64
ENTERA		49,33	45,13	40,96	37,65	35,29	32,75	29,08	26,66	27,17	26,07	24,16	22,35	21,20	21,40	18,32
DESNATADA		20,82	20,39	21,13	20,54	21,06	21,30	20,58	20,83	21,56	20,24	18,49	18,94	20,71	20,66	20,48
SEMIDESNATADA		26,53	28,10	30,12	30,64	31,25	30,62	31,18	30,85	30,43	30,89	32,23	31,25	31,02	32,78	32,85

Tabla 6. Evolución del consumo por persona en litros (MAGRAMA, 2014)

El volumen total de leche también ha disminuido progresivamente pasando de 4 mil a 3 mil millones de litros.

Respecto a la estructura del consumo, es un hogar de parejas con hijos o monoparentales, con edades entre 35 y 44 años, y renta acomodada. Los hogares con personas jubiladas consumen cerca de un 22% del total, seguido por los que tienen hijos de edad media (20%). Por el contrario, los consumidores independientes están en los niveles más bajos, tanto los jóvenes (2%) como los adultos (4%) (Díaz Yubero *et al.*, 2016).



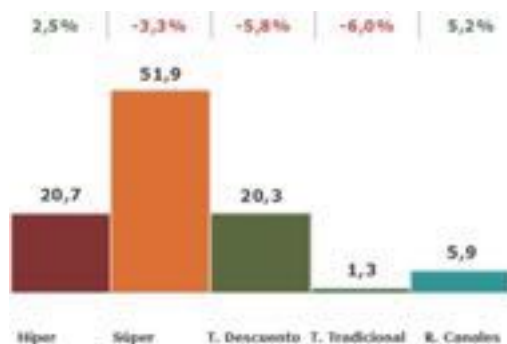
Figura 16. Volumen anual total de leche (millones de litros) (MAGRAMA, 2014)

Si comparamos el consumo de leche por comunidades autónomas, las de menor consumo son Cataluña, Baleares y Valencia y las de mayor, las dos Castillas y Extremadura.

La mayoría del consumo (97%) se centra en leche líquida de larga duración con respecto de la leche líquida de corta duración. Por otro lado, analizando el tipo de leche, la leche entera supone aproximadamente una cuarta parte (27%) con tendencia descendente, siendo el perfil de consumidor un habitante de poblaciones pequeñas ubicado en las dos Castillas. Hay una tendencia descendente en hogares de retirados y adultos, en tanto que aumenta en los jóvenes aunque no llega a los 15 litros. En la de larga duración, la leche semidesnatada es la más consumida en los hogares (45%), con un incremento de adultos independientes, siendo los jubilados los que tienen mayor cuota de consumo. La leche de larga duración desnatada supone un 28% del consumo en los hogares, con el precio más alto de todos los tipos, manteniendo un nivel estable en la ingesta, en torno a los 20 litros per cápita anual. El perfil del consumidor es persona de más de 50 años de clase alta (Díaz Yubero *et al.*, 2016).

Otro aspecto de la estructura a ser analizado son los canales comerciales, ya que con frecuencia los hábitos de consumo se adaptan a las posibilidades de obtener el producto o, a la capacidad de almacenamiento, al ser un producto perecedero.

El MAGRAMA ha realizado estudios sobre la distribución de la leche líquida por los distintos canales de distribución: Híper, súper, tiendas de descuento, tradicional y otros.



* El porcentaje de variación es con relación al año 2013

Figura 17. Distribución de la leche líquida por canales en porcentaje (MAGRAMA, 2014)

En la Figura 17, el mayor volumen de leche líquida correspondió a los supermercados (52%), seguido de los hiper (21%) y tiendas de descuento (20%).

El consumo de derivados lácteos en el 2014 se mantiene prácticamente similar con respecto al año anterior, al igual que los yogures que tienen una tendencia estable de consumo, mientras que en el consumo de queso, los niveles de consumo caen un 5% con respecto al 2013, aunque su gasto se mantuvo debido a la subida de precios.

Analizando las previsiones futuras, en Europa Occidental se estima que entre el 2009 y el 2019, se van a dejar de consumir 2,4 billones de litros de leche cada año (Díaz Yubero *et al.*, 2016). Esto, unido a la volatilidad de los precios y al aumento de producción tras la abolición de las cuotas lácteas, genera en Europa una situación alarmante donde se empiezan a buscar alternativas en innovación para abrir oportunidades fuera del continente.

2.4. Conducta

2.4.1. Evolución y tendencias de los precios

Mientras que la configuración de los costes de producción de leche a nivel de los productores está completamente condicionada por el tamaño, el rendimiento y la competitividad de cada tipo de granja de productos lácteos (se deben recordar los dos modelos estructurales diferentes explicados en el punto de desarrollo estructural del sector), los precios de la leche son fijados por el mercado (oferta, demanda, situación de la competencia, las importaciones de leche cruda, etc.) y no dependen de las circunstancias o características de las explotaciones (Observatorio de Precios de los Alimentos del MARM, 2009).

Durante el año, los precios de la leche fluctúan fuertemente y en repetidas ocasiones, tanto aumentando como disminuyendo, debido a cambios en la oferta y la demanda, no sólo en el mercado nacional, sino también en el mercado internacional. De hecho, ya que España tiene una fuerte dependencia de las importaciones para cubrir las necesidades nacionales de productos lácteos, debido a que la cuota de leche nacional era insuficiente, las fluctuaciones en los mercados internacionales tenían una gran influencia en los precios nacionales de la leche.

En la figura (Figura 18), se muestra un índice promedio de precios de la leche pagados a los ganaderos cada año (INE, 2014). El obje-

tivo de este promedio es tratar de obtener una idea general de la tendencia seguida por los precios de la leche pagados en los últimos años.

Como puede verse, los precios en 2012 son más bajos que al comienzo de la serie. El precio medio percibido por los productores en el sector lleva a una tendencia creciente, con altibajos, hasta el año 2009 (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012), cuando se produjo una caída drástica de los precios después de la crisis alimentaria de 2007/2008, la tendencia global de la serie estudiada de los siguientes años disminuye de forma clara e irregular. Por lo tanto, desde el año 2009 los precios están completamente encerrados en valores más bajos que hace una década, a pesar de que los datos más actuales muestran un mejor comportamiento de los precios en los últimos meses del 2013 (véase la Figura 19). De todos modos, los precios de la leche siguen siendo inferiores a los costes de producción (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012). Esta falta de rentabilidad y el aumento de los costes de producción está creando una situación complicada (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012).

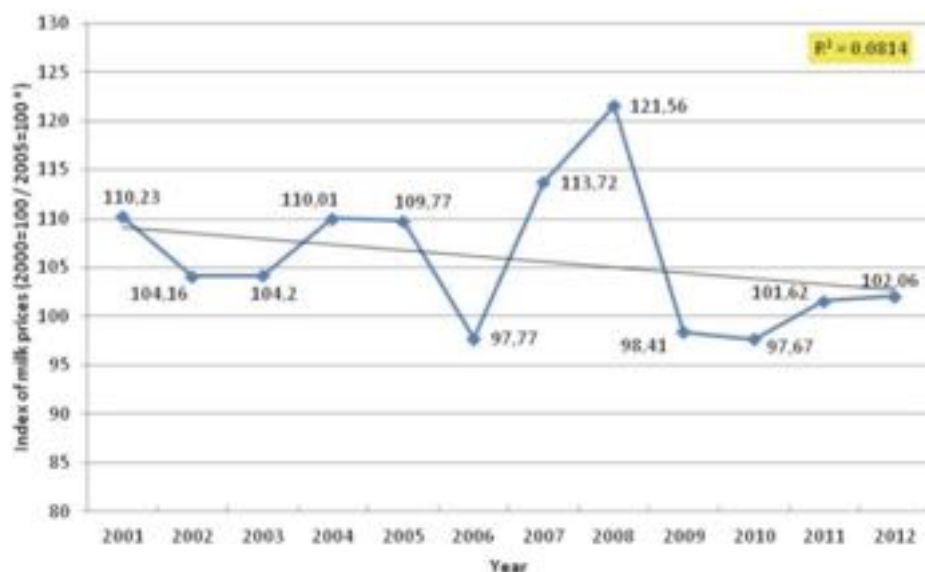
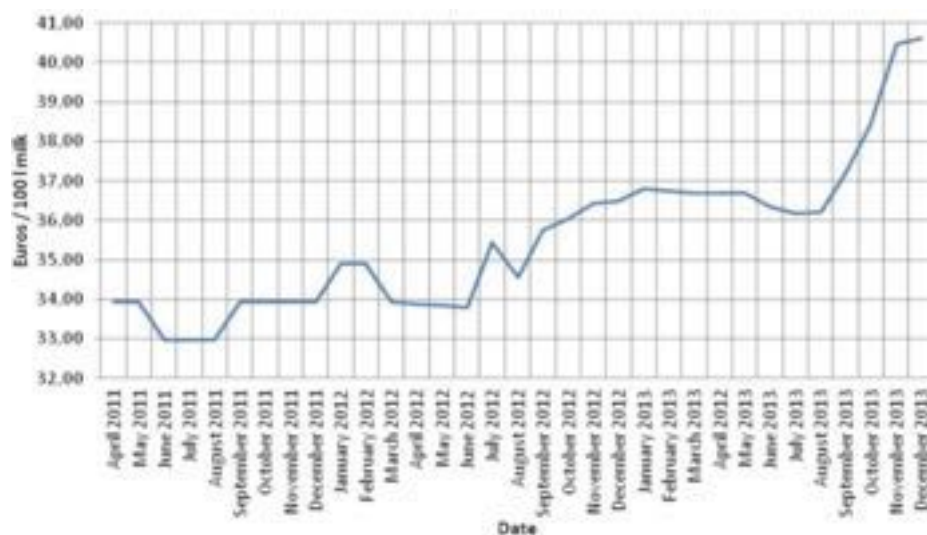


Figura 18. Evolución del precio de la leche pagado a los productores de leche en España. (*) 2000=100 hasta 2006/2005=100 a partir de 2006 (Datos: INE, 2014; Arce, 2014)

Por otro lado, la irregularidad se debe a diferentes fluctuaciones artificiales de precios de la leche. Estas fluctuaciones por lo general están en línea con temas como la crisis mundial de alimentos (como en

2007/08) y la crisis económica (últimos años) que causa volatilidad en los mercados, características políticas relativas al sector (cambios en el marco político, como la PAC), especulación sobre la oferta y al demanda, o simplemente malos años en cuanto a los rendimientos en la producción. Concretamente en España, el proceso de concentración en la industria láctea y la voluntad de alcanzar mayores cuotas de recogida de leche por las firmas líderes supusieron una de las principales razones de la competencia entre las empresas lácteas (Langreo Navarro, 1994). Este hecho, junto a la escasez de materia prima en algunas ocasiones (debido al déficit estructural de la producción) conduce a la auténtica guerra de precios, con importantes fluctuaciones en los precios a nivel de producción, lo que lleva a ciclos bastante marcados (Langreo Navarro, 1994). Todos estos factores se convierten en datos muy dispersos de precios de la leche, hecho que se puede apreciar en el bajo coeficiente de determinación ($R^2 = 0,0814$) de la línea de regresión. A pesar de ello, la regresión lineal es suficiente para observar la tendencia a la baja comentada de los precios a lo largo de la serie de años 2001-2012.



* Los datos de mayo de 2013 podría ser preliminares

Figura 19. Precios de la leche mensuales a nivel de producción (Datos: Observatorio de Precios y Mercados de la Junta de Andalucía, 2014; Arce, 2014)

Por otra parte, si observamos con más detalle los precios mensuales de la leche durante todos los años, nos damos cuenta de que, como se ha comentado al principio de este punto, hay varias fluctuaciones mensuales durante cada año (Observatorio de Precios y Mercados de la Junta de Andalucía, 2014). Esto es causado por las condiciones de

oferta y demanda, que pueden ser influidas por factores artificiales como los antes mencionados pero, en condiciones normales, son debidas principalmente a una razón natural: la estacionalidad característica de la producción de la leche cruda. Esta estacionalidad conduce a ciclos de producción, con momentos del año con superávit y otros con la escasez de la oferta, y por lo tanto, cambios en los precios (Figura 19).

Como puede verse, los precios de la leche varían según la temporada, con algunas excepciones, debido a condicionantes artificiales. Los precios de la leche suelen ser más bajos en la temporada de primavera-verano y mayores en la temporada de otoño-invierno. La razón es que los nacimientos suelen ser en primavera y verano, por lo que las vacas están en el período de lactancia, la producción es mayor, y por lo tanto, los precios son más bajos (Calcedo Ordoñez, 2002). Por el contrario, en otoño y en invierno las vacas suelen estar en el período "seco", por lo que disminuye la producción y los precios pagados por la leche aumentan (Calcedo Ordoñez, 2002). Además, el contenido de grasas y proteínas, que es un factor determinante del pago de leche (proteína total), también varía dependiendo de la temporada. Por lo tanto, los valores mínimos de grasa y proteína son, respectivamente, entre junio y agosto, y entre julio y agosto (Calcedo Ordoñez, 2002), lo que contribuye a este efecto "estacionalidad". Por lo tanto, en España se observa un período más largo de los valores mínimos de grasa y proteína en verano, probablemente debido a las condiciones climáticas.

Por otra parte, se destaca la mejora en el comportamiento de los precios durante 2013, con una tendencia creciente y un notable aumento desde septiembre de ese año (en línea con lo que sucede en otros mercados europeos).

2.4.2. Márgenes comerciales y la transmisión de precios

El estudio de los márgenes comerciales del sector lácteo español es importante con el fin de analizar el rendimiento de su cadena de valor y el comportamiento de las diferentes partes implicadas. Los márgenes comerciales pueden ayudar a comprender la transmisión de precios a lo largo de la cadena alimentaria o, en otras palabras, la relación entre los precios al consumidor y los precios a nivel de producción. Para calcular los márgenes comerciales siempre existe una discusión, ya que hay muchas maneras diferentes de calcularlos (con resultados diferentes). A veces son reemplazados por los márgenes de beneficios, que esencialmente tienen un significado similar. Para medirlos se ha calcu-

lado la diferencia entre el total de insumos (costes) y las salidas totales (ingresos).

Dado que la leche líquida es el producto lácteo más relevante en España, se detallará en este punto la estructura de los costes y precios de la leche líquida a través de las diferentes etapas de la cadena de valor con el fin de comprender mejor la transmisión de los precios de la cadena. Por lo tanto, los datos sobre los ingresos, costes, precios y los beneficios netos de la cadena de valor de la leche líquida se muestran en la Figura 20.

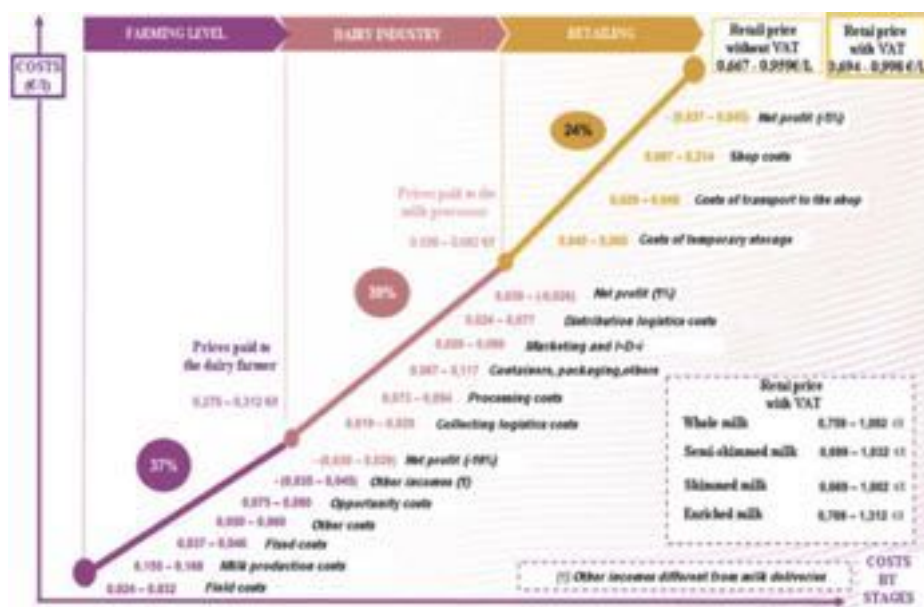


Figura 20. Esquema de la estructura de costes y precios en la cadena de valor de la leche líquida, 2009/2010

(Datos: Observatorio de Precios de los Alimentos del MARM, 2009; modificada)

Los productores de leche son la base de la pirámide productiva y al mismo tiempo la parte más débil de toda la cadena de suministro. Por lo general, los ganaderos tienen la menor diferencia entre los costes e ingresos y este hecho puede suponer un riesgo no sólo para sus actividades diarias a medio/largo plazo, sino también para el resto de la cadena de valor. Por lo tanto, la vulnerabilidad de la etapa de producción (bastante atomizada, desorganizada y apenas integrado verticalmente con las etapas posteriores de la cadena), junto con desajustes permanente entre la oferta y la demanda, conduce a un desequilibrio en toda la cadena alimentaria que impide su correcta realización. En realidad, los

precios de la leche a nivel de granja (37% del precio final al consumidor) se han mantenido por debajo de los costes de producción (Giagnocavo y Vargas-Vasserot de 2012) en los últimos años. De hecho, como se puede ver en la Figura 20, el promedio del beneficio neto de los productores de leche es de [10% (sin tener en cuenta las ayudas de la PAC). Esta falta de rentabilidad y el aumento de los costes de producción crea una situación compleja (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012).

La industria láctea por su parte, tiene un beneficio neto promedio de 1%. Como puede verse, este margen de beneficio es bastante bajo, por lo que en las empresas en expansión el procesamiento de grandes cantidades de productos con el fin de lograr economías de escala es la única solución para hacer rentable la industria. Los costes agregados derivados de la transformación de actividades suponen un 39% del precio final al consumidor, por lo que la etapa industrial es el paso de la cadena de valor donde se agrega un valor importante al producto.

Por último, la fase de comercio minorista vende la leche líquida a 0,667-0,959 € / l, es decir, aproximadamente entre dos y más de tres veces más caro que el precio mínimo pagado a los productores de leche y hasta dos veces más caro que el precio mínimo pagado a la industria. Sin embargo, los costes derivados de la agregación de las actividades de distribución suponen sólo alrededor del 24% del precio final al consumidor, por lo que la etapa venta al por menor es el paso de la cadena de valor que se añade un valor menor para el producto. A pesar de este hecho, el beneficio neto promedio en el comercio minorista es curiosamente aproximadamente 5%. Sin embargo, al parecer esta falta de rentabilidad podría explicarse por las estrategias de marketing de las cadenas de distribución, dado que la leche líquida es un alimento básico, a menudo se vende leche líquida con márgenes muy pequeños o incluso con precios menores a los costes utilizando "efecto de producto reclamo" para atraer a los consumidores (Calabozo Moran y Fenil, 2012).

2.4.3. Transparencia e información

La transparencia en un sector económico o productivo es un comportamiento esencial para el correcto desempeño de sí mismo. La razón es que la confianza entre las diferentes partes involucradas en un sector, es directamente proporcional a la transparencia en dicho sector. Se ha demostrado en numerosas ocasiones que cuando las relaciones comerciales se producen en confianza, las transacciones tienen costes

más bajos. Sin embargo, cuando no hay confianza, los costes de transacción suben muy rápido, hasta niveles inaceptables para todas las partes involucradas. Por otra parte, en un sector sin suficientes flujos de confianza y de información, las estrategias comerciales de las partes interesadas se vuelven egoístas y defensoras de los intereses particulares en lugar de defender los intereses globales para todo el sector. Este hecho puede afectar los niveles de inversión e innovación, que al mismo tiempo afectan a la productividad a largo plazo. Por lo tanto, la transparencia es fundamental para tener confianza, bajos costes de transacción y una actuación adecuada en la cadena de valor.

Esta transparencia depende de la cultura adquirida (costumbres estables a lo largo del tiempo por la sociedad, la educación, etc.) y las prácticas (herramientas como auditorías o certificación, reglamentos, leyes, códigos de conducta y principios éticos, etc) en la sociedad de un país y específicamente en un sector productivo. De hecho, por ejemplo, la asignación en el pasado de una cuota de leche que no cubra las necesidades totales de España, es el resultado de una tradicional falta de transparencia en algunos sectores de la economía española. Los ganaderos dieron datos erróneos de la producción con el fin de ocultar parte de la producción de bienes a favor de un posible "mercado negro" de la leche.

Frente a una transparencia reducida en el sector, las empresas lecheras y especialmente las cooperativas encuentran dificultades para conocer los datos reales sobre la producción nacional y por comunidades autónomas. Este hecho impide un análisis adecuado del mercado y, a veces representa una dificultad importante para comercializar sus productos. Por otra parte, en muchas ocasiones no es posible planificar por completo la producción de acuerdo a la demanda.

Siempre ha habido una falta de transparencia e información general acerca de la formación de precios en el sector lácteo español. De hecho, incluso la búsqueda de los datos de precios de la leche a nivel de los productores a lo largo de los años para realizar este estudio fue complicada. Probablemente, una de las razones es que tradicionalmente las relaciones comerciales entre los productores de leche y la industria láctea nunca han sido ampliamente reguladas por un contrato formal aprobado con las condiciones definidas y precios para la leche cruda a nivel nacional (MAPA, 2004). Las relaciones entre los ganaderos y la industria se han basado principalmente en acuerdos de venta en el mercado abierto, generalmente para el suministro a medio plazo, pero sin

un contrato (MAPA, 2004) favoreciendo el mercado negro y una falta de transparencia.

Por lo tanto, frente a la situación límite del sector lácteo en los últimos años, el Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente está tratando de fomentar la implantación de contratos homologados, entre otras medidas, para mejorar la cadena de valor láctea (MAGRAMA, 2013a).

Las nuevas regulaciones requieren contratos obligatorios, abiertos y transparentes en todas las etapas de la cadena de valor (MAGRAMA, 2013a). Por otra parte, los contratos con los productores de leche deben tener una duración mínima de un año sin posibilidad de cambios unilaterales y capacidad de rechazar la leche del productor (MAGRAMA, 2013a). Además, todo estaría controlado por una base de datos gestionada por INLAC (Organización Interprofesional del sector lácteo en España) (MAGRAMA, 2013a), cuyo papel en el sector lácteo español está siendo mejorado por el Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente.

Por lo tanto, parece que el plan está funcionando bien y el número de productores de leche bajo contrato está aumentando considerablemente (Figura 21). En consecuencia, el 70% de los productores de leche funciona ahora bajo contrato, por lo que más del 90% de la leche cruda producida en España está regulada (MAGRAMA, 2013a).



Figura 21. Número de productores de leche y otros proveedores bajo contrato en España (MAGRAMA, 2013a)

Además, el Ministerio de Agricultura y la Alimentación ha puesto en marcha la campaña de "Productos lácteos sostenibles". Los objetivos de este proyecto es certificar en las etiquetas de los productos lác-

teos el origen español y la calidad de la leche que se utiliza, junto con las condiciones de comercialización que garanticen la sostenibilidad del sector lácteo español (Cooperativas Agro-Alimentarias de España, 2013).

Esta medida busca mejorar la trazabilidad y la transparencia en los productos lácteos españoles, por tanto, uno de los requisitos para el etiquetado como "productos lácteos sostenibles" es la implantación de contratos homologados como herramienta para la sostenibilidad del sector (Cooperativas Agro-Alimentarias de España, 2013). En el 2013, 14 compañías de productos lácteos (incluyendo los grupos más importantes de cooperativas) y 9 cadenas minoristas se han adherido a la convención. El acuerdo fue firmado por el Ministerio de Cooperativas Agro-alimentarias de España, 3 asociaciones que representan las cadenas minoristas, Fenil (la asociación de las industrias lecheras) y ASAJA en representación de los productores de leche (Cooperativas Agro-Alimentarias de España, 2013).

2.4.4. La distribución y el poder de negociación

Como ya se ha comentado en muchos puntos de esta descripción sectorial, el sector lácteo español, en general, se caracteriza por su atomización, especialmente en el nivel de producción y en el segmento de los primeros compradores, a pesar de la tendencia a integración y concentración.

Por otra parte, aunque la industria tiene un cierto nivel de concentración en torno a algunos grandes grupos lácteos, podríamos decir que también hay cierta atomización en esta etapa general, si lo comparamos con la etapa industrial de otros países como en Dinamarca por ejemplo Arla Foods. Por lo tanto, los productores de leche, lejos de estar bien organizados, no tienen suficiente poder de negociación frente a la industria, y al mismo tiempo, los ganaderos y la industria no lo tienen con la gran cadena minorista, que es el eslabón más fuerte en comparación con otros países europeos, como Dinamarca pues las cadenas de distribución en España tienen una mayor rotación y algunas de ellas son importantes grupos multinacionales.

Podemos afirmar entonces que la cadena de valor de productos lácteos en España presenta desequilibrios graves, que se decantan a favor de las cadenas de venta al por menor. Por lo tanto, los precios se fijan generalmente por las cadenas de distribución, que los utilizan para presionar a la industria láctea y abastecer a precios más bajos (Giagno-

cavo y Vargas-Vasserot, 2012). En consecuencia, la industria hace lo mismo con los productores de leche, los cuales son la etapa más débil y desorganizada y los receptores de precios bajos en la parte inferior de la cadena de valor (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012).

Una consecuencia importante derivada de este gran poder de negociación de las cadenas de distribución sobre el resto de las partes interesadas en la cadena de valor, ha sido la elevada cuota de mercado de las marcas de los distribuidores o marcas blancas por encima del consumo de productos lácteos. Por otra parte, esta cuota de mercado ha aumentado considerablemente durante los últimos años. Aunque existen otras causas como las preferencias del consumidor o el nivel de ingresos (afectados por la crisis económica), la posición fuerte en el mercado de las grandes cadenas de distribución contribuye a la importancia de las marcas propias de los minoristas (Baker Graber-Lützhøft, 2007).

Puesto que la leche líquida es el producto lácteo más representativo y relevante en España, es un buen ejemplo para ilustrar el peso de las marcas blancas en los productos lácteos (Figura 22)

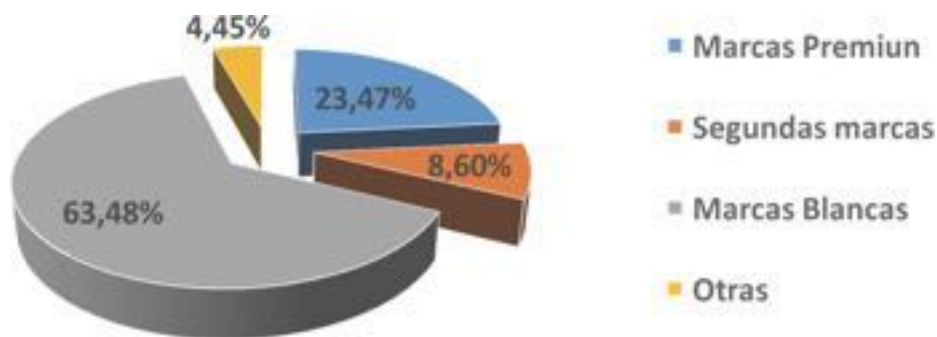


Figura 22. La cuota de mercado de los diferentes segmentos de marcas en los productos lácteos, 2012
(Datos: Calabozo Morán, Fenil, 2012; elaboración propia)

Como se puede observar, las marcas blancas son, con diferencia, el segmento con la mayor cuota de mercado. Estos datos son de los más altos de la UE.

2.4.5. Problemas de abuso de posición dominante

Los problemas de abuso de posición dominante del poder de mercado pueden verse relacionados con la posición dominante de una empresa, el monopolio, la corrupción, los desequilibrios en la cadena de suministro, etc. La posición dominante puede ser entendida como la

situación en que una empresa tiene la posibilidad de desarrollarse relativamente independiente y puede actuar en el mercado sin tener en cuenta a los proveedores, clientes o competidores.

En España no hay una empresa de productos lácteos tan dominante como en otros países como es el caso de Dinamarca que cuenta con una gran empresa láctea, Arla Foods, cuya actividad podría suponer una situación de abuso de posición dominante. Sin embargo, en España los problemas del sector lácteo de abuso de posición dominante provienen de los desequilibrios generales del poder de negociación en la cadena de valor. Por lo tanto, podríamos clasificar las situaciones más relevantes de abuso dominante en dos grupos: el abuso de los minoristas sobre la industria láctea y el abuso de industria láctea sobre los productores de leche.

Por un lado, el comportamiento de los minoristas hacia los proveedores (industria láctea) atrae considerable atención debido a su posición más fuerte en la cadena de valor de productos lácteos en España. Por otra parte, las acciones específicas de los minoristas hacia los proveedores vienen en el contexto de los minoristas como "guardianes", debido a su aparente control de la interfaz entre los consumidores y el resto de la cadena alimentaria (Baker Graber-Lützhøft, 2007). Así, entre otras cosas, las acciones comunes de los minoristas para explotar su posición dominante son (Baker Graber-Lützhøft, 2007):

- Pasar a los proveedores los costes de la introducción de nuevos productos al por menor (tales como los gastos de publicidad iniciales) y
- Exigir pagos a los procesadores para acceder a su espacio en las estanterías del supermercado (tarifas por espacio, "*slotting fees*") y
- La fijación de precios de la leche líquida u otro producto lácteo por debajo de los costes con el fin de atraer a los consumidores y aumentar las ventas de productos complementarios de alto margen (producto reclamo, "*loss-leading*") y
- Exigir que los acuerdos con los proveedores sean en régimen de "todo o nada" a través de una gama de productos (amenaza de salir de la lista "*de listing threat*") y
- Exigir una compensación a los proveedores por anomalías o problemas en el estado de productos y
- Exigir a los proveedores desempeñar funciones técnicas que no deben ser su responsabilidad y

- Exigir acuerdos de suministro exclusivo, especialmente en el suministro de marcas blancas y
- Requerir un etiquetado acorde con el usado por las marcas propias de los minoristas.

Por otro lado, los abusos de la industria y los compradores a los productores de leche vienen desde antes. Estos abusos son la consecuencia lógica de la atomización y la desorganización de la producción, junto con una falta de integración con la industria. Los acuerdos colusorios suelen ser el principal instrumento para ejercer presión a la baja sobre los precios de la leche cruda recibidos por los productores de leche (Baker Graber-Lützhøft, 2007). Otras acciones potenciales de los primeros compradores de la industria para explotar su posición dominante incluyen (Baker Graber-Lützhøft, 2007):

- El control de los insumos clave para los productores de leche y
- Condicionar el suministro de insumos a los productores de leche, a cambio de la compra de su leche y
- Exigir artículos de alta inversión en la granja (como tamaños de tubos para la recogida de la leche que no son compatibles con los equipos competidores).

2.4.6. *La opinión de los consumidores y escándalos alimentarios*

Los datos nacionales, a través de encuestas en 2012, muestran que las características más valoradas (Figura 23) por los consumidores españoles en los productos lácteos son la calidad (67,5%), y el precio (32,3%) (MAGRAMA, 2013b). Por lo tanto, otras específicas, tales como el origen del producto, la sostenibilidad del medio ambiente o las características orgánicas son una preocupación menor para los consumidores españoles, a pesar de que podrían incluirse también en un concepto más amplio de la calidad.

Los mismos datos también muestran que la leche líquida es considerada por los consumidores españoles como alimento básico principal (MAGRAMA, 2013b). Por lo tanto, todos los miembros en el 83,3% de los hogares consumen leche líquida, mientras que sólo el 1,3% de los consumidores no lo hacen (MAGRAMA, 2013b). Estos datos están en consonancia con el hecho de que la leche líquida es, con diferencia, el principal producto en el sector lácteo español. Por otra parte, los datos confirman que cuando los consumidores compran la

leche líquida, 68,2% de ellos no se fijan en el producto más barato (MAGRAMA, 2013b). Curiosamente, a pesar de la preferencia por la calidad de los productos, es importante destacar la clara preferencia por la leche esterilizada (UHT) más del 95% del consumo, en lugar de leche pasteurizada (Collantes, 2012). Estos datos implican que para el consumidor, es preferible una mayor capacidad de durabilidad y de almacenamiento (debido a la vida útil más larga gracias al tratamiento de calor y los contenedores tetra brick) que un sabor más atractivo y mejores características nutricionales de la leche pasteurizada, que debe ser enfriada para una correcta conservación (Collantes, 2012).

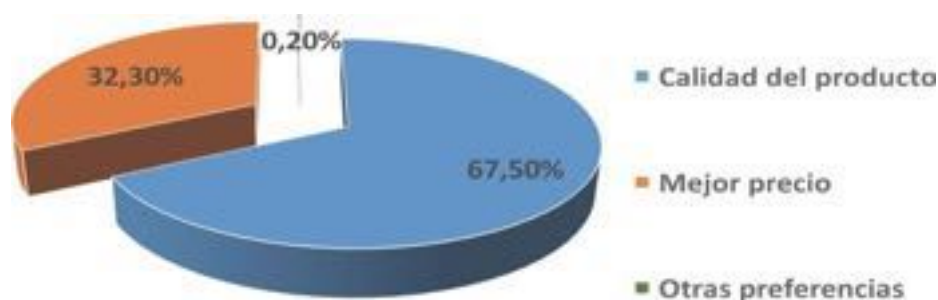


Figura 23. Preferencias de los consumidores en los productos lácteos en España
(Datos: MAGRAMA, 2013b; elaboración propia)

Además, los datos muestran que el 72,5% de los consumidores compran siempre la misma marca de leche, y el 73,4% de aquellos que lo hacen, siempre la compran en la misma tienda o tipo de tienda (MAGRAMA, 2013b). Además, más de la mitad de los consumidores (53,3%) piensa que los productos lácteos de las marcas blancas propias de los minoristas tienen la misma calidad que las primeras marcas (MAGRAMA, 2013b).

Por otro lado, los escándalos de consumo son una característica que debe tenerse en cuenta, ya que están siempre estrechamente relacionados con la opinión que tienen los consumidores de los productos lácteos que consumen. También, los escándalos pueden verse promovidos por otros actores de la cadena o mediante campañas de desprestigio. Hoy en día, existen casos de reconocidas empresas acusadas de obtener ganancias a costa de los ganaderos, pagando precios demasiados bajos por su leche.

Actualmente, la seguridad alimentaria es muy importante en los países desarrollados, especialmente en relación con cuestiones sanita-

rias como la higiene y la calidad nutritiva de los alimentos. Por lo tanto, es fundamental pasar estrictos y, a menudo, costosos controles para verificar no sólo las normas mínimas, sino también las normas cumplidas más allá de las expectativas de los consumidores (productos alimenticios de alta calidad, nutritivos y saludables, siempre con los mejores precios, etc.) con el fin de evitar posibles escándalos de consumo y para obtener una buena opinión entre los consumidores.

En línea con estas características, la OCU (una organización importante de consumidores en España) llevó a cabo un amplio estudio, realizado en 2011, sobre la calidad de 47 diferentes marcas de leche líquida UHT en el mercado porque es el producto lácteo más consumido y relevante. El estudio analiza en detalle las diferentes propiedades cualitativas de cada marca de leche (características del etiquetado, la presencia de materia seca no grasa, materia grasa, proteínas, calcio, estabilizantes y furosin, características de los tratamientos térmicos y procesos, el uso de leche envejecida en la producción, nivel de higiene y sabor) con el fin de asignar una puntuación global para cada una (OCU, 2011).

El estudio supuso un auténtico boom mediático dentro del mercado de productos lácteos debido a sus resultados sobre la calidad de los mercados de leche líquida en su conjunto y las recomendaciones acerca de algunas marcas. De hecho, la OCU ha recibido muchas críticas por parte de algunas empresas de productos lácteos, colectivos y organizaciones de la industria láctea e incluso desde el Ministerio de Agricultura y Alimentación. Ellos cuestionaron el rigor del estudio y el daño al sector derivado de las conclusiones. Al mismo tiempo, defendieron la seguridad alimentaria y la calidad de los productos lácteos, lo que garantiza que en el sector lácteo español se aplica la legislación vigente normalizada para toda la UE.

La OCU respondió que nunca pusieron en duda que la leche líquida en España supusiera un riesgo para la seguridad alimentaria de los consumidores. Sin embargo, señalan la mala calidad de algunas marcas. El estudio dice que, en líneas generales, hoy en día la calidad de la leche líquida es inferior a la calidad de hace diez años (OCU, 2011). La disminución de la calidad afecta a las características y composición nutricionales de la leche, características que se relacionan con los diferentes procesos de elaboración y manipulación a la que está expuesto el producto (OCU, 2011). Los resultados del estudio se resumen en la Tabla 7.

LECHE ENTERA		PRECIO		RESULTADOS											CALIFICACIÓN
		Por litro		Etiquetado	Exceso de sólidos magre	Grasa	Proteínas	Calcio	Extracción	Tratamiento térmico	Leche envejecida	Ferulasa	Alérgeno	Depositos	
e)	PASCUAL	0,72	- 1,01	☐	☑	+	+	-	☑	☐	+	☑	☑	☑	80
	HACENDADO Mercadona	0,54	- 0,58	☑	☑	+	+	☐	☑	+	-	☑	☑	☑	79
	CONSUM	0,58	- 0,58	☑	☐	+	☐	+	☑	-	+	☑	☑	☑	78
	KIKU	0,83	- 1,02	☐	☑	☐	+	☑	☑	-	+	☑	☑	☑	77
	GALLEGA	0,53*		☐	+	☐	+	+	☑	☐	☐	☑	☑	☑	76
	DELEITE	0,75	- 0,75	☐	☐	+	+	+	-	+	☐	☑	☑	☑	76
	CARREFOUR	0,49	- 0,64	☑	+	+	+	+	☑	+	☐	☑	☑	☑	76
o)	MUJ	0,49	- 0,53	☑	+	+	+	☑	☑	☐	+	☑	☑	☑	74
	DIA	0,53	- 0,67	+	☐	☑	☐	☐	☑	☑	+	☑	☑	☑	74
	COVAP	0,69	- 0,85	+	+	+	+	☐	☑	☑	+	☑	☑	☑	73
	AUCHAN Alcampo	0,48	- 0,59	☑	+	+	+	☐	☑	☐	☐	☑	☑	☑	73
	MILBONA Lid	0,54	- 0,54	+	☐	+	+	+	☑	-	☐	☑	☑	☑	71
	GAZA	0,79	- 0,79	☐	☐	☐	+	+	☑	☐	☐	☑	☑	☑	71
	XOIA	0,80		☐	☐	+	+	☐	☑	+	☐	☑	☑	☑	70
	LEYMA	0,73	- 0,75	+	☐	+	+	+	☑	-	☑	☑	☑	☑	70
	ATO (!)	0,88	- 0,90	+	+	+	+	+	☑	-	☐	☑	☑	☑	70
	GURELESA	0,79	- 0,99	☐	☐	☐	☐	☑	☑	-	☐	☑	☑	☑	68
	BOMILK Eroski	0,47	- 0,52	-	+	+	+	☐	☑	+	+	☑	☑	☑	68
	UNIDE Maxcoop, Gama	0,59		+	+	+	+	☐	-	☐	☐	☑	☑	☑	67
	CREMOSITA	0,59	- 0,59	☐	-	+	☐	☐	☑	-	+	☑	☑	☑	62
	CELTA	0,67	- 0,89	☐	-	+	☐	☐	☑	-	-	☑	☑	☑	62
	AUCHAN VER PRECIO	0,47	- 0,55	☐	-	+	+	☐	☑	☐	☐	☑	☑	☑	61
	FERRACO	0,74	- 0,99	☐	-	☐	☐	☐	-	☑	-	☑	☑	☑	61
	PRESIDENT	0,68	- 0,89	☐	☐	☐	+	☐	☑	+	-	☑	☑	☐	61
	EL CORTE INGLÉS	0,75	- 0,80	☐	☐	+	+	☐	-	-	-	☑	☑	☐	57
	SUPERSOL	0,52	- 0,69	☐	-	+	+	☐	-	-	+	☑	☑	☐	50
	LAURI	0,73	- 0,85	+	☐	-	+	+	☑	+	+	☑	☑	☑	45
	SOLAR	0,51	- 0,55	☐	☐	-	+	+	☑	☐	☐	☑	☑	☑	45
	ALIADA El Corte Inglés	0,54	- 0,58	☐	☑	+	+	☐	☑	☐	-	☑	☑	☑	42
	ALPENDE Ahorramás	0,55	- 0,55	+	-	+	+	☐	☑	☐	☐	☑	☑	☑	42
	C. L. ASTURIANA	0,70	- 0,97	+	☑	☐	+	☑	☑	☐	☐	☑	☑	☐	42
	EROSKI	0,50	- 0,59	+	+	+	+	+	☑	☐	☐	☑	☑	☑	42
	LARSA	0,75	- 0,81	☐	☑	+	+	☑	☑	☑	-	☑	☑	☑	42
	SUPER El Arbol	0,54	- 0,54	☐	☑	+	☑	+	☑	+	☐	☑	☑	☑	42
	COVIRÁN	0,54	- 0,65	☐	☑	+	+	☐	-	☐	☐	☑	☑	☑	41
	FINESSA Lid	0,45	- 0,49	+	+	+	+	☑	☑	-	☐	☑	☑	☑	41
	LA VAQUITA	0,47	- 0,56	-	-	☐	☐	+	☑	-	-	☑	☑	☑	41
	ALTAMIRA	0,84	- 0,91	☐	+	+	+	+	☑	☑	☐	☑	☑	☑	30
	CARREFOUR DISCOUT	0,48	- 0,48	+	-	+	+	☐	☑	☐	-	☑	☑	☑	30
	CONDIS	0,58	- 0,58	☐	☐	+	+	☐	☑	+	-	☑	☑	☑	30
	EL CASTILLO	0,83	- 0,86	☐	-	+	+	☐	☑	☑	-	☑	☑	☐	30
	LLET NOSTRA	0,79	- 0,89	+	☐	+	+	+	☑	☑	+	☑	☑	☑	30
	PULEVA	0,74	- 1,39	+	☐	☐	+	☐	☑	+	☐	☑	☑	☑	30
	RAM	0,69	- 1,11	+	+	+	+	+	☑	+	+	☑	☑	☑	30
	RENY PICOT	0,77	- 0,79	+	-	+	☐	☐	☑	☑	-	☑	☑	☑	30
	BIO	0,59	- 0,63	☐	-	+	+	☑	☑	☑	+	☑	☑	☑	30
	POLESA	0,45	- 0,56	☐	-	☑	☐	☐	☑	☐	☑	☑	☑	☑	18

Tabla 7. Calidad de las diferentes marcas de leche líquida en España (OCU, 2011)

Algunos de los problemas que se encontraron en el estudio, que podrían ser considerados casi como un fraude, son (OCU, 2011):

- Algunas marcas utilizan leche envejecida, por lo que las proteínas pueden verse degradadas y
- La adición de estabilizadores no declarados (fosfatos) y
- La adición de suero de queso, sólidos lácteos o leche en polvo
- La aplicación de tratamientos térmicos muy agresivos que no mejoran las condiciones higiénicas de la leche y deterioran su calidad nutricional y su sabor.

Por otra parte, el estudio dice que hay leches de buena y mala calidad, por lo que no es necesario gastar más dinero para consumir buena leche, sobre todo porque algunas cadenas minoristas ofrecen buena leche líquida bajo su propia marca con precios económicos (OCU, 2011). Hay grandes diferencias en los precios, por lo que una familia puede ahorrar anualmente hasta 178 € dependiendo de la marca de leche líquida que consumen (OCU, 2011).

Por un lado, la marca con mayor puntuación global es Pascual (80 puntos sobre 100), seguido de Hacendado, Consum, Kaiku, Galle-ga, Deleite, Carrefour, Muu, Dia y Covap (todos ellos más de 70 puntos) siendo Muu la marca con la mejor relación calidad-precio (OCU, 2011). Por el contrario, las 10 marcas no recomendadas por la OCU (puntuaciones menores de 30 de 100) son, de mejor a peor, Altamita, Carrefour Discount, Condis, El Castillo, Llet Nostra, Puleva, RAM, Reny Picot, Rio y Polesa (con sólo 10 puntos (OCU), 2011). Destacan con la posición más baja en la lista marcas conocidas con una importante cuota de mercado y de alto nivel de inversiones en publicidad, Central Lechera Asturiana, Puleva o RAM. Por otra parte, se destaca también la buena posición de algunas marcas blancas como Hacendado (Mercadona) clasificada en la segunda posición.

2.5. Funcionamiento

2.5.1. Eficiencia económica y técnica

A día de hoy, aunque la eficiencia técnica (más relacionada con el nivel de innovación e inversiones) también es importante, el principal reto de la eficiencia para el sector lácteo español es la eficiencia eco-

nómica, que está más relacionada con la estructura del sector y su cadena de suministro (probablemente la debilidad más importante del sector lácteo en España).

El sector lácteo español presenta una reducción de la eficiencia económica, especialmente en el ámbito agrícola. Dado que la mayor parte de las granjas lecheras no presentan un tamaño adecuado, no pueden reducir los costes de producción a través de economías de escala, que es la única manera de mejorar la eficiencia económica y ser competitivos en costes dentro de un mercado en el que los precios son fijados por condiciones externas a las granjas.

Además, dado que la industria láctea española está atomizada, las empresas procesan las cuotas más bajas de la leche cruda, así que no hay una economía tan intensa de la escala y la eficiencia económica es menor en comparación con otros países.

Por otro lado, una adecuada gestión económica es fundamental para viabilizar un negocio. A menudo los productores desconocen cuánto les cuesta producir un litro de leche. Esta falta de conocimiento sobre su propia realidad perjudica a la actividad lechera siendo totalmente dependiente de las ayudas. La mayoría de las explotaciones trabajan con una gestoría que les lleva los temas de contabilidad y las relaciones con las autoridades fiscales, de tal forma que no existe una preocupación o seguimiento sobre la viabilidad del negocio por parte del ganadero.

2.5.2. Innovación

Tradicionalmente, el sector lácteo español, en línea con las tendencias generales de la economía española, se ha caracterizado por una aversión al riesgo y por lo tanto la reducción de inversión en investigación y desarrollo y bajos niveles de innovación (Giagnocavo y Vargas-Vasserot, 2012). Esto afecta especialmente a la fase de producción, pero también a algunas empresas de productos lácteos, concretamente las pequeñas empresas y las cooperativas centradas en la producción y comercialización de leche líquida. En general, los niveles de innovación y las inversiones en el sector están lejos de los niveles de los principales países europeos en el sector lácteo.

Por lo tanto, dada la situación actual de la falta de rentabilidad y competitividad en el sector, las administraciones públicas expresan la necesidad de ganar tamaño y ser competitivos en un mercado cada vez más globalizado y abierto (MAGRAMA, 2013d). Es necesaria una ma-

yor inversión en I + D e innovación para mejorar los procesos de producción (mejoras en eficiencia, rendimiento y sostenibilidad), los procesos de manejo, la genética, para mejorar también la calidad del producto y la trazabilidad en la cadena alimentaria, y para generar una oferta más amplia, diversificada y competitiva de los productos (MAGRAMA, 2013d).

En esta línea, se debe trabajar en un cambio de mentalidad por parte de los ganaderos para introducir nuevas tecnologías y robótica en el uso cotidiano de las explotaciones a fin de mejorar la eficiencia en la gestión económica. Así generar nuevas formas para profesionalizar el proceso de fabricación del ganadero y su calidad de vida, para incorporar a los jóvenes ganaderos. El introducir la robótica, que hará posible la profesionalización de la producción, permitiendo en el caso del robot de ordeño, que un operario consiga 30.000 litros de leche en una jornada de 7 horas (Díaz Yubero *et al.*, 2016), también tiene algunos problemas si la explotación no tiene un tamaño determinado (60-70 vacas) o personal con conocimientos informáticos o capacidad de adquirirlos.

Por otro lado la alimentación animal, que supone hoy en día el 50-65% de los costes de producción (Díaz Yubero *et al.*, 2016), deberá incorporar en los próximos años medidas que reduzcan los impactos con el medio ambiente y la emisión de contaminantes.

Como consecuencia de todo esto, el Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente ha puesto en marcha diferentes campañas al respecto. Por ejemplo, entre otras medidas, el Ministerio ha implementado una línea de subvenciones para los productores de leche a fin de financiar proyectos de investigación aplicada e innovación en el sector, con un presupuesto de 8 millones de euros en tres años (MAGRAMA, 2013d).

Sin embargo, las grandes empresas, y otras no tan grandes, han desarrollado una importante capacidad de innovación para hacer frente a la complicada situación del sector en las últimas décadas. Por ejemplo, las marcas tradicionales de leche líquida están diversificando su producción hacia productos lácteos con un mayor valor añadido. De esta manera, España es hoy en día el líder europeo en leches adaptadas, enriquecidas/fortificadas y funcionales, lo que representa el 23% del consumo total de leche líquida (Calabozo Moran y FENIL, 2012).

Por otra parte, en las leches fermentadas (incluyendo yogures) los nuevos productos innovadores representan el 40% del volumen

vendido total y el 50% del valor total de las ventas (Calabozo Moran y Fenil, 2012). En estos dos campos es donde la industria láctea centra principalmente sus esfuerzos en el desarrollo de productos.

2.5.3. Capacidad de adaptación

Como ya se ha explicado, el sector lácteo tiene una capacidad limitada de adaptación hacia el desarrollo de otras actividades o negocios, debido a la naturaleza de la materia prima principal (leche), la especificidad y la vida útil de la maquinaria, infraestructuras y otros bienes económicos. Por lo tanto, esta capacidad de adaptación reducida puede llevar a que el sector lácteo español reoriente sus actividades hacia otros negocios más o menos relacionados, tales como bebidas de leche con chocolate, ingredientes a base de leche para otras industrias alimentarias o de otras bebidas y postres a base de leche. No obstante, hay un margen muy pequeño para adaptar la producción tanto en cantidad, calidad y variedad de la oferta a las exigencias del consumidor.

Es importante mantener una adecuada investigación y desarrollo de nuevos productos que se vayan adaptando a las necesidades de los distintos perfiles del consumidor. Productos probióticos, ecológicos, reductores de colesterol, controladores de tensión arterial, cafés fríos para llevar son algunos ejemplos de cómo algunas de las grandes empresas han ido evolucionando aportando una mayor variedad en sus productos.

Antiguamente las empresas de éxito se caracterizaban por el individualismo, pero dado el nivel de madurez alcanzado y que el sector no crece a la misma velocidad y no obtiene resultados tan efectivos como antes, una medida de adaptación a tener en cuenta sería la formación de alianzas y relaciones de colaboración con otros elementos de la cadena de suministro como ocurre en Holanda donde prima la alianza con otras empresas y la innovación constante. Gracias a esto se consigue una mayor competitividad, búsqueda de nuevos productos, abrir mercados exteriores o simplemente tener mayor dimensión que permita negociar con los grandes grupos de distribución (Díaz Yubero *et al.*, 2016). En este tipo de alianzas, la clave del éxito estaría en que cada parte debe aceptar perder una parte de su autonomía y aportar parte de sus propios recursos a cambio de producir resultados superiores con la acción conjunta, sin olvidar mantener una parte importante en su negocio fuera de la alianza.

2.5.4. *Funcionamiento del consumo*

Como ya se ha comentado, la demanda tiene la capacidad de influir en el resto de la cadena de consumo.

Desde el punto de vista de nutrición y salud, el consumidor se encuentra confuso ante la cantidad de opiniones que existen sobre el tema, en muchos casos contradictorias. Muchos nutricionistas defienden que es un alimento que suministra calcio, magnesio y fósforo, así como vitaminas A y B, convirtiéndole en un alimento completo que puede prevenir de enfermedades como la osteoporosis. Sin embargo, su excesivo consumo, debido a la caseína, puede generar distintos tipos de asma y otras alergias.

Algunos actores aportan que el consumo de leche debería limitarse al periodo inicial de vida, ocasionando en muchos casos intolerancia en los periodos posteriores, aunque los defensores del consumo lácteo aportan que los individuos capaces de adaptarse han podido aumentar su tasa de supervivencia.

Por otro lado hay situaciones en las que se estimula el rendimiento de producción con alimentación forzada, inyección de hormonas y antibióticos que pueden perjudicar la composición y la calidad de la leche.

Bajo la preocupación por el medio ambiente, cada vez hay más interés por parte del consumidor hacia la compra de productos sostenibles o la conservación de los recursos naturales. El caso de los productos ecológicos resulta paradójico ya que España es uno de los grandes productores de la UE, y al mismo tiempo el consumo de productos ecológicos está en el 1% en nuestro país, y de este valor el 10% hace referencia a lácteos (Díaz Yubero *et al.*, 2016).

No se debe olvidar la posibilidad de encontrar nichos en mercados externos, aprovechando los mercados emergentes como China, como ya llevan haciendo grandes exportadores como Holanda o Nueva Zelanda. Teniendo en cuenta que al abrir mercado existen riesgos como enfrentarse a los distintos hábitos de consumo de cada país, y el problema de los excedentes de producción con la eliminación de las cuotas lácteas.

2.5.5. *Nivel de supervivencia del negocio*

El sector lácteo español ha llevado a cabo una importante reestructuración del sector a lo largo de las últimas décadas, especialmente

desde la adhesión de España a la UE. Este proceso, que también pasó o está pasando en otros países europeos, está siendo dramáticamente intenso en España, donde el sector lácteo se ve acosado por la necesidad urgente de ser competitivo. A nivel de explotación, como ya se ha comentado, es la única manera de lograr economías de escala y así ser competitivos en un futuro mercado europeo sin cuotas. Por lo tanto, este proceso de reestructuración se ha convertido en una especie de “selección natural” con "la supervivencia del más apto" aplicada a las explotaciones lecheras que ha afectado especialmente a las fincas más pequeñas en las zonas rurales con tradición de producción de leche.

La Tabla 8 nos puede ayudar a entender el nivel de supervivencia de las explotaciones lecheras españolas en los últimos años en relación con el tamaño de la cuota de leche.

Quota in tonnes	1994	1995	2000	2005	2007	2008	2009	2010	2011
Under 25	86.721	73.674	20.290	8.968	8.003	2.948	2.371	2.613	2.782
25 – 50	23.959	21.846	12.223	8.604	3.510	2.946	2.561	2.438	2.374
50 – 75	10.740	10.357	7.578	3.940	2.925	2.570	2.350	2.170	2.035
75 – 200	12.753	14.671	14.452	11.623	9.139	8.565	8.083	7.267	6.694
200 - 300	1.488	1.997	2.899	3.620	3.539	3.482	3.358	3.109	2.792
Over 300	1.660	1.971	2.827	4.925	5.500	5.721	5.592	5.784	6.093
Total	137.321	124.516	60.269	33.680	28.616	26.232	24.315	23.379	22.770

Tabla 8. Número de explotaciones lecheras por el tamaño de la cuota (Cooperativas Agro-alimentarias de España 2011b; Arce, 2014)

El número de granjas de color rojo indica los niveles negativos de supervivencia de las empresas, en los últimos años, referidas a la cuota, mientras que el color verde indica niveles positivos de la supervivencia del negocio.

Como se puede ver, sólo las explotaciones de cuota de más de 300 toneladas de leche tienen un nivel positivo de supervivencia del negocio en toda la serie de años, en el marco de una disminución aguda del número total de explotaciones lecheras. Mientras que el número total de explotaciones lecheras ha disminuido 83,42% desde el año 1994, el número de granjas lecheras con más de 300 toneladas de la cuota de leche por año se ha incrementado un 267% en el mismo período.

do. Aun así, debemos señalar que el umbral de supervivencia de las explotaciones lecheras españolas, más de 300 toneladas de leche por explotación, es muy bajo en comparación con los mismos datos para otras granjas lecheras europeas, por ejemplo en las granjas danesas el umbral estaría en más de 2.000 toneladas de leche por explotación (Danish Agriculture & Food Council, 2013).

Por lo tanto, podemos ver la dirección que el sector lácteo español está tomando en este sentido: las granjas lecheras cada vez más grandes con cada vez mayor capacidad, pero con estructuras y tamaños muy lejos de los datos de otros países principales en el sector lácteo.

Aunque puede resultar un poco confuso debido a la gran cantidad de líneas, la Figura 24 nos puede ayudar a obtener una mejor visión de conjunto de esta tendencia.

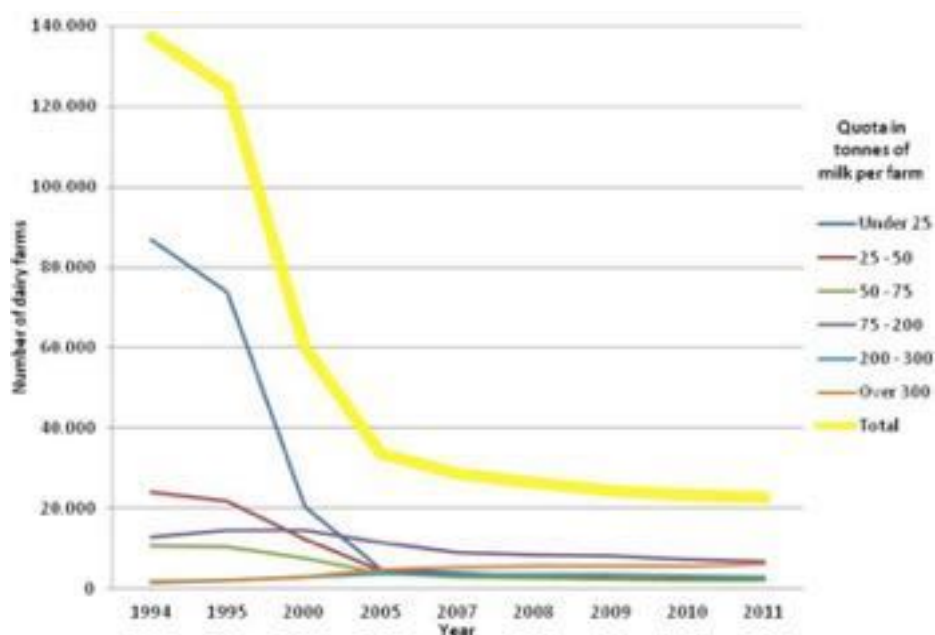


Figura 24. Número de explotaciones lecheras por el tamaño de la cuota (Datos: Cooperativas Agro-alimentarias de España, 2011b; Arce, 2014)

También es muy clarificador ver la evolución del tamaño de las explotaciones en España, en relación con las Comunidades Autónomas y cómo se ha ido reordenando/reconvirtiendo el sector para ajustarse a cuotas. La política del sector lácteo, en muchos casos, fue diseñada con un punto de vista cortoplacista, obviando lo que estaba ocurriendo en el resto de Europa.

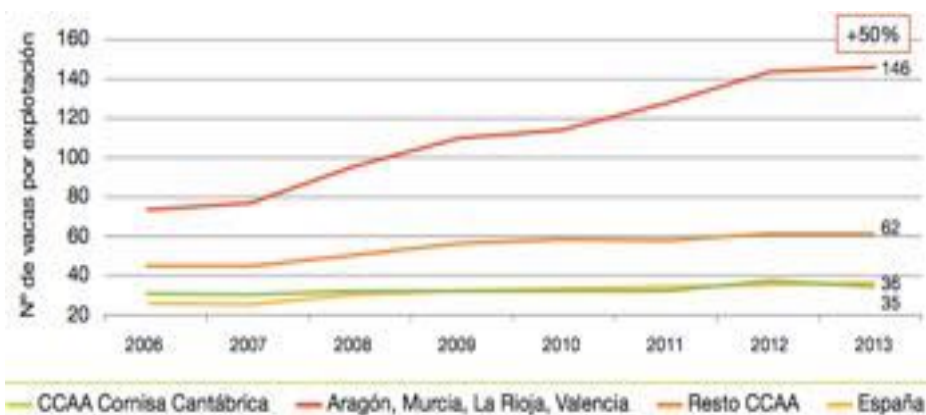


Figura 25. Evolución del tamaño de las explotaciones en España en relación con las CCAA.

(Datos: MAGRAMA desde Cooperativas Agro-alimentarias de España 2016)

Las explotaciones lácteas de la cornisa cantábrica, pertenecen a zonas rurales con una tradición bien arraigada de producción tradicional de leche, por tanto apenas han sufrido variación a lo largo del tiempo.

Tras tantos años de reajuste, se ha conseguido aproximar el sector al europeo, pero haciendo un largo trayecto en el que muchas explotaciones han desaparecido, algunas de las cuales eran perfectamente viables a medio plazo, y otras se tuvieron que endeudar para continuar produciendo.

2.5.6. Relaciones Internacionales, Exportaciones e Importaciones

Las relaciones internacionales en el sector lácteo español estaban fuertemente condicionadas por la cuota láctea asignada por la Comisión Europea para España. El sistema de cuotas lecheras ha condicionado la estructura y el desarrollo natural del sector, como lo hizo también con la estructura y el funcionamiento de las empresas de productos lácteos.

El déficit estructural de la cuota láctea supuso que la producción nacional de leche cruda sólo cubriera aproximadamente dos tercios de las necesidades de consumo de productos lácteos (INLAC, 2011), por lo que España se vio obligada a importar casi un tercio del consumo total (30%). Por otro lado, las exportaciones de productos lácteos se han visto reducidas a lo largo de los años, y suponen una cantidad menor de un millón de toneladas de leche equivalente (INLAC, 2011).

Las estadísticas del comercio internacional confirman la tendencia de un aumento del déficit comercial de los productos lácteos.

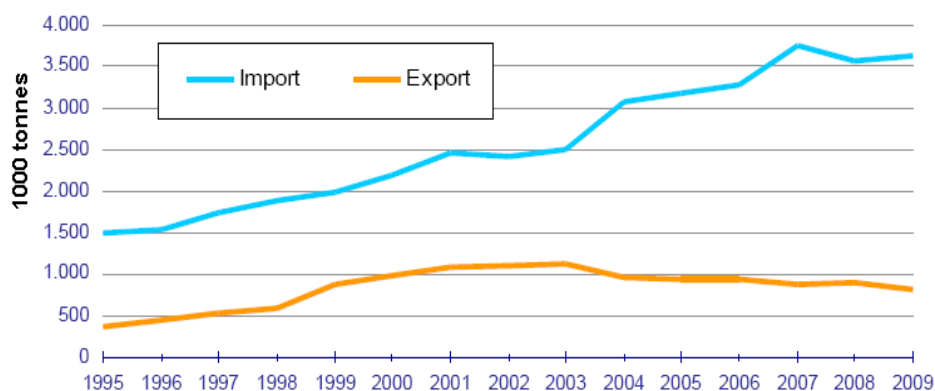


Figura 26. Evolución de las exportaciones/importaciones del sector lácteo español, en miles de toneladas de leche-equivalente (INLAC, 2011)

Como puede observarse en la Figura 26, este déficit comercial es el resultado del aumento de las importaciones, mientras que las exportaciones se han mantenido o incluso disminuido. Hay importaciones no sólo de leche cruda (en tanques, en polvo o concentrados) para cubrir las necesidades de una industria láctea nacional con insuficiente cuota láctea (9% del total de la leche procesada por la industria viene de fuera), sino también las importaciones de productos elaborados. Los principales productos lácteos importados se muestran en la Figura 27.

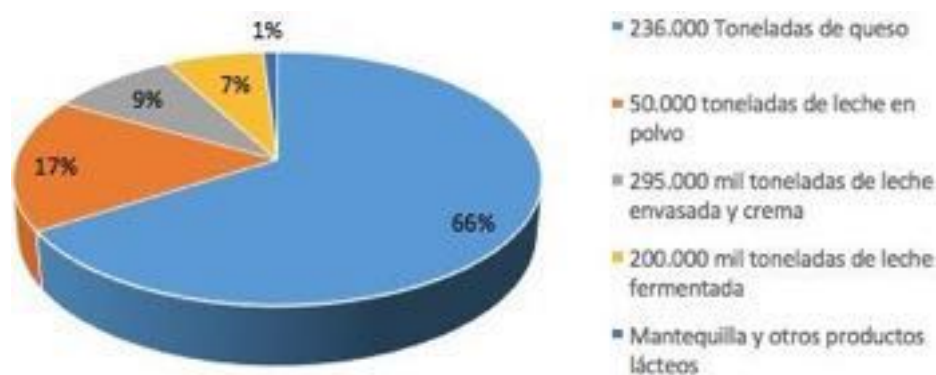


Figura 27. Las importaciones de productos lácteos con exclusión de la leche cruda y la nata en polvo y leche concentrada por la industria; con respecto al total en miles de toneladas de leche-equivalente (Datos: INLAC, 2011; Elaboración propia)

Los principales productos elaborados importados son quesos, lo que representa dos tercios de un total, mientras que la leche en polvo alrededor del 17%. La leche envasada y crema, leches fermentadas y, especialmente, mantequilla y otros productos lácteos se importan en

cantidades inferiores. Por lo tanto, es importante ver la evolución de las importaciones de estos productos importados (Figura 28).

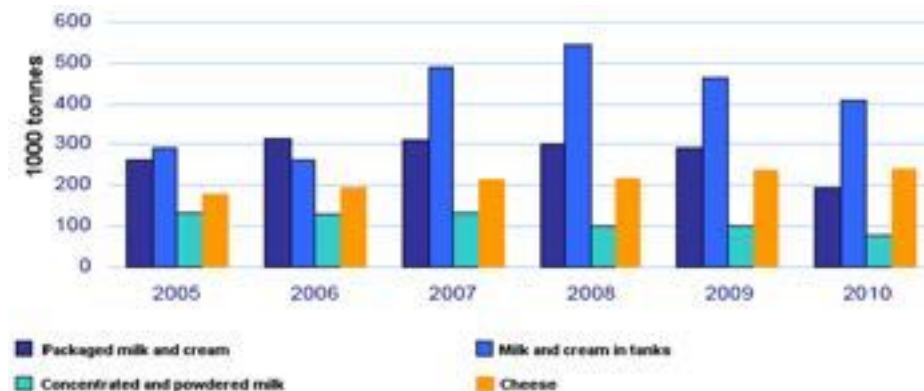


Figura 28. Evolución de las importaciones de algunos productos lácteos (INLAC, 2011)

Hubo una tendencia creciente en las importaciones de leche y crema en tanques hasta 2008, pero parece que la tendencia es decreciente en los años siguientes. Entre otros productos, el queso debe una mención por el aumento constante de su importación de año en año.

La Figura 29, muestra la procedencia de estas importaciones.

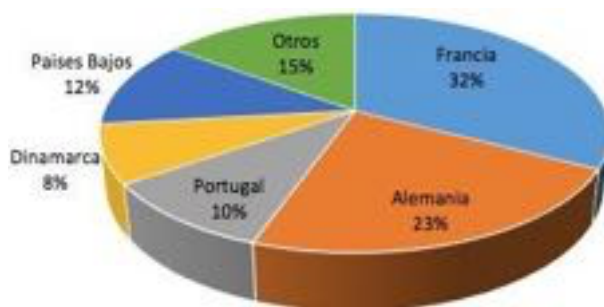


Figura 29. Origen de las importaciones de leche y productos lácteos; % De leche-equivalente en 2009 (INLAC, 2011)

Como puede verse en la Figura 29, Francia es el país de origen principal de las importaciones de productos lácteos en España. En cuanto a los productos de Francia (dos tercios del total) y de Portugal (un tercio) proceden de los tanques de leche cruda (INLAC, 2011) para el suministro de la industria, mientras que Alemania, Países Bajos y Dinamarca exportan a España queso y otros productos lácteos (El País, 2013a).

PRODUCTO	2009	2010	2011	2012*
Exportaciones				
LECHE FRESCA	161,5	162,4	164,5	226
LECHE EN POLVO	33	30,4	40,1	52
YOGUR	55,9	59	66,6	82,8
QUESOS	38,1	46,5	46,7	55,7
Importaciones				
LECHE FRESCA	756	600	502,4	500
LECHE EN POLVO	48	45	98	84
YOGUR	175	177	228,7	233,4
QUESOS	236	240	266,5	250

Figura 30a. Comercio exterior español de leche y productos lácteos en miles de toneladas.

(Datos: Departamento de Aduanas, Elaboración Mercasa, 2013 y propia)

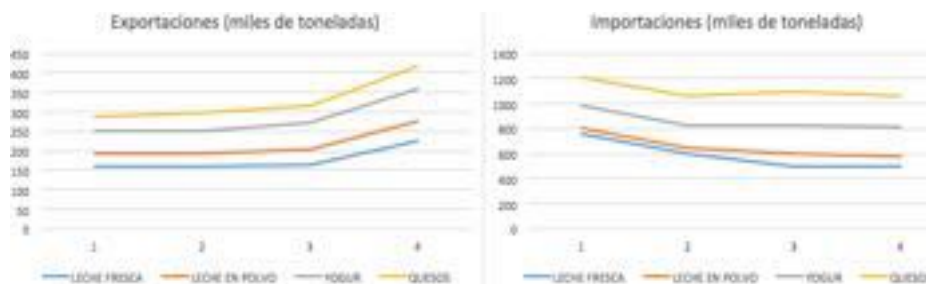


Figura 30b. Comercio exterior español de leche y productos lácteos en miles de toneladas.

(Datos: Departamento de Aduanas, Elaboración Mercasa, 2013 y propia)

Sin embargo en los últimos años, en el periodo justo anterior a la eliminación de las cuotas lácteas, según los datos del Departamento de Aduanas, se aprecia una tendencia creciente en las exportaciones de productos lácteos, a diferencia de las importaciones.

3. RESULTADO, DISCUSIÓN CRÍTICA Y CONCLUSIONES

3.1. Resultado

Los análisis expuestos con anterioridad permiten apuntar unos resultados que sirvan de base para una discusión y propuesta de soluciones viables.

Para ofrecer de forma sistemática los resultados obtenidos utilizaremos los criterios de la matriz DAFO (Debilidades, Amenazas, For-

talezas y Oportunidades) y la matriz de la metodología GLOCAL presentada en este trabajo.

3.1.1. Matriz "DAFO" del sector lácteo español

Después de la descripción detallada del sector lácteo español llevada a cabo, la Matriz "DAFO" es la herramienta ideal para resumir su situación y perspectivas, y para remarcar las ideas clave.

Fortalezas

- Granjas lecheras cada vez más modernas y con mejores tamaños gracias a los procesos de reestructuración.
- La mayoría de las compañías lecheras tienen el tamaño adecuado, una buena posición en el mercado, buenos gestores y niveles adecuados de innovación.
- Muchos de los productos lácteos (quesos) con Denominación de Origen Protegida (DOP), que es la mejor herramienta para dar valor a la producción de leche en las zonas rurales.
- Aumento del número de productores de leche que suministran leche bajo contrato aprobado.

Debilidades

- Atomización general del sector, especialmente a nivel de producción. Esto no permite economías de escala, por lo que los costes de producción son altos y por lo tanto falta de competitividad.
- Atomización de las cooperativas y ausencia de un grupo cooperativo grande.

Baja cuota de mercado de las cooperativas en general. Aún menor participación en el mercado cooperativo entre las cooperativas que integran las actividades de procesamiento.
- Falta de capital en las cooperativas lecheras.
- Falta de organización apropiada por parte de los productores de leche. Sin cohesión a nivel nacional. Tradicional falta de una acción conjunta de los profesionales del sector lácteo.
- Cadena de valor compleja y no muy eficiente, con muchas partes interesadas e intermediarios.

- Desequilibrios en el poder de negociación en la cadena de valor que puede conducir a problemas de abuso de posición dominante.
- Falta de transparencia en el sector.
- Alta logística y coste de recogida de leche.
- Falta de estrategias adecuadas de comercialización.
- La industria de lácteos debe centrarse más en productos de alto valor añadido y reducir la fuerte dependencia clásica de leche líquida, que tienen estrechos márgenes de beneficio y, por tanto, un valor añadido reducido.
- Gestión deficiente en muchas empresas, especialmente en las cooperativas.
- Bajo nivel de integración vertical entre los productores y la industria
- Alta edad media entre los empresarios y los productores de leche.
- Bajo nivel de formación y capacitación técnica para los ganaderos y para el gestor de empresas de productos lácteos, especialmente en las cooperativas.
- Estructura y desarrollo natural del sector deficiente, altamente condicionado por el sistema de cuotas lácteas que existieron en la PAC, lo que obligaba a las importaciones para cubrir las necesidades de consumo.
- Internacionalización deficiente y bajo nivel de las exportaciones.

Oportunidades

- Tras la abolición de las cuotas lecheras, existe la posibilidad de aumentar la producción nacional de leche cruda para abastecer a la industria láctea y de ese modo cubrir las necesidades nacionales de consumo.
- Margen para continuar con el proceso de reestructuración y concentración de la oferta, la aplicación de economías de escala con el fin de reducir costes y mejorar la eficiencia económica.
- Oportunidad en la promoción y mejora de las cooperativas y organizaciones de productores y su papel en la cadena de valor.

- Oportunidad de internacionalización y exportación.
- El apoyo a las Denominaciones de Origen Protegidas (DOP).
- Oportunidad de aumentar las inversiones en innovación, investigación y desarrollo.
- Oportunidad de generar alianzas.
- Profesionalizar el sector para que resulte atractivo a los futuros jóvenes productores.
- Diversificación hacia productos de mayor valor añadido.
- Diversificación de mercados
- Mejora de las estrategias de marketing y promoción.

Amenazas

- La crisis económica
- La crisis alimentaria y la volatilidad de los precios.
- Altos precios de las materias de alimentación, como cereales y soja.
- Mejora de la seguridad alimentaria y los requisitos ambientales.
- El relevo generacional en las explotaciones lecheras familiares y pequeñas empresas.
- Aumento de las importaciones de leche cruda y productos lácteos elaborados con los excedentes de los países europeos, lo que podría suponer una amenaza para el sector lácteo nacional.
- Escándalos de consumo.
- “Guerras comerciales”, debido a problemas diplomáticos.
- Preferencias de los consumidores que mudan de opinión frecuentemente.
- Competencia desleal de los países emergentes con menores costes de producción, "dumping".
- “Guerra comercial” en con tra de los minoristas. El mercado cada día esta más globalizado, y al tener los minoristas más poder de mercado existe una demanda de más productos de marca privada.

3.1.2. Matriz GLOCAL

La Matriz GLOCAL resulta de gran utilidad para dar una visión global del sector, intentando no dejar ningún tema importante por tratar, para tener toda la información y poder sacar conclusiones más cercanas a la realidad del sector.

Matriz GLOCAL de la CV Láctea			
	Estructura	Conducta	Funcionamiento
Flujo de bienes y servicios. Logística	M11	M12	M13
Flujo de información	M21	M22	M23
Flujo económico financiero	M31	M32	M33

Tabla 9. Matriz GLOCAL de la CV Láctea (Elaboración propia)

- *Flujo bienes y servicios (Logística) = Estructura (M11)*: ha sido estudiado el desarrollo de la estructura del sector con los distintos eslabones, el grado de concentración empresarial del sector así como las empresas que lo forman, las barreras tanto de entrada como de salida, los distintos canales comerciales que existen y la diferenciación del producto.
- *Flujo bienes y servicios = Conducta (M12)*: se ha tratado el comportamiento de los actores de la cadena, y el poder negociador de los eslabones destacando el importante poder de los minoristas, las preferencias del consumidor, y el papel de la PAC y otras instituciones.
- *Flujo bienes y servicios = Funcionamiento (M13)*: se ha incluido la importancia de la innovación y formación de alianzas como puntos fuertes para mejorar la capacidad de adaptación del sector y los conflictos que pueden surgir entre los actores que dificultan la sostenibilidad del sector.
- *Flujo información = Estructura (M21)*: se ha mencionado la importancia de la trazabilidad de los productos y el etiquetado para una mayor organización, así como la importancia de formar cooperativas y asociaciones para un mayor flujo de información.
- *Flujo información = Conducta (M22)*: fundamentalmente se ha hablado de lo relevante que es para el consumidor el tener acceso libre de toda la información para poder tomar sus decisiones de compra y las distintas formas de venta.

- *Flujo información = Funcionamiento (M23)*: se ha destacado la importancia de que exista una transparencia en el sector, tanto vertical como horizontal, y el papel fundamental que juega la confianza entre los eslabones de la cadena, así como los riesgos que se pueden sufrir por un mal uso de la transmisión de información.
- *Flujo económico financiero = Estructura (M31)*: se ha tratado la deficiencia que existe en la gestión económica de las explotaciones y las repercusiones que han tenido las cuotas lácteas a lo largo de la historia influyendo en las explotaciones que existen hoy en día.
- *Flujo económico financiero = Conducta (M32)*: se ha incluido temas de inestabilidad del mercado por la desaparición de las cuotas, evolución y tendencia de los precios, practicas abusivas o desleales por parte de algunas empresas usando bajos precios como producto reclamo, y los márgenes comerciales y la transmisión de precios.
- *Flujo económico financiero – Funcionamiento (M33)*: han sido analizados los costes de producción y el nivel de supervivencia del negocio, la dependencia de las ayudas y las facilidades financieras que aportan el formar cooperativas, así como las relaciones internacionales.

3.2. Discusión

Una asignatura pendiente viene siendo la internacionalización del sector, con vistas a mercados exteriores, cuando en nuestro mercado nos encontramos con situaciones de excedentes, obligando al cierre de muchas empresas tanto ganaderas como industriales. Para ello tenemos que identificar cuales son los productos factibles de exportación y sus cadenas de valor para salir a los mercados exteriores. El subsector de queso viene teniendo mucha acogida. La leche en polvo y la mantequilla operando a precios internacionales, han permitido a empresas como el Grupo de Industrias Lácteas Asturiana realizar operaciones exitosas de exportación.

La cadena de valor exportadora implica un alargamiento geográfico y generalmente incorporar nuevos agentes comerciales, lo que supone una mayor complejidad, coste y riesgo. Sin embargo hay que admitir que hay países (Nueva Zelanda, Holanda, Dinamarca, entre otros) donde el comercio exterior se configura como una estrategia recomendable.

3.2.1. Modelos internacionales: Cooperativismo y marco legal

En los países desarrollados con una economía orientada al mercado global, empresas internacionales y legislaciones modernas, como es el caso de EEUU y Nueva Zelanda, podría llegarse a la conclusión de que el grado de desarrollo del sector agrario y agroalimentario se debe principalmente al desarrollo e implantación del cooperativismo.

Las cooperativas se caracterizan por su estrecha vinculación al territorio y su compromiso con el medio rural que las vio nacer (Noche, 2013), lo que no significa que no puedan desenvolverse con gran eficiencia en un mercado cada día más abierto, complejo y altamente competitivo. Para poder hacer frente a este mercado, deben moverse, buscar estrategias y poner en marcha iniciativas ambiciosas y de expansión así como adaptar sus modelos de negocio ya no solo a los socios de las cooperativas sino al territorio donde están implantadas.

Las cooperativas de mayor dimensión, lejos de quedarse ancladas están dando muestras de una enorme capacidad de adaptación, ya que son el resultado de fusiones, alianzas y nuevas adquisiciones. Las alianzas intercontinentales ponen de manifiesto que estamos ante un mercado global que requiere estrategias que también lo sean (Noche, 2013).

Estas cooperativas no temen a sus competidores, en muchos casos multinacionales privadas y en otros casos también cooperativas, que pasan de competir a ser aliados en el desarrollo de una determinada estrategia empresarial, siendo conscientes de que esto se consigue con confianza, transparencia y visión compartida.

Por otro lado existen diferentes estrategias reflejadas en las estructuras legales a nivel internacional que podrían servir de ejemplo o direccionar el sector lácteo español hacia la postura que se considere más adecuada o que mejor se ajuste a sus necesidades.

a) Estados Unidos

Estados Unidos es el país con el PIB más elevado del mundo, 16,17 billones de euros, según datos macro del 2015. Este país tiene una Superficie Agraria Útil (SAU) de más de 373 millones de hectáreas y 2 millones de explotaciones. Pero tal vez lo más importante es que es que la superficie media por explotación es de 181 ha, frente a las 12,6

ha de media que tiene la UE-27 (Noche, 2013). Lo que da idea de la diferencia estructural que hay entre la Unión Europea y los Estados Unidos siendo las explotaciones de EEUU considerablemente mayores a las europeas no significando que los productores no tengan necesidad de integrarse en cooperativas.

La industria láctea de Estados Unidos es la sexta más grande del mundo en términos de producción de leche y en 2010 representaba más de una décima parte de la producción mundial total de leche, según La Unión Internacional de Trabajadores de la Alimentación, Agrícolas, Hoteles, Restaurantes, Tabaco y Afines (UITA). Cuenta con un total de 47.000 granjas lecheras, aproximadamente, de las cuales el 97% de las explotaciones lecheras son propiedad y operación familiar (Cordero, 2014). El 86% de las granjas lecheras tienen menos de 200 vacas, pero son las granjas con más de 100 vacas las que producen el 86% de la leche (Cordero, 2014).

En los últimos años, ha atravesado importantes cambios estructurales, se ha reducido el número de granjas lecheras (648.000 unidades en 1970 y menos de 46.960 en 2013) a la par que ha aumentado el número de explotaciones por granja, siendo la media de 193 vacas por explotación en el 2013 en comparación con fincas de 20 vacas de media en el año 1970 (Cordero, 2014). Sin embargo los datos generales muestran que el número de vacas ha disminuido en el país (12.5 millones de vacas en 1970 vs. 9.2 millones en 2013), probando que la productividad de las vacas ha ido aumentando reflejando eficiencia y sostenibilidad (4.400 kg en 1970 en comparación con 9.900 kg en 2013) (Cordero, 2014).



Figura 31. Producción de Leche en Estados Unidos (1970-2010).
(USDA, Progressive Dairyemen desde Cordero, 2014)

En la década de 1930 se desarrolló en Estados Unidos una política activa de productos agrícolas en respuesta a las condiciones económicas de la Gran Depresión. Los principales programas de las materias primas para los granos, algodón, azúcar, tabaco y productos lácteos que están en vigor hoy en día tienen su origen en aquellos programas que comenzaron hace más de 60 años (Sumner, 2002).

El gobierno federal y varios gobiernos de los estados subsidian la producción de leche y regulan los precios de los lácteos. Estos programas estimulan el aumento de producción de leche, elevan el precio de la leche líquida, y direccionan los ingresos desde los contribuyentes y consumidores a la industria láctea. Investigaciones económicas han documentado que lo que pagan los consumidores es significativamente mayor que las ganancias de los productores. Los mayores efectos son a través de las barreras a la importación que mantienen los precios de los lácteos estadounidenses mayores de lo que serían de otra manera (Sumner, 2002).

La política lechera en los Estados Unidos está compuesta por los siguientes componentes principales:

- Medidas fronterizas que crean barreras a la importación para la mayoría de los productos lácteos y subsidios a la exportación de algunos productos lácteos elaborados y
- Órdenes de comercialización federales y estatales que regulan los precios de la leche cruda (*Federal Milk Orders* – FMMOs que serán comentados más adelante) y
- Compras gubernamentales de productos lácteos manufacturados para apoyar el precio de la leche de granja. (Sumner, 2002).

Los gobiernos federales y estatales también tienen normas de seguridad alimentaria y de saneamiento desde hace tiempo para la leche y los productos lácteos. Además, existen multitud de regulaciones o incentivos ambientales, de ordenamiento territorial, de trabajo, entre otros, que influyen en la industria láctea (Sumner, 2002).

Para continuar siendo competitiva, la industria lechera estadounidense necesita centrarse en evaluar y responder a las cambiantes tendencias en la oferta y la demanda (UITA). Por otro lado, las empresas multinacionales invierten en el mercado de Estados Unidos y se asocian con empresas estadounidenses debido al enorme tamaño y a la oferta constante y confiable de leche cruda, así como el dinamismo de la de-

manda de los consumidores del país. Además, las políticas de inversión extranjera de Estados Unidos son consideradas más liberales que las de otros mercados desarrollados (UITA).

Las cooperativas lecheras también son unas de las protagonistas de la industria lechera estadounidense y, como grupo, representan el sector más prominente de todos los sectores de mercado agrícola cooperativo. En 1980 nace el Derecho de Competencia en los Estados Unidos con el fin de evitar prácticas monopolísticas y mejorar la competencia de los mercados, pero se considera que podría suponer una amenaza para la organización de productores que pretenden buscar con la unión un mejor posicionamiento del mercado. Tras varios intentos de enmendar la ley sin mucho éxito, en 1922 se aprueba exentando a las cooperativas de aplicar el Derecho de Competencia. En 1926 se impulsa el desarrollo de las cooperativas gracias a la “Co-operative Marketing Act” para permitir una mejora en la competitividad de los productores norteamericanos.

A lo largo de los años se han puesto en práctica numerosas políticas y actuaciones en favor de las cooperativas agrarias pero la clave de su desarrollo ha sido el acceso a capital externo en la legislación norteamericana lo que permite, no solo la incorporación de socios no productores que solo aportan capital, sino que los socios productores puedan venderlo a precio de mercado, de tal forma que pueden obtener una plusvalía, incentivándose con ello su predisposición a capitalizar la cooperativa (Noche 2013).

En la actualidad, el país cuenta con un gran número de cooperativas agrarias que han sabido compatibilizar su arraigo y compromiso con los productores y el medio rural con sus estrategias de mercado y la mejora permanente de su dimensión. De sus cinco cooperativas de mayor facturación, 2 están destinadas al sector lácteo (Noche 2013).

- ***Dairy Farmers of America***: Es una cooperativa lechera que en 2010 facturó 9.300 millones de euros, cifra que la situó en la sexta posición en el ranking mundial. Agrupa a 13.000 ganaderos de 48 estados diferentes, con socios que poseen explotaciones que van de 50 vacas en Pensilvania a más de 3.000 en California. En el 2013 contaban con 4.000 asalariados. No solo se dedican a la transformación de la leche en todo tipo de productos lácteos dirigidos al consumidor final y que comercializan con sus propias marcas (Borden Cheese y Kelle s Creamery), sino que también se han especializado

en la elaboración de ingredientes alimentarios. Han desarrollado además una intensa actividad inversora creando Joint Ventures con otras empresas y alianzas con sus clientes, tanto nacionales como internacionales (Noche2013).

- **Land O'Lakes:** Es una cooperativa polivalente con una facturación de 9.200 millones de euros (séptima del ranking mundial). Fundada en 1921 agrupa a 1.000 cooperativas que integran a más de 300.000 asociados y cuenta con 9.000 empleados. Elaboran leche y productos lácteos, estando presentes en 50 estados y en más de 50 países. La marca Land O Lakes es la primera marca de mantequilla y queso y gracias a su prestigio han cedido la licencia de uso a varias empresas para que comercialicen productos lácteos de primera calidad utilizando su marca. Además, elaboran multitud de postres con la marca Kozy Shack y son copropietarios de Purina Animal Nutrition. Poseen también WinField, empresa dedicada a la distribución de semillas y fitosanitarios. Al mismo tiempo, ofrece multitud de servicios a los productores asociados y cuentan con Business Development Services, empresa dedicada a la consultoría (Noche 2013).

En el marco legal, en Estados Unidos existe un mecanismo conocido como **Órdenes federales del mercado de leche (Federal Milk Orders - FMMOs)** donde se establecen determinadas disposiciones en las que los procesadores de lácteos compran la leche fresca de los productores de leche que suministran un área de mercado. La región de mercado se define generalmente como un área geográfica en la que los manipuladores compiten por las ventas de leche líquida envasada, aunque pueden tenerse en cuenta otros factores al determinar los límites de un área de mercado (USDA 2016a). Las regiones de EEUU donde existen FMMOs son: Noreste, Medio Oeste, Centro-Oeste Norte, Noroeste Pacífico, Arizona, Central, Suroeste, Sureste, Appalachian y Florida.

Estas órdenes federales sirven para mantener relaciones estables de comercialización para todos los gestores y productores que abastecen estas áreas de mercado, facilitando de este modo el complejo proceso de comercialización de la leche fresca (USDA 2016a).

El objetivo es garantizar a los productores un precio mínimo razonable por su leche a lo largo del año y a los consumidores una oferta adecuada de leche para cumplir con sus necesidades, previniendo fuertes fluctuaciones de precios durante períodos de mayor o menor producción.

La ley de Acuerdos de Mercado Agrícola autoriza los FMMOs y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) los modifica y los establece por medio de un proceso de consultas que es supervisado por el Secretario de Agricultura. El proceso de consulta permite que la industria láctea presente propuestas y evidencias de apoyo al establecimiento de disposiciones y modificaciones de las provisiones de órdenes federales. Este proceso permite que las provisiones de órdenes federales hagan frente a las necesidades cambiantes de la industria láctea. El establecimiento y la modificación de una orden federal solo entra en vigor tras su aprobación por los productores a través de un proceso de referéndum (USDA 2016a).



Figura 32. Proceso de enmiendas de una Orden Federal de Mercado de Leche (*Federal Milk Order*). (Datos USDA 2016b; elaboración propia)

La anterior figura ilustra el proceso de proposición e implementación de enmiendas de una Orden Federal de Mercado de la Leche.

En general, el sistema lácteo implantado en Estados Unidos ha sido un modelo que ha levantado interés de otros países especializados en el sector.

En 2014, España propuso a la Comisión Europea que estudiara implantar en la UE un sistema de márgenes de beneficio similar al establecido en la nueva “*Farm Bill*” (ley agraria) de Estados Unidos, según el diario La Nueva España. Este, es un nuevo sistema de regulación para el sector lácteo llamado *Dairy Margin Protection Program*, que se basa en un sistema de seguros sobre márgenes del precio de la leche. A cada productor se le asigna una cantidad de referencia (“historia productiva”), que será la cantidad máxima de leche cuyos márgenes estarán protegidos con el programa, de modo que, si el precio de la leche cae por debajo de un nivel determinado, se ponga en marcha un mecanismo compensatorio.

b) Nueva Zelanda

Es un país muy dependiente de la actividad agraria que representa el 4 % de su PIB y un 7 % de su población activa (Noche 2013). También tiene una densidad demográfica de 16 personas por km². El valor de sus exportaciones agroalimentarias supone el 52 % del valor total de sus exportaciones, lo cual da una idea de la importancia del sector en su economía (Noche, 2013) y solo el sector lácteo supone el 27 %, considerando la industria láctea como la fuente más grande de ingresos provenientes de las exportaciones de Nueva Zelanda (Gerald, 2008).

Su cuota en el mercado mundial de leche y productos lácteos es de un 33%.

Las políticas desarrolladas en Nueva Zelanda están dirigidas a la mejora de la competitividad, y no tanto a la defensa de las rentas, a través de mecanismos de carácter intervencionista. Así, en 1980 se eliminaron totalmente las ayudas a las exportación y el apoyo a los precios, por lo que diversos autores consideran a Nueva Zelanda el único país de la OCDE donde el sector agrario se encuentra totalmente liberalizado y expuesto al mercado, sin subsidios ni tasas que limiten las importaciones (Noche, 2013). Para ello fue necesario realizar profundas reformas estructurales, las cuales tuvieron como objeto el fortalecimiento de la economía para hacerla más competitiva en la producción de bienes y servicios ante los mercados externos, y de esta forma, obtener beneficios a través del comercio exterior.

La clave del éxito del sector ha sido un eficiente sistema de agricultura basado en el manejo de praderas, maquinarias procesadoras de gran escala e importantes inversiones en investigación y desarrollo, además de un eficiente y creativo programa de marketing (Gerald, 2008). Por otro lado la industria ha sido exitosa en la diversificación tanto del número de mercados a los que exporta, como de sus productos (desde productos básicos de alta calidad, a productos sofisticados). Nueva Zelanda esta invirtiendo fuertemente para abastecer las nuevas tendencias como productos bajos en calorías, altos en calcio, con proteína de leche y de productos biomédicos (Gerald, 2008).

La única intervención del gobierno se llevaba a cabo a través del Consejo Lechero de Nueva Zelanda (*New Zealand Dairy Board* (NZDB)) siendo este organismo legal, el único exportador de productos lácteos hasta su abolición en el 2001. El consejo lechero compraba a las

cooperativas productos de exportación haciéndose responsable del transporte y la comercialización en el mercado internacional. Mientras, las cooperativas eran consideradas como entidades comerciales independientes con poder para tomar sus propias decisiones de producción y fabricación.

En el 2008, Nueva Zelanda controlaba el 35% del comercio mundial en productos lácteos, y aproximadamente el 95% de la producción de leche de Nueva Zelanda estaba manejado por el Grupo Cooperativo Fonterra Ltd. Fonterra fue formada en el 2001 siguiendo las reformas de la industria y los cambios legislativos, mediante la fusión de las dos empresas más grandes de leche y el Consejo Lechero de Nueva Zelanda (NZDB). El objetivo principal de esta fusión fue unir a la industria y proporcionar un núcleo crítico y eficaz para competir exitosamente a nivel internacional (Gerald, 2008).

- **Fonterra.** Cooperativa láctea líder en el mercado mundial de productos lácteos y que agrupa al 96 % de los productores y al 99 % de la producción lechera neozelandesa. Realiza un 50% de la facturación total de las cooperativas neozelandesas. Está presente en 140 países y su facturación es de 11.300 millones de euros (Noche, 2013), lo que la sitúa en el tercer puesto del ranking mundial de las cooperativas agroalimentarias, representando el 10% del PIB neozelandés y el 20% de los ingresos procedentes de las exportaciones de este país (Noche, 2013).

La historia de Fonterra está intrínsecamente ligada a la del país. Surge hace más de 140 años siendo una historia de superación donde sus ganaderos supieron ver que su desarrollo estaba en la exportación y en una adaptación constante a la evolución del mercado.

Su eslogan, *Delivering dairy nutrition to the world*, muestra bien su clara orientación estratégica hacia mercados emergentes, desarrollando alianzas con distintos grupos o empresas de los diferentes continentes:

- En 2001 crearon una alianza con *Dairy Farmers of America* que tiene por objeto aprovechar el crecimiento de la demanda en el mercado mundial de leche desnatada en polvo.
- En 2003 firmaron una alianza con Nestlé y crearon *Dairy Partners Americas* (DPA) para producir ingredientes lácteos y productos para alimentación infantil en Latinoamérica.

- En 2005 sellaron también una alianza estratégica con Clover, la primera industria láctea surafricana, que utilizan para abastecer de ingredientes lácteos el mercado de África Subsahariana.
- En Europa han firmado también alianzas con la cooperativa holandesa Friesland Campina, creando DEPHARMA en 2006, empresa líder mundial en excipientes lácteos.
- En 2011 han establecido una alianza estratégica con la cooperativa neozelandesa Silver Fern, creando KOTAHI, empresa dedicada a los fletes y que pretende desarrollar de forma eficiente la logística que exige un mercado global.

Las dos grandes empresas lácteas neozelandesas, Westland Cooperativa y Tatura Cooperativa Ltd, que decidieron no unirse a Fonterra continúan actualmente en operación y exportan a un número importante de mercados. Además, existe un número creciente de empresas y cooperativas lecheras independientes que están en proceso de formación (Gerald, 2008).

Nueva Zelanda cuenta con una visión de asociación y cooperativismo muy arraigado, considerándose uno de los países donde las cooperativas están más desarrolladas e implantadas: más del 40% de la población adulta es socio de una cooperativa o de una mutua y el 22% del PIB (24.000 millones de euros) lo generan las empresas cooperativas (Noche, 2013).

3.2.2. *Perspectivas para el futuro del sector lácteo*

A partir del informe de la Conferencia del Sector de Lácteos *The EU Dairy Sector: Developing Beyond 2015*, se puede comprender la visión que tienen los representantes de los principales actores del sector lácteo en relación al futuro.

La nueva política del sector lácteo de la UE presenta algunos elementos a corto y medio plazo:

- En temas de transparencia de la cadena, se considera positiva la creación de un observatorio del mercado de leche, con la misión de recolectar datos, analizar el mercado y diseminar información. Eso puede apoyar el monitoreo de precios y la gestión de crisis.
- Entre las muchas medidas que se proponen están la Red de seguridad, medidas anticrisis, flexibilidad de los pagos acoplados para si-

tuciones de vulnerabilidad o el papel vital de las medidas aplicadas a través del Desarrollo Rural.

- También en ese sentido, se propuso el etiquetado obligatorio de los productos para conocer su procedencia, entre otras informaciones y controlar la producción de cada región.
- El paquete lácteo (reforzar el poder de negociación, con la posibilidad como ocurre en España de hacer obligatorios los contratos de entrega).
- Esa transparencia, aliada a mecanismos de acceso al mercado, puede ser una de las claves para que el sector sea más atractivo a los jóvenes, que en general han perdido el interés en esa actividad económica. El futuro del sector depende de los jóvenes, y mejorar la eficiencia y la rentabilidad de los negocios es una estrategia que puede aumentar su interés.

Acerca de la gestión de riesgos, se buscan herramientas capaces de aumentar la protección a los productores, dado que no todos los expertos consideran que las medidas de la PAC sean suficiente. Se buscan respuestas más rápidas para la volatilidad, pero hay que saber diferenciar la volatilidad potencialmente negativa de la volatilidad referente a cambios moderados en los precios, que es parte normal del funcionamiento del mercado.

Entre las herramientas que propone la PAC, hay 3,5 mil millones de Euros disponibles para programas de investigación, según lo comentado en la conferencia “El sector lácteo español más allá de 2015”. Para acceder a esos recursos, se propone la cooperación entre regiones que son distintas, siendo esa diversidad un factor importante para Europa. Lo que se busca en este marco existente es diseminar conocimientos, medidas agro-ecológicas colectivas y apoyo a productos de calidad.

A pesar de previsiones positivas para los precios, la crisis ha enseñado que la realidad puede ser distinta. El mercado de la leche en la UE se ha liberalizado, y se encuentra más expuesto a las volatilidades del mercado mundial. Ha quedado demostrado que los mecanismos de protección existentes no son suficientes en caso de una crisis fuerte, y las oportunidades aportadas vienen acopladas a altos riesgos (ambientales, mercados financieros, etc.).

En la actualidad, en el pasado mes de julio de 2016, según el diario El País, la Comisión Europea acordó destinar 500 millones para

recortar la producción, debido a la crisis a la que se enfrenta el sector lácteo cuando se ha producido una subida de precios en todo el mundo al haberse reducido la oferta. De esos, 350 millones (14,7 millones para España) se han destinado a ayudas directas a ganaderos. El Ministerio de Agricultura ha negociado con las comunidades autónomas, las cooperativas y las organizaciones agrarias para que esos fondos vayan fundamentalmente a las explotaciones de menor tamaño, de montaña y a ganaderos miembros de organizaciones de productores que no hayan tenido un incremento en el censo en este periodo de crisis. Estas ayudas serían aplicables a aquellas explotaciones con un máximo de 75 animales por granja. Por su lado las comunidades han manifestado críticas hacia la lentitud de la aplicación de medidas y que no se hayan adoptado medidas de ajuste obligatorias en los países más excedentarios.

El Ministerio de agricultura tiene en cuenta varios escenarios, pero en todos ellos centra su preocupación en los costes y los márgenes del ganadero, además de buscar medidas para las zonas desfavorecidas y de montaña. Posiblemente, como ya se ha comentado, seguir la línea del nuevo instrumento establecido por la Farm Bill estadounidense, *Dairy Margin Protection Program*, pueda ser una opción.

3.3. Conclusiones

La amplitud, heterogeneidad, y complejidad del sector lácteo, obliga a tener un enfoque amplio y dinámico para diseñar las posibles estrategias a seguir.

Es conveniente disponer de un **Observatorio Lácteo** que detecte a nivel global las principales tendencias y elementos que inciden en la cadena de valor. Desregularización, internacionalización, capacidad innovadora, competitividad y sostenibilidad socioeconómica, son algunas de las dimensiones a considerar.

Simultáneamente debe complementarse con **Grupos de Trabajo o Comités** que estudien el impacto a nivel local de las acciones desarrolladas y cuales pueden ser las soluciones viables. Todo ello tiene que disponer de un horizonte actual y dinámico pues las situaciones de los mercados son muy cambiantes y los pronósticos pueden modificarse por cuestiones políticas (embargo ruso a productos agrarios de la UE), económicas (mercados emergentes como China) y acuerdos internacionales (TTIP con EEUU).

El **comercio exterior permite nuevas oportunidades** para las empresas de la UE, lo que disminuiría la presión sobre el mercado español, aportando nuevas oportunidades para empresas nacionales que puedan asumirlo.

Es indudable el protagonismo que están alcanzando las **cuestiones medioambientales**, por ello se debe avanzar en programas que limiten las emisiones y la contaminación del suelo, con formas de producción sostenibles.

Las **políticas de ayudas y subvenciones** deben plantearse con un horizonte limitado, en función de criterios socioeconómicos, pero tratando de que las empresas logren su propia autonomía y sostenibilidad en el mercado.

El sector se enfrenta a numerosos desafíos como aumento de escala, cambio climático y volatilidad del negocio, junto a las presiones en aumento sobre los sistemas productivos. Además, será prioritario como en muchos otros sectores **cubrir las expectativas del consumidor**.

No obstante, lo que suponen amenazas para empresas lácteas que no sepan o puedan adaptarse a los cambios, para otras pueden suponer **nuevas oportunidades** en cuanto a especialización, nuevos segmentos de consumidores e innovaciones. Como denominador común tenemos que pasar del desafío a la oportunidad, anticipando escenarios que nos permitan abordar las estrategias oportunas (Luis Calabozo en la Jornada Técnica sobre visión holandesa para un sector lácteo rentable y competitivo. Madrid 13 de Mayo de 2014).

Como recomendación general está el **fortalecimiento del tejido empresarial** en los distintos eslabones de la cadena. El fomento de las integraciones horizontales y verticales en las distintas modalidades puede aportar viabilidad y estabilidad a la cadena de valor.

La **reestructuración empresarial** es una asignatura pendiente, apuntando a explotaciones competitivas en los distintos eslabones de la cadena. Su dimensión y capacidad los marcará el propio mercado, sobreviviendo aquellas que resulten sostenibles.

Debemos asumir que nos enfrentamos a un escenario de inestabilidad de precios, costes, producciones y demanda, donde la competitividad debe ser integral en toda la cadena de valor, lo que requiere una **coordinación de todos los eslabones**. Con la desaparición del sistema

de cuotas, habrá más competencia en el mercado interno, por lo que tendrán que mejorar los costes de producción y contar con un sector industrial fuerte.

Diversificar en productos y mercados es otra línea de trabajo, especialmente para la industria elaboradora. Ello requiere intensificar las innovaciones y aumentar las inversiones tanto en equipamiento como en programas de investigación coordinando con instituciones pertinentes, tanto nacionales como extranjeras. Las administraciones deben apostar por modelos sostenibles de la cadena de valor, que sean competitivos. Será necesario crear un triángulo entre empresas, investigación y administraciones.

Dentro del sector lácteo nos encontramos con granjas cada vez más grandes en el mundo, pero año tras año también son menos, y donde hay algunas regiones y sistemas con importantes ventajas competitivas en materia de costes de producción. La **oferta** láctea debe ser **competitiva en precio y calidad** con un abastecimiento garantizado a nivel nacional. Por otro lado, toda la cadena debe tener una actitud más responsable con el productor primario, dándole una parte justa del precio de la leche. Además, las leyes deben regularizarse a fin de garantizar contratos justos.

Los ganaderos españoles están preparados para afrontar el final del régimen de cuotas con **dos sistemas muy distintos de producción**: uno menos vinculado al territorio, más extensivo, con mayor capacidad de crecimiento, pero con la importante limitación de la volatilidad de los precios de las materias primas y otro más vinculado al territorio en zonas de vocación y tradición lechera, pero con una capacidad limitada por ausencia de disponibilidad de tierra. Sin embargo, la principal interrogación reside en cómo afectará un mercado globalizado sin cuotas al sector industrial y cuáles serán sus repercusiones.

La **formación de cooperativas y alianzas** comerciales puede ser una buena medida para combatir los obstáculos, mejorar las negociaciones y facilitar una mayor diversidad de expansión tanto a nivel nacional como internacional.

Por tanto, a España se le presenta un reto importante de cara a afrontar el futuro sin cuotas del sector lácteo, pero al mismo tiempo también será una dificultad para cualquier otro país y el sector lácteo español ha venido demostrando durante años su capacidad de adaptación.

En resumen, el sector lácteo español se enfrenta a grandes desafíos, que pueden suponer serias dificultades para muchas empresas. Simultáneamente, hay también oportunidades para aquellas que sepan aprovechar sus ventajas competitivas, en un mercado dinámico tanto en el entorno nacional como internacional. El planteamiento básico es la búsqueda de sinergias con otros actores del sector, coordinando las actividades de los sectores público y privado, y siendo conscientes de que la vertebración de la cadena es la mejor garantía para su funcionamiento y supervivencia. Hacen falta esfuerzos económicos, de innovación y especialmente una actitud de colaboración y confianza, que debe lograrse día a día.

4. BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, J.A., Gomez, M.I. (2011). Modelo de referencia de la red de valor en Latinoamérica en *La cadena de valor agroalimentaria: análisis internacional de casos reales*. J Briz, I de Felipe. Ed Agrícola pp. 261-294.
- AECID (2012). El modelo de cadena de valor alimentaria como estrategia para el desarrollo rural: Aplicación al caso de zonas marginales en la República Dominicana (11-cap2-1408).
- Aranibar, H.D. (1992). Algunas consideraciones para el uso de indicadores en el estudio de la estructura de mercados.
- Arce, C. (2014). Comparative analysis of the dairy sector in Denmark and Spain. The role of the cooperatives. Trabajo Fin de Carrera. Especialidad en Economía Agraria (plan 2006). ETSIA de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM).
- Baker, D., Graber-Lützhøft, K. (2007). Concentration in Agribusiness and Marketing: A Case Study of Arla Foods. *Food policy for developing countries: the role of government in the global food system*, 6-1.
- Bogdan, R., Taylor, S.J. (1978). Introduction to qualitative research method. NY Wiley.
- Bremmers, H.J. (2004). *Dynamics in Chains and Networks*. Wageningen Academic Publisher. The Netherlands.
- Briz, J., De Felipe, I. (2011). La cadena de valor agroalimentaria. Análisis internacional de casos reales. Editorial Agrícola.

- Briz, J., De Felipe, I. (2012). Las redes de cadenas de valor alimentarias en el siglo XXI: Retos y oportunidades internacionales. Editorial Agrícola.
- Briz, J., De Felipe, I. (2013). Metodología y funcionamiento de la cadena de valor alimentaria. Un enfoque pluridisciplinar e internacional. Editorial Agrícola.
- Burrell, A. (2004). The 2003 CAP reform Implications for the EU dairy sector. *Outlook on Agriculture* 33(1), 15-25.
- Busquets, E. (2009). *Mercado productos orgánicos en países europeos*. Pro-Chile.
- Calabozo Moran, L., FENIL. (2012). *Taller Debate La cadena de valor láctea española: Situación actual y perspectivas. Algunas reflexiones desde el eslabón transformador*. ETSI Agronomos (UPM), Madrid.
- Calcedo Ordoñez, V. (2002). Nota preliminar sobre los cambios estacionales de la producción y la riqueza de composición de la leche de vaca en España. *Revista Española de Estudios Agrosociales y Pesqueros*, 192:223-239.
- Calcedo Ordoñez, V. (2009). Cuotas y reestructuración en la UE-15 y España: hacia un drástico redimensionamiento del sector productor. *Revista Española de Estudios Agrosociales y Pesqueros*, 223:11-47.
- Camps, T. (2004). *Chains and Networks Theory and Practice. The emerging World of Chains and Networks*. Elsevier Juridisch Pp. 13-33.
- CEOL (2008). Cadenas productivas: conceptos, enfoques y herramientas. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima. Septiembre, pp. 50-52.
- Cifuentes, W., Pérez, MJ y Gil-Casares, M. (2011). Metodología de análisis de cadenas productivas bajo el enfoque de cadenas de valor. Fundación CODESPA.
- Collantes, F. (2012). *El Consumo de Productos Lácteos en España, 1950-2010*.

<http://repositori.uji.es/xmlui/bitstream/handle/10234/41581/DT%20SEHA%2012-04.pdf?sequence=1>

- Comisión Europea (2006). Milk and milk products in the european unión.
- Comisión Europea (2009). Sector lácteo.
http://ec.europa.eu/agriculture/publi/fact/policy/an3_es.htm
- Comisión Europea (2013a). Conference The EU dairy sector: developing beyond 2015.
http://ec.europa.eu/agriculture/events/dairy-conference-2013_en.htm
- Comisión Europea (2013b). The common agricultural policy (CAP) and agriculture in Europe - frequently asked questions.
https://europa.eu/rapid/press-release_MEMO-13-631_en.htm
- Comisión Europea (2016). A short history of milk quotas.
http://ec.europa.eu/agriculture/milk-quota-end/history/index_en.htm
- Cooperativas Agro-Alimentarias de España (2011a). Una propuesta sostenible para afrontar el futuro. Cooperativas Agro alimentarias ante las propuestas sobre una PAC Horizonte 2020.
- Cooperativas Agro-Alimentarias de España (2011b). Cooperativas Agro-alimentarias de España apuesta por la viabilidad del sector lácteo español, 38–39.
<http://www.agro-alimentarias.coop/ficheros/doc/03524.pdf>
- Cooperativas Agro-Alimentarias de España. (2013). Las cooperativas lácteas participan en la campaña de Productos Lácteos Sostenibles, 42–43.
<http://www.agro-alimentarias.coop/ficheros/doc/04063.pdf>
- Cooperativas Agro-alimentarias de España (2016). ¿Qué pasará en el sector lácteo cuando desaparezcan las cuotas?
<http://www.agro-alimentarias.coop/ficheros/doc/04235.pdf>
- Cordero, F.A. (2014). El Sector Lácteo de los Estados Unidos de Norteamérica y sus Posibles Repercusiones en Centroamérica a 8 años de la entrada en vigencia del DR-CAFTA.
http://www.proleche.com/recursos/documentos/congreso2014/Analisis_del_sector_lacteo_de_los_Estados_Unidos_de_Norteamerica_y

[sus posibles repercusiones en la region a 8 anos de la entrada en vigencia del DR-CAFTA. MBA. Franci.pdf](#)

- Creswell, J.W., Clark, V.L.P. (2007). Designing and conducting mixed methods research.
- Danish Agriculture & Food Council (2013). Dairy Statistics 2012.
- Datosmacro (2015). PIB de EEUU.
<http://www.datosmacro.com/pib/usa>
- De Antonio, F. (2010). Un nuevo líder del sector industrial español.
www.itgganadero.com/itg/portal/documentos2.asp?id=249&d=1
- Díaz Yubero MA. (2016). El sector lácteo Español en la encrucijada. Cajamar.
- El Mundo (2009). ¿Fin del sector lácteo español?.
http://www.elmundo.es/elmundo/2009/08/14/union_europea/1250274876.html
- El País (2016). Agricultura negocia cómo recortar la producción láctea. *El País*. Madrid 18 SEP 2016 - 20:55 CEST.
http://economia.elpais.com/economia/2016/09/18/actualidad/1474221754_171578.html
- El País (2013a). España no cubre la cuota láctea asignada por la UE. *El País*.
http://economia.elpais.com/economia/2013/05/12/actualidad/1368388817_202435.html
- El País (2013b). La leche que nos dieron. *El País*.
http://economia.elpais.com/economia/2013/05/24/actualidad/1369421661_241483.html
- Europa Press (2008). El escándalo por la leche adulterada en China salpica cada vez a más personas, empresas y países.
<http://www.europapress.es/internacional/noticia-cronica-china-escandalo-leche-adultera-da-china-salpica-cada-vez-mas-personas-empresas-paises-20080917150713.html>
- European Dairy Association (2013). About the European Dairy Industry - General overview.
http://www.euromilk.org/eda/content_html.aspx?cid=426

- FAO (2013). Agroindustrias para el desarrollo.
<http://www.fao.org/3/a-i3125s.pdf>
- FEAGA (2016). Tasa láctea.
https://www.fega.es/es/PwfGcp/es/regulacion_mercados/tasa_lactea/index.jsp
- FIAB (2013). La Industria Alimentaria.
<http://www.fiab.es/es/industria/industria.asp>
- Gerald, M.F. (2008). Perfil de la Industria Lechera en Nueva Zelanda. Invest Chile Corfo.
http://www.fedeleche.cl/documentos/inf_nz.pdf
- Giagnocavo, C., Vargas-Vasserot, C. (2012). *Support for Farmers Cooperatives: Country Report Spain*. Wageningen.
- Hartford, T. (2006). *El economista camuflado*. Edit. Temas de Hoy.
- INE (2014): Leche: Producción por variedad y periodo.
<http://www.ine.es/jaxi/tabla.do?path=/t01/a097/a1998/10/&file=pg20001.px&type=pcaxis&L=0>
- INLAC (2011). Organización Interprofesional Láctea. *Un Sistema de Indicadores de Evolución de los Mercados de Leche y Productos Lácteos*. http://www.inlac.es/sector_produccion.php
- INLAC (2015). El Sector Lácteo en España. Datos de producción, industria y consumo.
http://www.inlac.es/admin/uploads/files/id_20173418_Informesocioeconomicoinl ac20.09.16.pdf
- INLAC (2016). Organización Interprofesional Láctea.
http://www.inlac.es/sector_produccion.php
- Johnson, R.B., Onwuegbuzie, A., Turner, L. (2007). Toward a definition of mixed methods research *Journal of Mixed Method Research* 1(2):112-133.
- Juliá Igual, J.F., García Martínez, G., Meliá Martí, E., Gallego Sevilla, L.P. (2010). Los factores de competitividad de las cooperativas líderes en el sector agroalimentario europeo: Acciones a emprender por las cooperativas agrarias españolas. El Ejido (Almería).

- Kaplinsky, R., Morris, M. (2000). A handbook for value chain research. Bellagio Workshop, September.
- La Nueva España (2014). España propone copiar el sistema de márgenes americano para proteger la ganadería láctea. 26.03.2014 Madrid.
<http://www.lne.es/mar-campo/2014/03/20/espana-propone-copiar-sistema- margenes/1559319.html>
- La Opinión A Coruña (2008). La leche china adulterada afecta a 6.200 bebés y causa tres muertes.
<http://www.laopinioncoruna.es/sociedad/2008/09/18/leche-china-adulterada- afecta-6200-bebes-causa-tres-muertes/221983.html>
- Langreo Navarro, A. (1994). Situación y cambios recientes en el sistema lácteo español. Efectos en la industria. *Revista Española de Economía Agraria*, 115–143.
- MAGRAMA (2013a). Sector Lácteo. Evolución de las políticas en el sector y perspectivas en España.
<http://www.agro-alimentarias.coop/ficheros/doc/04191.pdf>
- MAGRAMA (2013b). El Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente trabaja con el sector lácteo para mejorar su eficiencia e incrementar su valor.
<http://www.magrama.gob.es/es/prensa/noticias/el-ministerio-de-agricultura,-alimentaci%C3%B3n-y-medio-ambiente-trabaja-con-el-sector-l%C3%A1cteo-para-mejorar-su-eficiencia-e-incrementar-su-valor--/tcm7-283912-16>
- MAGRAMA (2013c). La cadena de valor de la leche.
https://www.mapa.gob.es/es/megustalaleche/estudios-e-infor-mes/1365369654_La_cadena_de_valor_de_la_leche_liquida_126_p_ag_005-013_zafra_tcm30-213515.pdf
- MAGRAMA (2013d). Isabel García Tejerina: Desde el Ministerio creemos firmemente en el desarrollo y la innovación como pilares del futuro del sector lácteo.
<http://www.magrama.gob.es/es/prensa/noticias/isabel-garc%C3%ADa-tejerina-%E2%80%9Cdesde-el-ministerio-creemos-firmemente-en-el-desarrollo-y-la-innovaci%C3%B3n->

[como-pilares-del-futuro-del-sector-
l%C3%A1cteo%E2%80%9D/tcm7-303029-16](#)

- MAGRAMA (2014). Informe del Consumo de Alimentación en España.
https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/informeconsumoalimentacion2014_tcm30-104149.pdf
- MAGRAMA (2016). Historia de la PAC.
<https://www.mapa.gob.es/es/pac/historia-pac/>
- MAPA (2003). *Libro Blanco de la Agricultura y el Desarrollo Rural*. Madrid.
- MAPA (2004). Diagnóstico y Análisis Estratégico del Sector Agroalimentario Español. Análisis de la cadena de producción y distribución del sector de lácteos.
https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/informe_lacteos_tcm30-89492.pdf
- Marion, B.W. (1976). Application of the Structure, Conduct, Performance Paradigm too Subsector Analysis. W.P.7N.C. Project 117 Agr. Exp. Stat. Nebraska. MARM. (2009): Estrategia para el Sector Lácteo Español, Horizonte 2015.
- MERCASA (2013). Leche y productos lácteos.
http://www.mercasa-ediciones.es/alimentacion_2013/pdfs/pag_161-190_leche.pdf
- Nelson, P.E. (1996). Price competition Among Retail Food Store: Theory-practice Journal of Farm Economics, 48:172-187.
- Noche, E.B. (2013). Las cooperativas en EE. UU, Canadá, Australia y Nueva Zelanda. Mediterráneo económico, 24:103-117.
- Observatorio de precios y mercados de la Junta de Andalucía (2014). Precios medios mensuales en origen: Leche.
<http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/observatorio/servlet/FrontController>
- Observatorio de precios de los alimentos del MARM (2009). *Estudio de la cadena de valor y formación de precios de la leche líquida envasada*. Madrid.

- OCU (2011). Leche: Grandes diferencias de calidad.
<http://www.ocu.org/alimentacion/alimentos/informe/leche-grandes-diferencias-de-calidad544014/1>
- Pacheco Colombo, H.E. (2011). *Factores que inciden en el precio de la leche cruda como elemento de sostenibilidad de las unidades de producción de vacuno de leche en la Comarca ganadera de Pozoblanco*. Trabajo Fin de Master.
- Parlamento Europeo (2016). La Política Agrícola Común después de 2013.
http://www.europarl.europa.eu/ftu/pdf/es/FTU_5.2.9.pdf
- Pascuale, A., Quagliani, A. (2005). La medida del grado de concentración de vendedores y compradores en un mercado agropecuario. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias*.
<http://www.fcagr.unr.edu.ar/Investigacion/revista/rev7/2.htm>
- Peña, S. (2011). Estructura y transparencia en la cadena de valor del porcino español Tesis Doctoral sin publicar. UPM ETSI Agrónomos.
- Poppe, K.J., Hagedorn, K., Bijman, J., Iliopoulos, C., Gijselinckx, C., Hanisch, M., Hendrikse, G.W.J., *et al.* (2012). Support for Farmers Cooperatives. *Final Report*.
- Puelles, J.A., Puelles, M. (2008). Marcas del Distribuidor: 100 ideas clave. *Distribución y Consumo*, 100(julio-agosto):241-257.
- Robledo, R. (1999). La política lechera en Nueva Zelanda. MYCP, Nueva Zelanda, 2(7).
- Sarmir, I. (2003). Relaciones comerciales entre la gran distribución y los proveedores de productos alimentarios y situación actual. Comité Económico Social Europeo. Dictamen NAT/571. Bruselas.
- Schiefer, G., Fritz, M. (2007). Food Chain Management research: challenges Ahead. *European Technology Platform Food for Life*. Technical paper.
- Shaffer, J.D. (1979). Food System Organization and performance: Toward a Conceptual Framework. W.P.40. Allied Social Science meeting. Atlanta. Georgia. Diciembre 1979.

- Sprinkev, H. (2007). The value links manual: a methodology for value chain promotion. GTZ
- Sumner, D.A., Balagtas, J.V. (2002). United States Agricultural Systems: An Overview of US Dairy Policy. Roginski, H., J. Fuquay., P. Fox. Encyclopedia of dairy sciences. Elsevier Science Ltd.
- Theuvsen, L. (2007). *Quality Management in Food Chains*. Wageningen Academic Publisher. The Netherlands.
- UITA. La Unión Internacional de Trabajadores de la Alimentación, Agrícolas, Hoteles, Restaurantes, Tabaco y Afines.
<http://www.iuf.org/sites/cms.iuf.org/files/Fonterra-sp.pdf>
- USAID (2008). Structure-Conduct-Performance and Food Security. FEWS Net-Market Guidance n° 2.
- USDA - United States Department of Agricultura (2016a). Federal Milk Marketing Orders.
<https://www.ams.usda.gov/rules-regulations/moa/dairy>
- USDA - United States Department of Agricultura. (2016b). Federal Milk Marketing.
- Orders Program. Understanding the Milk Order Amendment Process.
<https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/DairyMarketingOrderAmendmentBrochure.pdf>
- Verhees, F., Lans, T., Verstegen, J. (2012). The influence of market and entrepreneurial orientation on strategic marketing choices: The cases of Dutch farmers and horticultural growers. *Journal on Chain and Network Science*, 12(2):167-180.
- Von Braum, J. (2008). Rising-food prices. Eurochoices. 7(2) IFPRI.

GANADORES PREMIOS RACVE 2016

III PREMIO LABORATORIOS BOEHRINGER INGELHEIM A LA DIVULGACIÓN CIENTÍFICA

CARDIOMIOPATÍA ARRITMOGÉNICA DEL BÓXER

D. LAÍN GARCÍA GUASCH

RESUMEN

El objetivo de este artículo es dar a conocer una cardiomiopatía relativamente habitual en los perros de raza Bóxer llamada cardiomiopatía arritmogénica del ventrículo derecho. Se trata de una enfermedad hereditaria asociada a una serie de mutaciones genéticas que provocan un proceso degenerativo del miocardio con infiltración fibro-adiposa principalmente en el ventrículo derecho. Es una enfermedad de tipo eléctrico por lo que, en fases iniciales no se detectan alteraciones en la radiografía o la ecocardiografía. El signo clínico más habitual es la presencia de síncope e intolerancia al ejercicio, aunque a veces el primer síntoma puede ser una muerte súbita. Se diagnostica a partir de antecedentes familiares, signos clínicos, alteraciones en el electrocardiograma y/o registro Holter (complejos ventriculares prematuros (CVP) derechos), tests genéticos y/o biopsia del miocardio. Esta última normalmente se realiza *post mortem*. El fármaco de elección para reducir el número de CVP es el sotalol. La reducción en el número de arritmias no implica una reducción del riesgo de muerte súbita. El pronóstico es más favorable en pacientes jóvenes que no presenten síncope.

INTRODUCCIÓN

La cardiomiopatía arritmogénica del Bóxer (en inglés *arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy*, ARVC) es una miopatía primaria hereditaria que afecta principalmente al ventrículo derecho. Consiste en un proceso degenerativo del miocardio donde se produce una infiltración fibroadiposa y una atrofia de los miocitos. Esta miopatía predispone a la aparición de arritmias, muerte súbita, fallo congestivo derecho, etc... Varios estudios han demostrado que esta patología es muy similar a la cardiomiopatía arritmogénica ventricular derecha de humanos.

Tanto las arritmias como otras alteraciones electrolíticas pueden detectarse incluso antes de que aparezcan alteraciones histológicas o disfunción ventricular. La progresión de la enfermedad no sigue un proceso continuo sino que se alternan periodos de estabilidad con periodos donde aparecen arritmias de forma más recurrente. En medicina humana se ha constatado que ciertos factores ambientales como el ejercicio intenso o procesos que cursan con inflamación pueden predisponer a la progresión de la enfermedad. En fases avanzadas, la cardiomiopatía del ventrículo derecho o la progresión de la afectación hacia el ventrículo izquierdo pueden provocar la presencia de fallo cardíaco derecho o biventricular. Suele detectarse más habitualmente en pacientes jóvenes y atletas, los cuales pueden sufrir muerte súbita asociada a fibrilación ventricular. Se sospecha que estagrade arritmia puede estar relacionada con apoptosis aguda e inflamación reactiva de los miocitos.

La cardiomiopatía arritmogénica del Bóxer es una enfermedad hereditaria genética de transmisión autosómica dominante que se manifiesta en edad adulta. En humana se ha constatado que existen más de 1400 variantes en 12 genes relacionados con esta cardiomiopatía. De éstas, solamente 411 variantes se han confirmado como patológicas siendo la significancia del resto todavía desconocida.

PRESENTACIÓN CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO

La presentación clínica de esta patología se puede clasificar en tres posibles categorías en cuanto al cuadro clínico:

1. perros asintomáticos con arritmias ventriculares ocasionales;
2. perros con taquiarritmias, síncope e intolerancia al ejercicio;

3. perros con disfunción sistólica miocárdica, insuficiencia cardíaca congestiva y evidencia de dilatación ventricular izquierda; esta tercera categoría presenta una incidencia mucho menor respecto a las anteriores.

El motivo principal de visita son los episodios sincopales. El examen físico suele ser normal, aunque en ocasiones el primer signo clínico es la muerte súbita del animal. Se pueden auscultar arritmias, y en los pacientes con fallo sistólico detectarse soplos de regurgitación mitral y tricúspide, edema pulmonar, taquipnea, crepitaciones pulmonares, ascitis y pulso yugular positivo.

Recientemente se han desarrollado tests genéticos de diagnóstico que son capaces de identificar algunas variantes de alteraciones genéticas asociadas a la patología:

<http://www.ncstatevets.org/genetics/boxerarvc/>

De todos modos, normalmente el diagnóstico se realiza a partir de la combinación de varios factores como los antecedentes familiares, la presencia de síncope o intolerancia al ejercicio, la detección de extrasístoles ventriculares o taquicardia ventricular principalmente de morfología derecha, y sobre todo a partir del estudio anatomopatológico del miocardio.

En la mayoría de pacientes afectados el examen físico es completamente normal. En ocasiones se puede auscultar la presencia de latidos prematuros. En caso de auscultar un soplo hay que tener en cuenta que los perros de raza Bóxer pueden presentar soplos fisiológicos debido a su anatomía cardíaca, o bien estar asociados a una estenosis aórtica. Los pacientes con ARVC no suelen presentar soplos excepto en la forma donde existe disfunción sistólica.

Las radiografías suelen ser normales excepto si existe fallo sistólico con insuficiencia cardíaca congestiva. Normalmente no se aprecian alteraciones estructurales o hemodinámicamente significativas en la ecocardiografía, no obstante, en algunos casos, se puede detectar dilatación y cierto grado de disfunción ventricular derecha. En los pacientes de categoría 3 puede haber también fallo sistólico ventricular izquierdo (dilatación ventricular, fracción de acortamiento disminuida, etc...) y fallo cardíaco congestivo.

En el electrocardiograma (ECG) suelen aparecer complejos ventriculares prematuros (CVP) derechos (morfología similar a los blo-

queos de rama izquierda) en las derivaciones I, II y III. Las arritmias se pueden clasificar en 4 grados según su gravedad:

1. CVP simples aislados (ver Figura 1);
2. Bigeminismo, trigeminismo o ambos;
3. parejas ventriculares, tripletes o ambos;
4. fenómeno de R en T, taquicardia ventricular o ambos (ver Figura 2).



Figura 1. Electrocardiograma con un complejo ventricular prematuro derecho aislado

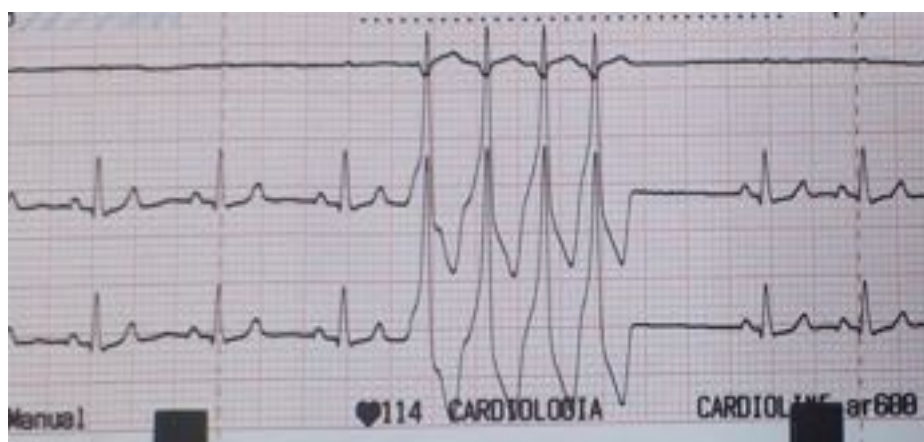


Figura 2. Taquicardia ventricular paroxística derecha

De todos modos, el ECG tiene ciertas limitaciones a la hora de detectar arritmias ya que a menudo se presentan de forma intermitente a

lo largo del día y por lo tanto esta prueba complementaria de diagnóstico solamente permite analizar un breve período de tiempo de pocos minutos. Por lo tanto el ECG presenta una buena especificidad pero una baja sensibilidad.

La presencia de CVP en el ECG es motivo suficiente para recomendar el estudio mediante registro Holter de 24 horas. El registro Holter es el método de elección para detectar arritmias de naturaleza intermitente ya que permite periodos de evaluación mucho más largos y en un entorno habitual para el paciente, sin el estrés que puede padecer cuando acuden a la consulta (ver Figura 3).



Figura 3. Bóxer tras la colocación del dispositivo Holter

Algunos criadores utilizan esta prueba para realizar un screening de sus animales y detectar pacientes enfermos asintomáticos. Se han descrito diferentes sistemas de gradación en cuanto a la gravedad de la enfermedad en función del recuento de CVP (ver Tabla 1) (ver Figura 4).



Figura 4. Registro Holter. Presencia de complejos ventriculares

Análisis del registro Holter según el recuento de complejos ventriculares prematuros y episodios de taquicardia ventricular	
Holter clase 1	<1000 CVPs simples/24h
Holter clase 2	>1000 CVPs simples /24h
Holter clase 3	<1000 CVPs simples /24h, parejas, tripletes, TV
Holter clase 4	>1000 CVPs simples /24h, parejas, tripletes, TV
TV clase I	<200 TV en 24 horas
TV clase II	>200 TV en 24 horas
CVP clase A	<10000 CVPs en 24 horas
CVP clase B	>10000 CVPs en 24 horas
CVPs, complejos ventriculares prematuros; TV, taquicardia ventricular	

Tabla 1. Clasificaciones a partir del registro Holter para Bóxers con cardiomiopatía arritmogénica

Es importante destacar que, en ocasiones, el registro Holter en un paciente con ARVC puede no ser concluyente ya que en un estudio realizado con Bóxer se vio que diariamente existe una variabilidad de hasta el 83% en el número de CVP que se generan. En tal situación se

puede realizar un segundo estudio Holter o bien antes descartar otras posibles causas de síncope.

A nivel macroscópico la mayoría de los pacientes presentan un corazón de aspecto normal, aunque a veces se puede detectar dilatación del ventrículo derecho o incluso del izquierdo.

Estudios realizados a nivel microscópico han determinado que en los Bóxer afectados existe una importante pérdida de la estructura miocítica del ventrículo derecho debido a la presencia de infiltrados adiposos o fibro-adiposos (ver Figura 5). Estos infiltrados también se han detectado en ambos atrios y en el ventrículo izquierdo. La cantidad de infiltrados en el ventrículo derecho resultó significativamente mucho mayor en pacientes afectados en comparación con el grupo control.

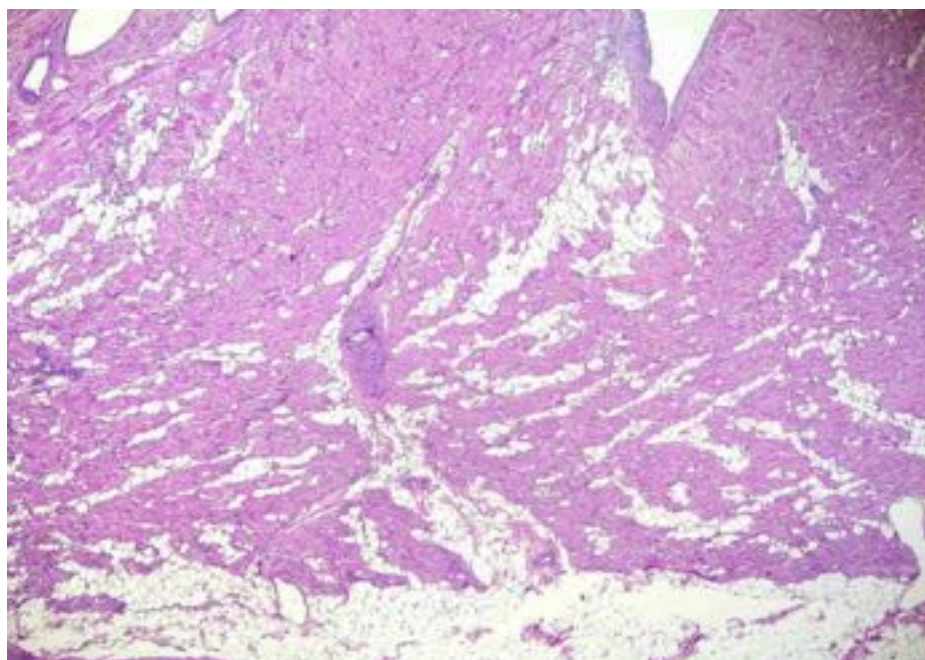


Figura 5. Histopatología. Detalle de infiltrados adiposos en ventrículo derecho

En algunos pacientes afectados se han identificado zonas de miocarditis con infiltrados linfocíticos multifocales, así como evidencias histológicas de apoptosis en los miocitos del ventrículo derecho. Algunos investigadores consideran que los patrones adiposo y fibroadiposo constituyen una situación clínica evolutiva de la enfermedad mediada por la presencia de miocarditis, la cual en una fase inicial (forma adiposa) provoca un daño a nivel miocítico que evoluciona al segundo

estadio de la enfermedad (forma fibroadiposa) debido al efecto reparador sobre el daño ocasionado.

En cuanto a la utilización de marcadores de daño miocárdico se ha visto que existen niveles elevados de troponina cardíaca I (cTnI) sérica en Bóxer con ARVC. Se cree que la elevación de los niveles séricos de cTnI se debe a la miocitólisis, atrofia miocárdica y degeneración de las fibras musculares que presentan los perros afectados. Otros estudios demuestran que la concentración del marcador péptido natriurético cerebral (BNP) no puede utilizarse como indicador de ARVC en Bóxer ya que no existe una diferencia significativa entre animales enfermos y sanos.

TRATAMIENTO

La mayoría de perros afectados no desarrollan disfunción sistólica ni fallo cardíaco por lo que el tratamiento consiste básicamente en utilizar antiarrítmicos ventriculares. En pacientes asintomáticos se debe iniciar el tratamiento de forma inmediata si aparecen más de 1000 CVP en 24 horas, si hay episodios de taquicardia ventricular, o si se detecta el fenómeno de R en T. Los pacientes con síncope o intolerancia al ejercicio idealmente deberían empezar a medicarse tras haber realizado el registro Holter de 24 horas. En algunos casos, si los síncope son frecuentes o se detecta taquicardia ventricular en el ECG es preferible iniciar el tratamiento lo antes posible.

El objetivo del tratamiento consiste en controlar la frecuencia de aparición de arritmias malignas y prevenir el riesgo de muerte súbita. Se han descrito diferentes protocolos antiarrítmicos en perros con ARVC, así como la implantación de desfibriladores cardio-versores.

Tanto en medicina humana como en veterinaria el antiarrítmico de elección en pacientes con cardiomiopatía aritmogénica del ventrículo derecho es el sotalol. Se trata de un beta-bloqueante no selectivo de clase III que es muy eficaz en la reducción del recuento de arritmias y no suele generar un efecto pro-arrítmico. La administración de sotalol (1.5-3.5 mg/kg/12h) o bien la combinación de mexiletina (5-8 mg/kg/8h) junto a atenolol (0.3-0.6 mg/kg/12h) son las pautas terapéuticas más eficaces. Tras 2-3 semanas de tratamiento se debe realizar un segundo Holter para valorar la eficacia del fármaco y descartar un efecto proarrítmico del mismo. Se considera que la medicación está ejerciendo un efecto terapéutico si se observa una reducción del 85% como mínimo en el número de CVP. También se ha demostrado la eficacia de

los ácidos grasos omega-3 presentes en aceites de pescado como tratamiento para reducir el recuento de arritmias ventriculares en Bóxer con cardiomiopatía arritmogénica.

PRONÓSTICO

Ningún tratamiento probado es capaz de reducir la incidencia de síncope ni el riesgo de muerte súbita. Así mismo, en un estudio retrospectivo realizado con una población de 62 Bóxer se vio que no había diferencias estadísticamente significativas según el tratamiento farmacológico administrado.

En cuanto al pronóstico algunos perros fallecen a consecuencia de una arritmia grave sin mostrar signos clínicos previamente. Por lo tanto, la ausencia de signos clínicos no significa que no exista riesgo de muerte súbita. Mientras algunos pacientes con un número anormal de ectopias nunca desarrollarán signos clínicos, otros con el mismo grado de afectación pueden progresar y desarrollar arritmias más graves. En cuanto al tiempo medio de supervivencia, es superior en perros jóvenes ($p < 0,001$), y en pacientes sin síncope ($p = 0,012$) [365 días en Bóxer con síncope versus 693 días en Bóxer sin síncope]. Además, la probabilidad de fallecer antes de un año a partir del momento de diagnóstico es 4,8 veces superior en perros con síncope. Por lo tanto, el mejor pronóstico es para pacientes jóvenes sin presencia de síncope.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Avramides D, Protonotarios N, Asimaki A, *et al.* Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia. *Hellenic J Cardiology* (2011) 52:452-461.
2. Basso C, Fox PR, Meurs KM, Towbin JA, Spier AW, Calabrese F., Maron BJ, Thiene G. Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy Causing Sudden Cardiac Death in Boxer Dogs. A New Animal Model of Human Disease. *Circulation* (2004) 109:1180-11.
3. Baumwart RD, Meurs KM, Atkins CE, Bonagura JD, DeFrancesco TC, Keene BW, Koplitz S, Luis Fuentes V, Miller MW, Rausch W, Spier AW. Clinical, echocardiographic and electrocardiographic abnormalities in Boxers with cardiomyopathy and left ventricular systolic dysfunction: 48 cases (1985-2003). *J Am Vet Med Assoc* (2005) 226:538-541.

4. Caro-Vadillo A, García-Guasch L, Carretón E, Montoya-Alonso JA, Manubens J. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in Boxer dogs: a retrospective study of survival. *Vet Record* (2013). Mar 9;172(10):268.
5. Hariu CD, Carpenter D. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in Boxers. *Compendium: continuing Education for Veterinarians* (2010) pp: E2-E7.
6. Meurs KM, Spier AW, Wright NA, Meurs KM, Spier AW, Wright NA, Atkins CE, DeFrancesco TC, Gordon SG, Hamlin RL, Keene BW, Miller MW, Moise NS. Comparison of the effects of four antiarrhythmic treatments for familial ventricular arrhythmias in Boxers. *J Am Vet Med Assoc* (2002) 221:522-527.
7. Meurs KM. Boxer dog cardiomyopathy: an update. *Vet Clin N Am Small Anim Pract* (2004) 34:1235-1244.
8. Meurs KM, Lahmers S, Keene BW. Characteristics of ARVC Boxer with sudden death. *Proceedings of the ACVIM Forum*. Denver, USA. June 15-18 2011, p 649.
9. Nelson OL, Lahmers Schneider T, Thompson P. The Use of an Implantable Cardioverter Defibrillator in a Boxer Dog to Control Clinical Signs of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. *J Vet Intern Med* (2006) 20:1232–1237.
10. Palermo V, Stafford Johnson MJ, Sala E, Brambilla PG, Martin MW. Cardiomyopathy in Boxer dogs: A retrospective study of the clinical presentation, diagnostic findings and survival. *Journal of Veterinary Cardiology* (2011) 13:45-55.
11. Smith CE, Freeman LM, Rush JE, Cunningham SM, Biourge V. Omega-3 Fatty Acids in Boxer Dogs with Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. *J Vet Intern Med* (2007) 21:265–273.

GANADORES PREMIOS RACVE 2016

III PREMIO FUNDACIÓN CESFAC

INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS DE RUMIANTES: PASADO Y FUTURO DE LOS SISTEMAS *IN VITRO*

D. IVÁN MATEOS ÁLVAREZ

INDICE DE ABREVIATURAS

A	dieta cuyo forraje es heno de alfalfa
ADN	ácido desoxirribonucleico
MOAF	materia orgánica aparentemente fermentable
AGV	ácidos grasos volátiles
ARISA	automated ribosomal intergenic spacer analysis
ARN	ácido ribonucleico
°C	grado centígrado
CCF	fermentadores de flujo continuo
CIN	cinamaldehído
CON	control
cm	centímetro
CNRMR	cultivos no renovados de microorganismos ruminales
Cq	ciclo de cuantificación
CTAB	bromuro de cetiltrimetilamonio
DGGE	denaturing gradient gel electrophoresis
EDTA	ácido etilendiaminotetraacético
RFC	relación forraje:concentrado
FAD	fibra ácido detergente

FND	fibra neutro detergente
FOR	forraje
g	gramo
g	fuerza de la gravedad
G	dieta cuyo forraje es heno de gramíneas
AA	aceite de ajo
h	hora
AF	dieta con mayor proporción de forraje que de concentrado
AC	dieta con mayor proporción de concentrado que de forraje
L	litro
LAB	bacterias asociadas a la fase líquida
LIQ	fase líquida de los fermentadores
M	molar
MC	dieta cuya relación forraje:concentrado es 50:50
min	minuto
μL	microlitro
mL	mililitro
μm	micrómetro
μM	micromolar
mm	milímetro
mM	milimolar
MO	materia orgánica
MS	materia seca ng
ng	nanogramo
nm	nanómetro
NNP	nitrógeno no proteico
PC	dieta cuyo forraje es paja de cebada
PCA	análisis de componentes principales
PCR	reacción en cadena de la polimerasa
PCoA	análisis de coordenadas principales
MP	método de procesado
psi	pound per square inch
qPCR	PCR cuantitativa
rpm	revoluciones por minuto
SAB	bacterias asociadas a la fase sólida
SOL	fase líquida de los fermentadores
STO	tratamiento del contenido ruminal con Stomacher®
T-RFLP	terminal restriction fragment length polymorphism
UI	unidades internacionales
UPGMA	unweight pair-group method algorithm
vol:vol/v:v	volumen:volumen

RESUMEN/SUMMARY

Los animales rumiantes son capaces de transformar alimentos vegetales que no pueden ser usados directamente por los humanos en productos animales (leche y carne) de excelente calidad. Este proceso es posible gracias a que poseen una compleja población microbiana en el rumen, por lo que el estudio de la fermentación ruminal es una prioridad en la investigación en alimentación animal desde hace décadas. La complejidad del rumen, la dificultad de trabajar con animales fistulados y la mayor conciencia pública sobre los derechos de los animales han contribuido al desarrollo de numerosas técnicas para simular la fermentación ruminal *in vitro*. Estos sistemas *in vitro* son ampliamente utilizados para evaluar la calidad nutritiva de las raciones de los animales, con la finalidad de optimizar los procesos fermentativos, mejorar la calidad de los productos, aumentar el bienestar animal y reducir las emisiones contaminantes, fundamentalmente de metano y nitrógeno. Un mejor conocimiento de los procesos que acontecen en el rumen y la mejora de los sistemas *in vitro* de simulación de la fermentación ruminal, permitirán una reproducción más fidedigna de los procesos fermentativos ruminales. A lo largo de los años se han diseñado muchos tipos de sistemas *in vitro* que simulan la fermentación ruminal, por lo que en este trabajo se hace una revisión histórica de estos desarrollos y de los factores que afectan a la precisión de la simulación. Además, se describen varios experimentos realizados recientemente para analizar las poblaciones microbianas ruminales que se desarrollan en dos sistemas *in vitro* ampliamente utilizados: cultivos no renovados de microorganismos ruminales y fermentadores RUSITEC.

SUMMARY

Ruminants are able to transform vegetable food, which cannot be used by humans directly, into high quality animal products (milk and meat). This process is possible thanks to the complex microbial population in the rumen, so that, the ruminal fermentation study has been a priority in the animal nutrition research for decades. The complexity of the rumen, the difficulty of working with fistulated animals and the greater public awareness of animal rights have contributed to the development of many techniques to simulate the *in vitro* ruminal fermentation. These *in vitro* systems are widely used for testing the nutritive quality of the animal feed, to optimize the fermentative processes, to improve the quality of product, to increase the animal welfare and to reduce the contaminant emissions, basically methane and nitrogen. A

better knowledge of the process that occurs in the rumen and the improvement of the *in vitro* simulation systems of the ruminal fermentation will allow a better simulation of the ruminal fermentative processes. During years, many *in vitro* ruminal fermentation systems have been designed, so that, in this work a historic revision has been done of these developments and the factors which affect the precision of the simulation. Furthermore, some experiments, recently carry out, are described to analyse the ruminal microbial populations which grow in two *in vitro* systems widely used: batch culture of ruminal microorganism and RUSITEC fermenters.

INTRODUCCION

El rumen es un ecosistema microbiano anaerobio que está habitado por una población microbiana compleja, incluyendo bacterias, protozoos, hongos, y arqueas metanogénicas. La complejidad del ecosistema ruminal, las dificultades de trabajar con animales fistulados y la mayor conciencia pública sobre los derechos de los animales han contribuido al desarrollo de numerosas técnicas para simular la fermentación ruminal *in vitro*. Estos sistemas encajan perfectamente en el objetivo del Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia (BOE de 8 de febrero de 2013), que regula la utilización de animales en experimentación. La legislación vigente fomenta la puesta a punto de métodos alternativos que puedan aportar el mismo nivel de información que el obtenido en procedimientos con animales y que supongan una menor utilización de estos, conceptos que actualmente se engloban en el «principio de las tres erres» (reducción, refinamiento y reemplazo). Los sistemas *in vitro* son ampliamente utilizados para la evaluación de la calidad nutricional de los alimentos y las dietas, pero también se utilizan frecuentemente para valorar los efectos de diferentes tipos de aditivos (extractos de plantas, enzimas...) sobre la fermentación ruminal y, más recientemente, para analizar diferentes estrategias para mitigar la emisión de metano por parte de los rumiantes. Además, las pruebas *in vitro* son una herramienta útil para la realización del cribado de aditivos y dosis para su posterior evaluación *in vivo*. En la literatura, se han descrito muchos tipos de sistemas artificiales de simulación de la fermentación que ocurre en el rumen, como los cultivos no renovados de microorganismos ruminales, los fermentadores de flujo continuo y los fermentadores de flujo semicontinuo, como el RUSITEC. El mejor conocimiento de los procesos que acontecen en el rumen y la mejora de

los sistemas de simulación de la fermentación ruminal *in vitro*, van a permitir una reproducción más fidedigna de los procesos biológicos que suceden en el interior del rumen.

La identificación de sustancias que modifican la fermentación ruminal para aumentar su eficiencia y disminuir la cantidad de metano y compuestos nitrogenados excretados en el medio ambiente es un objetivo importante de la investigación actual en la nutrición de rumiantes. En los últimos años, el potencial de una amplia gama de extractos de plantas como aditivos para manipular la fermentación ruminal ha sido ampliamente investigado mediante sistemas *in vitro*. Sin embargo, es difícil evaluar cómo un sistema *in vitro* puede reproducir lo que acontece en el rumen *in vivo* y seleccionar los parámetros correctos para llevar a cabo la comparación. Cualquier sistema *in vitro* diseñado para simular la fermentación ruminal debe imitar el rumen, incluyendo el medio físico y el mantenimiento de las poblaciones microbianas clave. De manera ideal, la composición microbiana en el sistema *in vitro* debe ser representativa, en términos de cantidad y calidad, de la que se encuentra en el rumen del animal hospedador.

Los resultados de estudios de la fermentación ruminal *in vitro* están influenciados por varios factores, siendo de los más importantes la fuente y la actividad del inóculo microbiano, y por lo tanto el tipo de poblaciones microbianas presentes en el líquido ruminal utilizado como inóculo. Es por ello que la aplicación de técnicas moleculares al análisis del líquido de fermentación de cultivos en sistemas *in vitro* representa una posible mejora en el estudio y desarrollo de los diferentes sistemas de incubación *in vitro*. Algunas técnicas moleculares permiten la cuantificación directa de diferentes cepas microbianas en el inóculo ruminal y en el líquido de fermentación *in vitro*, como por ejemplo la reacción en cadena de polimerasa cuantitativa en tiempo real (qPCR) y otras permiten analizar la diversidad de las poblaciones (ARISA, DGGE, TRFLP...). A pesar de la importancia de este aspecto, son relativamente pocos los estudios realizados sobre el mismo (Soto *et al.*, 2013)

La utilización de fermentadores ruminales para el estudio de la fermentación ruminal *in vitro* permite mantener las incubaciones durante períodos de varios días o incluso semanas y, por tanto, se producen cambios cuantitativos y cualitativos en las poblaciones microbianas durante el período de incubación. Las poblaciones microbianas y su abundancia relativa también varían con los cambios en la composición de los alimentos y las condiciones de manejo de los fermentadores, que

pueden tener una influencia variable en los microorganismos desarrollados cuando se incuban diferentes dietas. Algunos estudios han abordado estos aspectos en fermentadores de flujo continuo (Muetzel *et al.*, 2009; Soto *et al.*, 2012), pero no existe información relativa a las poblaciones microbianas que se desarrollan en fermentadores de flujo semicontinuo (RUSITEC).

Con estos antecedentes el objetivo de este trabajo fue analizar diferentes factores que afectan a la fermentación ruminal *in vitro* y a los microorganismos ruminales que se desarrollan en cultivos no renovados de microorganismos ruminales y en fermentadores RUSITEC. Para lograr este objetivo general se plantean los siguientes objetivos específicos:

- 1) Evaluar la influencia del tipo de dieta administrada a los animales donantes de líquido ruminal e incubada en cultivos no renovados de microorganismos ruminales sobre los efectos de dosis crecientes de aceite de ajo y cinamaldehído en la fermentación ruminal *in vitro*.
- 2) Evaluar cómo los cultivos no renovados de microorganismos ruminales pueden reproducir la fermentación ruminal *in vivo* de dietas de composición variable y analizar los cambios producidos en las comunidades bacterianas durante el período incubación, determinados mediante el análisis automático del espacio intergénico ribosomal (ARISA).
- 3) Evaluar el efecto del procesado del contenido ruminal en las poblaciones microbianas (bacterias, protozoos, hongos y arqueas metanogénicas) y la diversidad bacteriana en el líquido obtenido y sobre los parámetros de fermentación ruminal *in vitro* usando este fluido como inóculo.
- 4) Evaluar la evolución de las poblaciones microbianas (bacterias, protozoos, hongos y arqueas metanogénicas) y de las características de la fermentación durante el periodo de incubación en fermentadores RUSITEC que recibían dos dietas diferentes.

REVISION BIBLIOGRAFICA

El rumen y sus microorganismos

Los animales rumiantes poseen la capacidad de transformar alimentos vegetales indigestibles para los humanos en alimentos de eleva-

do valor nutritivo para nuestra especie. Esta característica está asociada fundamentalmente a las diferencias anatómicas y funcionales del aparato digestivo de los rumiantes con respecto a otros grupos animales. En los rumiantes el estómago se encuentra dividido en cuatro compartimentos diferenciados anatómicamente y funcionalmente. El rumen es el mayor de los preestómagos y su interior se encuentra dividido en compartimentos denominados sacos, separados entre sí mediante pilares musculares, formando junto al retículo una cámara de fermentación (Van Soest, 1994). El omaso es la siguiente cavidad y su mucosa presenta papilas en forma de hoja que absorben agua y minerales y cuya principal función es evitar el paso de partículas de gran tamaño del retículo al abomaso (Van Soest, 1994). Por último, el abomaso presenta una mucosa de tipo glandular y secreta mucus, pepsinógeno y ácido clorhídrico, de forma similar al estómago de los animales monogástricos (Van Soest, 1994). En el tracto gastrointestinal de los rumiantes se establece un complejo ecosistema microbiano capaz de degradar los hidratos de carbono estructurales presentes en los vegetales que ingiere el animal (Cheng *et al.*, 1991). Así, los rumiantes utilizan como nutrientes los productos finales de la fermentación, por parte de los microorganismos, del alimento ingerido, y los nutrientes que forman parte de dichos microorganismos cuando estos pasan a tramos posteriores del tracto gastrointestinal (abomaso e intestino delgado) (Asplund, 1994).

El contenido ruminal se encuentra estratificado en función de la densidad de sus componentes (Cheng y McAllister, 1997). En la parte superior se acumulan los gases producidos durante la fermentación. El material sólido o semisólido se sitúa en la parte central del rumen formando una matriz y en la parte inferior se encuentra el líquido, junto con las partículas más pequeñas de alimento en suspensión. El contenido ruminal se mezcla gracias a contracciones (Van Soest, 1994) que hacen que el líquido ruminal circule a través del sólido, arrastrando partículas solubles y microorganismos hacia tramos posteriores del tracto gastrointestinal. Además, existen contracciones secundarias que favorecen los procesos de rumia y eructación. La rumia es la regurgitación de parte del contenido ruminal hacia la boca, donde se vuelve a masticar e insalivar antes de ser deglutido (Van Soest, 1994). Es un proceso cíclico y al tiempo dedicado a rumiar es directamente proporcional a la cantidad de fibra ingerida. La eructación permite a los rumiantes eliminar el gas producido en el rumen durante los procesos fermentativos, principalmente dióxido de carbono y metano. La actividad del rumen está regulada por el sistema nervioso parasimpático y

responde al estímulo de diversos receptores. Los mecanorreceptores bucales se estimulan cuando el animal está masticando, tanto durante la alimentación como durante la rumia y provocan, de forma refleja, un aumento de la frecuencia de las contracciones ruminales. Existen además receptores de presión que miden el grado de distensión de la capa muscular del rumen, abomaso e intestino y que favorecen la motilidad cuando detectan distensión en las paredes ruminales. Los alimentos forrajeros, más voluminosos, favorecen la motilidad ruminal y los procesos fermentativos más que los alimentos concentrados, al distenderse más las paredes ruminales. También existen en el rumen receptores de tipo químico que detectan cambios en el pH, la concentración de ácidos grasos volátiles y la osmolaridad.

El rumen es un ecosistema anaerobio microbiano habitado por una compleja población de microorganismos como bacterias, hongos, protozoos y arqueas que viven en simbiosis con el animal hospedador. El rumen proporciona a los microorganismos un ambiente idóneo para su desarrollo.

Este ecosistema ruminal está compuesto por bacterias (con una concentración media de 1011 bacterias/mL), arqueas metanogénicas (109 arqueas/mL), protozoos (más de 20 especies, con cifras de 106 protozoos/mL), hongos (con densidades que alcanzan las 106 zoosporas/mL) y bacteriófagos (1010 virus/mL) (Morgavi *et al.*, 2013). El ecosistema ruminal se encuentra en constante cambio; los diferentes individuos están interrelacionados entre sí y con el medio y al poseer diferentes estrategias de utilización de los recursos es posible mantener la diversidad de las comunidades (Czerkawski, 1986). Existe un considerable grado de interdependencia entre las diferentes especies, utilizando unas los productos de desecho del metabolismo de otras. Las interacciones entre los microorganismos ruminales contribuyen a la estabilidad y adaptabilidad del ecosistema ruminal y juegan un papel importante en la adaptación a diferentes alimentos, cambios en las raciones u otros factores. Pero estas interacciones son difíciles de estudiar (Doré y Gouet, 1991). Existe competencia entre las especies por los sustratos y el éxito de cada una dependerá del ritmo de transporte de los mismos al interior de la célula y su ritmo de fermentación.

Los microorganismos ruminales crecen y se desarrollan cuando las condiciones ambientales son adecuadas. En el rumen existe un flujo constante de contenido hacia el abomaso y, por tanto, el ritmo de división celular de los microorganismos debería, teóricamente, ser mayor

que ese ritmo de paso para asegurar su supervivencia. Sin embargo, en la práctica, el rumen permite numerosos ritmos de crecimiento ya que muchos de los microorganismos se encuentran adheridos a las partículas de alimento jugando un papel muy importante en la degradación de los alimentos fibrosos.

Estudios *in vitro* de la fermentación ruminal

El rumen y todo lo que en él acontece ha supuesto, para los investigadores, un importante desafío científico (Czerkawski, 1986). Es un sistema fluctuante, en el cual ocurren de forma simultánea procesos de fermentación, secreción y absorción de productos y flujos en diferentes direcciones y a diferentes velocidades, y como ecosistema acoge una constante relación de acción-reacción entre los factores bióticos (los microorganismos ruminales) y abióticos (como la temperatura, el pH, etc.) y a su vez con el animal hospedador. Aunque se tenga acceso a su interior por medios quirúrgicos, el estudio de estos procesos *in vivo* resulta complejo por la dificultad para el control de todos los factores implicados (Bryant y Robinson, 1968).

Es por ello que, en el interés por conocer el medio ruminal y lo que allí sucede, se comenzó a tratar de simular *in vitro* la fermentación ruminal dando paso al desarrollo de diferentes sistemas.

Reseña histórica

Durante muchos años se hicieron intentos de aislar pequeñas fracciones del contenido del rumen y que esas fracciones continuaran fermentando bajo condiciones controladas en el laboratorio (Czerkawski, 1986). Los intentos por construir un rumen artificial han sido numerosos, (Johnson, 1963). A finales del siglo XIX, entre 1874 y 1882, varios autores llegaron de forma independiente a la conclusión de que los microorganismos eran responsables de la desaparición de la celulosa en el tracto gastrointestinal de los rumiantes (Marston, 1948). Entre 1882 y 1888, Tappeiner realizó los primeros intentos de simulación de la fermentación *in vitro* (Marston, 1948), incubando líquido ruminal junto con pulpa de celulosa y algodón y viendo cómo estos materiales desaparecían concluyendo que se producía una degradación de la celulosa, asociada además a la producción de AGV, CO₂ y CH₄. En 1891, Zuntz postuló que el nitrógeno no proteico (NNP) era convertido en proteína por los microorganismos del rumen, y que por tanto estos contribuirían a suplir los requerimientos proteicos del animal, aunque ape-

nas existía aún un conocimiento del ecosistema ruminal. En 1922 Henneberg (citado por Baker y Harriss, 1947) utilizó por primera vez el microscopio para observar la comunidad bacteriana relacionada con la degradación de la celulosa, y posteriormente autores como Hungate en 1950 comenzaron a aislar algunas especies para profundizar en su estudio.

En 1938, Woodman y Evans estudiaron la digestión de la celulosa y concluyeron que la glucosa sólo era un intermediario en la digestión en el rumen, siendo los productos finales de la digestión los AGV y otros ácidos como el láctico y el pirúvico. En 1943, Quin utilizó frascos cerrados herméticamente y midió el gas producido durante la fermentación con un manómetro, concluyendo que había una relación directa entre la digestión ruminal y la actividad bacteriana, y que por tanto la nutrición de los rumiantes estaba ligada a los productos que se derivan del metabolismo microbiano.

Pearson y Smith (1943) diseñaron un sistema que consistía en un tubo de ensayo provisto de cierre con una válvula para la salida de los gases de fermentación. Estos autores añadieron urea y sales a su medio de cultivo ratificando la utilización de la urea para la formación de proteína microbiana y su hidrólisis hasta NH_3 , hecho que había sido demostrado previamente por Wegner *et al.* (1940). Más tarde se incorporó el borboteo de gas y la agitación del sistema, y posteriormente la conexión de un sistema de recogida intermitente del gas producido en la fermentación (Czerkawski y Breckenridge, 1969b). La cantidad de información que proporcionaba este sistema era limitada, pero con diferentes variaciones en su construcción, como la adición de sales (sulfatos y fosfatos) y minerales traza, fue empleado para evaluar la fermentación *in vitro* de la celulosa por parte de los microorganismos ruminales (Marston 1948) y para el estudio de la actividad de los microorganismos de rumen de bovino y su relación con el timpanismo ruminal (Hungate *et al.*, 1955).

En 1948, McDougall publicó la composición de una solución amortiguadora que podía utilizarse como sustituto de la saliva de los rumiantes, hecho que fue de vital importancia para el desarrollo de las técnicas *in vitro* (Johnson, 1963).

En 1956, Warner estableció tres criterios necesarios para que un sistema *in vitro* fuera válido a la hora de representar las condiciones *in vivo*:

- 1) que mantuviera las cantidades, apariencia y proporciones de las bacterias, y protozoos
- 2) que mantuviera unas tasas normales de degradación de la celulosa, el almidón y las proteínas
- 3) que fuera capaz de predecir de forma cuantitativa los resultados obtenidos *in vivo*.

A partir de ese momento, numerosos autores han tratado de diseñar sistemas que cumplieran estos requerimientos, con mayor o menor éxito dependiendo de los trabajos (Warner 1956, Adler *et al.*, 1958; Davey *et al.*, 1960; Bowie, 1962; Gray *et al.*, 1962; Harbers y Tillman, 1962). Gray *et al.* (1962) diseñaron un rumen artificial complejo, con el cual encontraron que la formación de AGV a partir de un sustrato dado era similar a lo que ocurría en el rumen de los animales que recibían la misma dieta. En 1963, Johnson sugería algunos campos de la investigación en los que las técnicas *in vitro* podían ser herramientas de gran valor:

- 1) Digestión de la celulosa y factores que la afectan
- 2) Utilización del nitrógeno no proteico
- 3) Metabolismo intermediario en cultivos puros y mixtos
- 4) Estudios de simbiosis entre microorganismos ruminales
- 5) Técnicas de valoración de sustancias con posibles efectos positivos sobre la fermentación ruminal, para realizar cribados y escoger la dosis óptima
- 6) Evaluación de la digestión de los forrajes

En 1964, Slyter *et al.*, desarrollaron uno de los primeros sistemas que permitían el cultivo de microorganismos ruminales *in vitro* mantenido en el tiempo (durante unas semanas en este caso) pudiendo investigar cómo evolucionaban las comunidades microbianas con el paso de los días, mediante el conteo de protozoos en el microscopio y la extracción del DNA bacteriano para medir su concentración. Hoover *et al.* (1976a, b) intentaron simular el flujo de partículas de distintos tamaños en el rumen, incorporando un filtro. En un principio se diseñó el sistema para cambiar el filtro cada 24 horas, pero pronto se comprobó que era necesario cambiarlo con más frecuencia. Czerkawski, 1986,

opina que no debe ser el sistema el que marque la velocidad de flujo de las partículas, y por ello en 1977 propone el uso del RUSITEC (Rumen Simulation Technique) como un aparato relativamente simple diseñado para estudiar la distribución, síntesis y flujo microbianos en el conjunto de un sistema complejo y heterogéneo como es el ambiente ruminal.

Desde entonces los sistemas *in vitro* se han convertido en una herramienta útil también para examinar los procesos metabólicos que tienen lugar durante la fermentación de los alimentos, y se han usado para estimar la fermentación *in vivo* y analizar las cinéticas de fermentación y las propias comunidades microbianas. Suponen una simplificación importante del complejo proceso de fermentación ruminal pero generan información que es de gran utilidad para el posterior diseño de los ensayos *in vivo* (Merry *et al.*, 1990) complementando así este tipo de ensayos. Son utilizados ampliamente, por ejemplo, para comparar el efecto de diferentes dosis de un aditivo sobre distintos substratos fermentables (Busquet *et al.*, 2004; Cardozo *et al.*, 2005; Busquet *et al.*, 2006; Bodas *et al.*, 2008; Garcia-Gonzalez *et al.*, 2008; Fujisawa *et al.*, 2009; Kongmun *et al.*, 2010; Tekippe *et al.*, 2012; Mateos *et al.*, 2013)

De los numerosos sistemas que se han propuesto en la bibliografía, más de la mitad no han vuelto a ser utilizados por sus autores (Czerkawski, 1986), ya que la complejidad del sistema dificulta la repetibilidad de los experimentos.

Tipos de sistemas *in vitro*

Existen diferentes formas de clasificar los sistemas de cultivo *in vitro* (Czerkawski, 1986; Blanchart *et al.*, 1989); estas clasificaciones se basan en si el sistema es abierto, permitiendo escapar así a los gases producidos durante la fermentación, o cerrado, siendo los gases recogidos; si existe o no intercambio de sólido o líquido, si poseen o no membranas semipermeables, y si la fermentación se produce de forma continua en el tiempo (semanas, o incluso varios meses) o está limitada a unas horas o unos pocos días. La duración depende de si existen entradas de alimento y solución tampón al sistema y salida de efluentes o no.

Cultivos no renovados de microorganismos ruminales (CNRMR)

Los CNRMR son un sistema *in vitro* de cultivo de microorganismos ruminales con un medio de cultivo tamponado y no limitante en un recipiente cerrado herméticamente en el que se ha colocado un sustrato determinado (alimento). Durante la incubación no se añade medio

de cultivo, contenido ruminal, ni sustrato. El gas producido se acumula en el espacio libre que queda en el recipiente.

Cuando se incuba en el laboratorio un alimento con fluido ruminal en condiciones anaerobias y a una temperatura similar a la del rumen, los carbohidratos son fermentados por los microorganismos, produciéndose AGV (principalmente acético, propiónico y butírico; Beuvinck y Spoelstra, 1992; Blümmel y Ørskov, 1993), gases (fundamentalmente dióxido de carbono, metano e hidrógeno; Van Soest, 1994) y células microbianas, al igual que ocurre *in vivo* en el rumen. Por lo tanto, la medida de la producción de gas *in vitro* puede ser utilizada para estimar la tasa y extensión de la digestión de los alimentos (Hungate, 1966) y el estudio de la cinética de fermentación.

Los gases se producen directamente como consecuencia de la fermentación del alimento, y también de forma indirecta por la neutralización de los ácidos con el bicarbonato de la solución tampón, liberándose de forma indirecta CO₂, aproximadamente el 60% de la producción total de gas según Getachew *et al.* (1998). Algunos autores han indicado que la mayor parte se produce cuando el sustrato es fermentado a acético y butírico, y en mucha menor medida, propiónico (Wolin, 1960; Hungate, 1966; Van Soest, 1994); sin embargo, las proporciones molares de los principales AGV producidos (acético, propiónico y butírico) dependen del tipo de sustrato (Beuvinck y Spoelstra, 1992; Blümmel y Ørskov, 1993) y por ello la relación molar acético:propiónico (Ac:Pr) ha sido utilizada para evaluar diferencias en la fermentación debidas al sustrato. Los carbohidratos de fermentación rápida dan lugar a mayores cantidades de propiónico en comparación con el acético, y cuando lo que se incuba son carbohidratos de degradación lenta ocurre lo contrario (Ørskov y Ryle, 1990).

En los CNRMR se pueden aplicar las leyes estequiométricas de equilibrio, debido a que los productos de la fermentación derivan del sustrato que se incuba (Van Soest, 1994). Varios autores (Beuvinck y Spoelstra, 1992; Blümmel y Ørskov, 1993; Opatpatanakit *et al.*, 1994) han encontrado una alta correlación entre la producción de gas calculada estequiométricamente y los valores reales registrados. De esta forma, si se conoce la proporción molar y la cantidad de AGV, se pueden estimar las cantidades de CO₂ y CH₄ esperadas como consecuencia de la fermentación ruminal.

La estrecha relación entre fermentación ruminal y producción de gas había sido reconocida hace más de un siglo (Tappeiner, 1882), pero

hasta principios de los años 40 del siglo pasado no se diseñaron técnicas que permitieran medir el gas de fermentación (Quin, 1943). Gran parte de los primeros estudios sobre la medida del gas se han centrado en el uso de métodos manométricos. (McBee, 1953) desarrolló un método de este tipo para la evaluación de la actividad microbiana ruminal con respecto a la fermentación de la celulosa y la hemicelulosa, y concluyó que la tasa de fermentación de los diferentes sustratos en el rumen no es constante, sino que está sujeta a amplias fluctuaciones que dependen de la composición de la dieta del animal. Utilizando este mismo método, este autor examinó la preferencia de los microorganismos por diferentes componentes del alimento, añadiendo a la dieta de ovejas donantes celulosa y posteriormente hemicelulosa, y encontró que aquellos que son capaces de fermentar la celulosa también pueden degradar las hemicelulosas, pero no al contrario. Czerkawski y Breckenridge (1969a) desarrollaron un aparato para medir manométricamente la presión con el fin de investigar el efecto de la adición de ácidos grasos en la fermentación de la pulpa de remolacha y la sacarosa por una mezcla de microorganismos ruminales. Mediante este método, observaron que durante una incubación de corta duración (6-8 horas), el patrón de fermentación de este producto era similar al que se observaba *in vivo*, mientras que la adición de ácidos grasos en forma de aceite de semillas de lino inhibía temporalmente la producción de gas. El aparato construido por estos autores consistía en cinco unidades de fermentación y permitía hacer de 4 a 5 incubaciones simultáneas al día, pero no resultaba sencillo hacer más de dos durante una semana de trabajo, ya que representaba mucho trabajo la preparación de la prueba y el análisis de todas las muestras generadas. Para superar este inconveniente, en 1970 desarrollaron un sistema de jeringas con una capacidad de diez unidades. Sin embargo, tampoco estas diez unidades fueron suficientes para aceptar el sistema como un método rutinario de evaluación de alimentos, por lo que este método no ha sido muy utilizado posteriormente.

En 1979 Menke *et al.*, a partir de datos de 89 experimentos, encontraron una alta correlación entre la producción de gas *in vitro* y la digestibilidad aparente de la materia orgánica *in vivo* y, desde este momento, la técnica de producción de gas fue adoptada como un método rutinario para predecir la digestibilidad de la materia seca con la ayuda de un modelo matemático, aunque aún no se ha encontrado una ecuación de regresión que pronostique de forma satisfactoria los valores de degradación de un amplio rango de forrajes (Van Soest, 1994). Basándose en estos resultados, Menke *et al.* (1979) concluyeron que la pre-

dicción de la energía metabolizable es más precisa cuando está basada en medidas de gas y de constituyentes químicos, comparada con los cálculos basados únicamente en estos últimos. Este trabajo ha sido revisado posteriormente por Steingass y Menke (1986) y Menke y Steingass (1988), y otros autores (Chenost *et al.*, 1997; Fernández-Rivera, 1997; Macheboeuf *et al.*, 1997) han observado también esta correlación significativa entre la medida de gas *in vitro* y la digestibilidad *in vivo*. Los CNRMR se han utilizado también en la evaluación de la interacción entre dietas (básicas y suplementadas) incubando ambas, bien por separado, bien combinadas, y midiendo la producción de gas en diferentes horas de incubación (Sampath *et al.*, 1995; Tagliapietra *et al.*, 2014).

En el método de Theodorou *et al.* (1994), la presión acumulada en el espacio de cabeza del recipiente de fermentación se mide con un transductor de presión digital. Y el volumen de gas producido mediante una jeringa, hasta que la presión en el transductor sea igual a cero. El método de Theodorou *et al.* (1994) requería sólo un transductor de presión, mientras que en la técnica descrita por Pell y Schofield (1993) cada botella de incubación tenía su propio sensor de presión. La ventaja del método de Theodorou *et al.* (1994) es que se pueden manejar un gran número de muestras al mismo tiempo con un bajo coste. En estas técnicas la presión acumulada no siempre se libera durante el transcurso del estudio, y esto puede afectar negativamente a la fermentación microbiana. Además, un incremento en la presión puede cambiar la solubilidad de los gases en el medio, lo que puede producir errores en la medida del gas. Por ello son técnicas adecuadas para incubaciones de corta duración (horas).

La cinética de producción de gases depende de la proporción relativa de partículas (solubles / insolubles y degradables / indegradables) del alimento. Mientras que otros métodos *in vitro* están basados en medidas gravimétricas que siguen la desaparición de componentes del sustrato que pueden contribuir a la fermentación, los CNRMR se centran en la aparición de productos de fermentación (los productos solubles pero no fermentables no contribuyen a la producción de gas), con lo cual proporcionan un valor más ajustado de la fermentación que la simple estimación gravimétrica (Blümmel y Ørskov, 1993; Pell y schofield, 1993). En los CNRMR se puede estudiar la cinética de la fermentación en una cantidad relativamente pequeña de sustrato (300-500 mg), y también se puede evaluar y seguir en el tiempo la cinética de fermentación de un número elevado de muestras al mismo tiempo. En general,

los CNRMR son de manejo sencillo y su coste no es elevado (Menke *et al.*, 1979; Theodorou *et al.*, 1994) en comparación con otros métodos *in vitro*. También permiten la incubación de una mayor cantidad de muestra incrementando el volumen de los recipientes de incubación (Hungate *et al.*, 1955). Además, requieren poca (6-10 mL por botella) cantidad de inóculo al comienzo del experimento.

Al ser un sistema cerrado, en los CNRMR no se puede simular el efecto del flujo de líquido y sólido sobre la eficiencia de síntesis microbiana ni se puede evitar la inhibición de la actividad enzimática cuando se acumulan en el medio los productos de fermentación, por lo que se pueden producir desviaciones en la estimación de los procesos fermentativos. La alta proporción de solución tampón que se mezcla con el inóculo al comenzar un experimento es necesaria para mantener los valores de pH durante el proceso fermentativo, caracterizándose por presentar altos valores de pH durante toda la incubación, no pudiendo así reproducir las oscilaciones de pH típicas del rumen; la incubación se realiza normalmente a pH entre 6,5 y 6,9.

Existen sistemas semi-automatizados como el presentado por Mauricio *et al.*, (1999) que describieron un aparato que permitía incubar 336 frascos al mismo tiempo, lo cual reducía el tiempo necesario para estudiar las características de fermentación de un elevado número de alimentos al mismo tiempo. Sin embargo, las ventajas de la automatización son motivo de discusión. Los CNRMR automatizados permitirían la evaluación de un número elevado de muestras o tratamientos, pero ello implica una mayor demanda de mano de obra e incrementa los costes, por lo que Getachew (1998) sugiere que no tienen una amplia aplicabilidad en evaluaciones de alimento rutinarias y no son adecuados para el análisis de una gran cantidad de muestras o tratamientos.

Se da también una falta de consenso sobre distintos aspectos de los CNRMR y sus verdaderos alcances (Beever y Mould, 2000; Pell *et al.*, 2000). El principal error que se comete es asumir que la producción de gas es directamente proporcional a la digestión del sustrato, y por lo tanto a su valor nutritivo (Beever y Mould, 2000). Esto no es estrictamente cierto, ya que la producción de gas depende de la composición del sustrato, de las comunidades microbianas que se desarrollen en el cultivo y de la utilización de los nutrientes por parte de los microorganismos para su crecimiento. Por ejemplo, los alimentos precursores de ácido propiónico (en su mayor parte aquellos ricos en almidón) producen menos gas que aquellos que dan lugar a acético y butírico (Wi-

lliams, 2000), y la presencia de amoníaco en forrajes ricos en proteína puede hacer decrecer la producción de gas indirecto por una reacción con los AGV, que evita que estos reaccionen con el buffer para liberar CO₂ (Schofield 2000). Como consecuencia de esto, varios autores concluyeron que la producción de gas *in vitro* proporciona poca información aparte de la estimación de las tasas de fermentación, por lo que se sugirió que los datos obtenidos deberían ser complementados con datos de degradación de los sustratos, perfiles de AGV y crecimiento bacteriano (Blümmel y Bullerdick, 1997; Blümmel *et al.*, 1997; Beever y Mould, 2000). Así, la producción de gas *in vitro* complementada con análisis químicos en el residuo (como la fibra neutro detergente (FDN), fibra ácido detergente (FAD) o materia orgánica (MO)) permite ofrecer una información más precisa acerca del valor nutritivo de los alimentos. En este enfoque, la determinación del residuo y su composición química nos indica cuánto sustrato se ha utilizado realmente en la fermentación, y la medida de gas indica cuánto de este sustrato fermentado se convierte en AGV y gases. Ha sido demostrado (Blümmel, 2000; Rymer *et al.*, 2005) que la medida de la producción de gas *in vitro*, cuando se combina con medidas de la degradabilidad real del sustrato, es un método adecuado para predecir el reparto del alimento degradado entre la síntesis de proteína microbiana y los AGV (proporción del alimento que es fermentado y del que es derivado al crecimiento microbiano), así como el CO₂, CH₄ y H₂ producidos.

Además de haber sido ampliamente utilizados para evaluar la calidad nutritiva de los alimentos (Pell *et al.*, 1998), los CNRMR se pueden utilizar para la estimación de la actividad microbiana (Williams *et al.*, 2000; Macheboeuf *et al.*, 2008), la evaluación de la toxicidad de algunos compuestos secundarios (Min *et al.*, 2003; Ammar *et al.*, 2004) y el estudio del efecto de algunos aditivos alimentarios en la fermentación ruminal (Carro y Ranilla, 2003; Colombatto *et al.*, 2003; Carro *et al.*, 2005; Busquet *et al.*, 2006; Calsamiglia *et al.*, 2007; Giraldo *et al.*, 2007; Benchaar *et al.*, 2008; Klevenhusen *et al.*, 2011; Chaudhry y Khan, 2012; Tekippe *et al.*, 2012, Mateos *et al.*, 2013).

Fermentadores

En 1965, Hobson reconoció la analogía entre el rumen y los sistemas de fermentadores de cultivo continuo, y posteriormente se han hecho numerosos intentos para diseñar nuevos sistemas de fermentadores que permitieran mantener los cultivos más tiempo que los CNRMR. Estos sistemas fueron simples en el comienzo y paulatinamente fueron

derivando en métodos más complejos, en los que los diferentes investigadores iban introduciendo modificaciones con el fin de obtener resultados cada vez más relacionados con los obtenidos *in vivo*. Los sistemas más complicados son capaces de mantener la fermentación durante semanas; en la mayor parte de ellos las tasas de renovación de sólidos y líquidos pueden ser fijadas independientemente, y los productos finales son retirados del sistema por extravasación, filtración o diálisis.

Los sistemas de cultivo continuo, como el resto de sistemas de fermentación *in vitro*, presentan ventajas e inconvenientes. No son aptos para incubaciones a corto plazo, ya que requieren varios días de adaptación de los microorganismos al nuevo ambiente. Requieren, además, de un equipamiento complejo (sistema de infusión de líquido, sistema de regulación constante del pH, sistema de agitación, de control de temperatura y de salida continua de gas) para mantener las condiciones de simulación del ambiente ruminal.

Se han propuesto muchos modelos diferentes, entre ellos los de Slyter *et al.*, 1964; Aafjes y Nijhof, 1967; Weller y Pilgrim, 1974; Ewart, 1974; Hoover *et al.*, 1976a, b; Czerkawski y Breckenridge, 1977; Crawford *et al.*, 1980a, b; Abe y Kurihara, 1984; Czerkawski, 1986; Teather y Sauer, 1988; Fuchigami *et al.*, 1989; Hino *et al.*, 1993; Muetzel *et al.*, 2009.

Algunos autores (Abe y Kumeno, 1973; Nakamura y Kurihara, 1978) intentaron simular *in vitro* la absorción de productos finales de la fermentación a través de las paredes ruminales mediante el uso de membranas semipermeables de diálisis. Estos modelos son muy complejos y en ellos no se pueden incubar sustratos sólidos, por lo que su uso no está muy extendido.

Mientras que los CNRMR son cerrados (sin entradas ni salidas de sólido o líquido), los fermentadores son cultivos de tipo continuo que permiten estas entradas y salidas. Se pueden clasificar en:

- Sistemas de fermentación y flujo continuos (*continuos culture fermenters, CCF*), con entrada continua de solución tampón y sustrato y salida de efluente líquido y sólido de forma ininterrumpida. Dentro de este grupo están los de flujo simple donde sólido y líquido salen a la vez, como el modelo de Teather y Sauer (1988), que se basa en la estratificación del contenido del fermentador y su salida homogénea simulando la del contenido ruminal; y los de flujo doble, en los que sólidos y líquidos entran independientemente, como el de

Hoover *et al.* (1976a, b), que presenta un flujo diferenciado de entrada y salida de las fases sólida y líquida con el fin de intentar mantener estables las comunidades microbianas más sensibles a ritmos de paso elevados.

En estos sistemas tanto la fase líquida como la sólida fluyen de forma ininterrumpida fuera del sistema. En los de flujo continuo simple la tasa de dilución para el sólido y el líquido es la misma, ya que salen del fermentador a la vez. En los sistemas de flujo doble se mantienen tasas de dilución independientes para líquidos y sólidos, lo que simula la renovación diferencial que tiene lugar en el ambiente ruminal. Los sistemas de cultivo continuo de flujo doble han proporcionado razonables estimaciones de la fermentación ruminal, y han sido empleados en una gran cantidad de estudios (Calsamiglia *et al.*, 1995 y 1999; Mansfield *et al.*, 1995; Carro y Miller, 1999; Schadt *et al.*, 1999; Busquet *et al.*, 2005; Fraser *et al.*, 2007; Muetzel *et al.*, 2009; Chaves *et al.*, 2009; Carro *et al.*, 2009; Soto *et al.*, 2012; Abecia *et al.*, 2014; Martínez-Fernández *et al.*, 2015).

Una ventaja de estos sistemas es que no es necesario parar el motor ni abrir los fermentadores en ningún momento para introducir el alimento, evitando así que los microorganismos se expongan al oxígeno. Sin embargo, presentan inconvenientes como la posibilidad de atascos en el sistema de salida o la homogeneidad del contenido del fermentador, que no reproduce la estratificación existente en el rumen. No obstante, algunos modelos, como el de Teather y Sauer (1988) han tratado de simular este fenómeno mediante la agitación suave producida por una pequeña hélice introducida en el fermentador. En algunos CCF se introdujeron modificaciones que simularan la permeabilidad de la pared del rumen (lo que posibilita la retirada de productos finales) colocando una membrana semipermeable (Warner, 1956; Davey *et al.*, 1960; Hungate, 1966). Sin embargo, según Czerkawski, en 1986, el uso de membranas semipermeables tiene inconvenientes: es difícil que la membrana no sea atacada por los microorganismos, no se puede usar sustrato sólido y es difícil controlar el flujo por ósmosis. Por otro lado, al existir una entrada más o menos continua de alimento en el sistema, resulta difícil simular las oscilaciones diarias del pH (Carro *et al.*, 2005), situación que se produce *in vivo* cuando los animales comen una o más veces al día.

- Sistemas de fermentación continua y de flujo semi continuo, con entrada continua de solución tampón, entrada y salida puntuales de

sustrato (alimentación intermitente) y salida continua del efluente líquido. El tipo más conocido es el RUSITEC (Rumen Simulation Technique; Czerkawski y Breckenridge, 1977) y es en el que mayor número de trabajos se ha utilizado, tanto en su versión original o con modificaciones (Blanchart y Vignon, 1984; Carro *et al.*, 1992; Carro *et al.*, 1995).

En los sistemas de cultivo continuo, los fermentadores se inoculan al comienzo del experimento con contenido ruminal líquido y sólido. Posteriormente, se bombea continuamente una solución tampón a una velocidad conocida y fija, con lo que la salida del efluente también se produce a velocidad constante. El alimento se administra (automática o manualmente) en dosis repartidas en el tiempo (Hoover *et al.*, 1976a, b; Teather y Sauer 1988) o mediante introducción diaria y puntual en bolsas de nailon, como en el RUSITEC (Czerkawski y Breckenridge, 1977).

En este sistema, la entrada de solución tampón a una velocidad prefijada produce un flujo más o menos constante de salida de productos de fermentación y microorganismos junto con la fase líquida, mientras que la sólida es introducida en bolsas porosas en el interior de los fermentadores y retirada de forma puntual, manualmente, a intervalos de tiempo constantes. El alimento se puede incubar en conjunto o bien separándolo según su naturaleza, por ejemplo el alimento fibroso en una bolsa y el concentrado en otra, ambas dentro del mismo fermentador, ya que la separación espacial de los componentes del alimento no resulta en una fermentación anormal (Czerkawski y Breckenridge, 1978).

En un RUSITEC, como en el rumen, los microorganismos de la fase líquida se separan de los que están asociados a la masa sólida de alimento, en este caso contenida en el interior de las bolsas de nailon. El intercambio entre estas fracciones microbianas es posible gracias a la perfusión continua del líquido a través del sólido (Czerkawski y Breckenridge, 1977). Gizzi *et al.* (1998) asumieron que este sistema *in vitro* alberga comunidades microbianas que representan el ecosistema natural del rumen. Sin embargo, se necesita una estandarización del procedimiento de muestreo y de los parámetros de incubación para permitir una mejor comparación de los datos entre laboratorios.

Czerkawski en 1986 resume las ventajas del RUSITEC en algunos puntos clave:

- Se proporciona al operador el máximo control sobre las condiciones experimentales, por encima de los fermentadores de flujo continuo (CCF). Permite determinar de forma precisa todas las entradas y salidas, incluyendo los gases.
- El alimento se puede administrar en estado sólido y en una forma similar a la que reciben los animales *in vivo*, y así el sistema puede reproducir las condiciones heterogéneas del rumen.
- La cantidad de sólido que abandona los fermentadores se conoce de forma precisa, porque se retira manualmente.
- Permite realizar incubaciones con sus respectivas réplicas de forma simultánea en el tiempo (un RUSITEC estándar posee ocho fermentadores independientes que se mantienen bajo las mismas condiciones de temperatura y agitación).

Además, según Carro *et al.*, 2005, las fluctuaciones del pH que ocurren en el RUSITEC parecen ser similares a las que ocurren *in vivo* en comparación con un CCF.

El tiempo requerido para alcanzar el estado estacionario, entendiendo este como aquel en el que la salida diaria de productos de fermentación (AGV, NH₃ y lactato) no varía de forma significativa durante varios días consecutivos, es de 4 a 6 días según Czerkawski y Breckenridge, 1977. Estimar correctamente cuanto es el tiempo de adaptación al sistema representa una dificultad en el uso del sistema RUSITEC. Es necesario esperar a que las comunidades microbianas alcancen un equilibrio que, además, es diferente al que había en el inóculo (Prevot *et al.*, 1994).

Al comenzar una incubación, se añade un gran volumen de saliva artificial (McDougall, 1948) al fluido ruminal, conduciendo a un rápido aumento en el pH y por tanto a la modificación de las condiciones respecto a las existentes en el rumen en el momento de recogida del inóculo. La regulación del pH durante la incubación depende de la entrada de saliva gracias a las bombas peristálticas. En el RUSITEC es necesario detener el motor del aparato y abrir los fermentadores una vez al día para introducir nuevas bolsas de nailon con alimento. Esta operación expone a los microorganismos ruminales al oxígeno y el equilibrio entre las comunidades microbianas (en este caso la relación anaerobios estrictos/ facultativos) puede verse alterado.

Factores que afectan a la fermentación *in vitro*

Hay un número considerable de factores que afectan a la fermentación de los alimentos por los microorganismos ruminales, tanto *in vivo* como *in vitro* (Trei *et al.*, 1970; Beuvink y Spoelstra, 1992; Getachew, 1998). Por tanto, hay que tener en cuenta estos factores para poder optimizar la digestión *in vitro*. Las variaciones en las condiciones de los cultivos *in vitro* pueden afectar a las comunidades microbianas que en ellos se establecen (Slyter y Putnam, 1967). Según Getachew (1998) es necesaria la estandarización de procedimientos para poder realizar comparaciones entre distintos estudios, así como el desarrollo de medios matemáticos para corregir las diferencias que entre ellos pudieran presentarse.

Los factores que afectan a la fermentación pueden ser clasificados de diferentes maneras y en esta monografía se clasificarán en cuatro grupos: 1) Relacionados con el inóculo del animal, 2) Relacionados con la preparación del cultivo, 3) Relacionados con el substrato incubado y 4) Relacionados con el manejo de los sistemas *in vitro* y con el ambiente.

Relacionados con el inóculo del animal

En las técnicas de fermentación ruminal *in vitro*, la especie a la que pertenece el animal donante afecta a los resultados. Aunque las comunidades microbianas ruminales de las especies animales similares (ovejas, cabras) que están confinadas en contacto estrecho y que consumen alimentos parecidos o iguales pueden tender a la uniformidad, las diferencias intraespecíficas influyen en la microbiota (Ammar *et al.*, 2004). En la medida de lo posible, el inóculo para los ensayos *in vitro* debería siempre ser obtenido de animales similares (misma raza, edad, peso y sexo), y alimentados con las mismas dietas. Además, es importante que las muestras de varios animales sean combinadas para reducir la variabilidad (Williams, 2000) porque este factor entre animales, como se ha demostrado mediante técnicas *in situ*, puede ser mayor que la variabilidad diaria en un mismo animal (Mehrez y Ørskov, 1977).

Las condiciones de manejo de los animales donantes, su dieta y el momento de recogida del inóculo pueden tener efecto en la coherencia de los resultados entre pruebas. La dieta que reciben los animales donantes también es importante, pudiendo variar la capacidad degradativa del inóculo en función del alimento ingerido por el animal (Cone *et al.*, 1989; Richards *et al.*, 1995). Tanto la composición de la dieta como

la disponibilidad de nutrientes son importantes factores que influyen sobre el crecimiento microbiano en el rumen y la microbiota ruminal más compleja se obtiene cuando se les ofrece dietas mixtas a los animales (Mould *et al.*, 2005).

Numerosos autores (Warner, 1966 a, b; Bryant y Robinson, 1968; Leedle *et al.*, 1982; Payne *et al.*, 2002; Saro *et al.*, 2012) han observado que la estructura de las comunidades microbianas que habitan el rumen experimenta cambios cíclicos ligados a la administración del alimento por lo que la hora a la que se administra el mismo debe ser tenida en cuenta para recoger el inóculo. En las primeras horas tras la administración de alimento, se produce un marcado descenso en la cifra total de bacterias en el rumen (Saro *et al.*, 2012). Warner (1966 a, b) atribuyó esto al efecto de dilución de la comida, el agua de bebida y la saliva producida y Payne *et al.* (2002) sugieren un descenso en la actividad del inóculo ruminal recogido poco tiempo después de alimentar al animal relacionado con el bajo pH del rumen en el momento de muestreo. 8 horas después de la ingestión de la comida se incrementa la cantidad de bacterias totales hasta valores similares a los encontrados antes del suministro del alimento (Saro *et al.*, 2012). Hay que tener en cuenta que la concentración de bacterias ruminales es un balance entre el crecimiento bacteriano y su lisis, la dilución por la comida y el intercambio de partículas, y todos estos factores dependen del nivel de ingestión y del tipo de comida (Saro *et al.*, 2012).

Existe cierta controversia sobre la tasa de actividad microbiana en el inóculo y el momento óptimo de recogida para su uso en pruebas *in vitro*. Menke y Steingass (1988) sugirieron que existía una actividad microbiana óptima si los animales donantes han sido alimentados en las 16 horas previas y observaron que se redujo la variación en la composición y actividad del inóculo al muestrear el contenido ruminal justo antes de la alimentación de los animales, por lo cual este fue el momento escogido para la recogida del contenido ruminal utilizado en las pruebas de este trabajo. Sin embargo, Cone *et al* (1996) indican un incremento en la tasa de fermentación cuando el inóculo es recogido inmediatamente después de la administración del alimento. Payne *et al.* (2002) observaron que el perfil de producción de gases de diferentes substratos fue menos variable entre réplicas y entre semanas cuando el fluido ruminal fue recogido a las 4 o a las 8 horas después de alimentar a los animales, comparado con el obtenido justo antes o 2 horas después de alimentarlos.

Una vez extraído el fluido ruminal, debe depositarse en un recipiente hermético para evitar la exposición al aire y la luz y conservar la temperatura. También es importante tratar que el incremento de la presión en el espacio libre del recipiente no haga que el CO₂ entre en solución en el fluido descendiendo el pH (Rymer *et al.*, 2005). El transporte es ideal que sea lo más rápido posible para evitar una fermentación excesiva durante este periodo, y prevenir que cualquier especie o grupo se vuelva dominante y reduzca o modifique la actividad del inóculo.

Existe la posibilidad de conservar el inóculo para utilizarlo, si fuera necesario, posteriormente. Sin embargo, en la bibliografía no hay un acuerdo de cuál es la mejor forma de conservarlo (congelado o refrigerado), ni de cuánto tiempo podría almacenarse sin comprometer los resultados del experimento posterior (Cone *et al.*, 2000; Robinson *et al.*, 1999; Hervás *et al.*, 2005).

Se ha comprobado que, en ocasiones, las comunidades microbianas existentes en el inóculo son diferentes a las del rumen (Ziemer *et al.*, 2000) debido por ejemplo a que la muestra recogida no es representativa del conjunto de microorganismos ruminales (Sadet *et al.*, 2007).

Los CNRMR y los CCF, se inoculan solamente con la fase líquida del contenido ruminal, siendo el contenido previamente filtrado, normalmente, a través de varias capas de gasa. Sin embargo, en los fermentadores de flujo semicontinuo, como el RUSITEC, se separa el inóculo en sus dos fases, líquida y sólida, y se inoculan con ambas: la fase líquida, mezclada con saliva forma el inóculo líquido con el que se rellenan las vasijas y la fase sólida se introduce en una bolsa de nailon que permanece en el fermentador 24 horas. El objetivo de filtrar el contenido es eliminar las partículas groseras del alimento, que al fermentar junto con el alimento introducido en el sistema, podrían interferir con los resultados (Pell y Schofield, 1993). Sin embargo, Craig *et al.*, (1984) sugirieron que el inóculo sería más efectivo si se añadiera una fracción de las bacterias asociadas a la fase sólida (BAS), mejorando los índices *in vitro* de digestión de la fibra y degradación de la proteína. En ocasiones se trata de aumentar la presencia de bacterias asociadas a la fase sólida homogenizando el contenido antes de filtrarlo o resuspendiendo el residuo sólido en solución tampón y filtrándolo de nuevo (Colombatto *et al.*, 2003; Griswold *et al.*, 2003; Qiu *et al.*, 2004). Hay que tener en cuenta también el tamaño de poro del material utilizado para filtrar puesto que un tamaño de poro demasiado pequeño podría retener microorganismos de gran tamaño como los hongos y sobre todo los protozoos. Por otra parte, si no se realiza un tratamiento de desliga-

miento de las bacterias asociadas a la fase sólida (mayoritariamente celulolíticas) del fluido ruminal antes de utilizarlo, se corre el riesgo de eliminarlas del inóculo distorsionando los resultados de los experimentos. Sin embargo, algunos de los métodos físicos utilizados para el desligamiento, como el Stomacher[®] o el procesado con batidoras de varillas tienen también inconvenientes ya que, pueden comprometer la integridad de las células, liberando enzimas endógenas que se añadirían con el inóculo, en lugar de inocular con las células viables completas. Algunos trabajos (Mackie *et al.*, 1983; Ramos *et al.*, 2009; Fliegerova *et al.*, 2014) han analizado la influencia del tratamiento del contenido ruminal sobre las poblaciones de bacterias y protozoos en el fluido obtenido. Mackie *et al.* (1983) observaron que el tratamiento del inóculo con Stomacher[®] o Ultra-Turrax[®] aumentaba la cantidad de bacterias y disminuía la de protozoos cuando la alimentación de las ovejas donantes era heno y viceversa cuando eran alimentadas con concentrado. Ramos *et al.* (2009) estudiaron tres tratamientos de desligamiento de bacterias asociadas a la fase sólida: incubación del inóculo con solución salina y metilcelulosa, Stomacher[®] y congelado del contenido ruminal para tratarlo con Stomacher[®] una vez descongelado y mezclado con solución salina, obteniendo que el tratamiento con Stomacher[®] es el más efectivo desligando bacterias. Fliegerova *et al.* (2014) estudiaron cómo influye el tratamiento del inóculo y el modo de almacenamiento de las muestras en dos grupos bacterianos (bacteroides y firmicutes). Sin embargo, la información sobre otras comunidades microbianas ruminales que intervienen en el proceso fermentativo es más limitada (Soto *et al.*, 2012). Soto *et al.* (2012) observaron un descenso en las concentraciones de bacterias hongos y arqueas en el líquido ruminal obtenido después del filtrado del contenido ruminal y esto fue atribuido a una pérdida de bacterias asociadas a la fase líquida. Rymer *et al.* (1999) examinaron cuatro métodos de preparación del inóculo: filtrado, homogeneizado con batidora, tratado en un Stomacher[®] o filtrado con homogeneizado posterior, encontrando que el único tratamiento que reducía la degradación era el homogeneizado, concluyendo que parece haber pocas ventajas en homogeneizar el inóculo, especialmente porque esto supone una mayor exposición de los microorganismos ruminales al oxígeno. Aunque homogeneizar el fluido ruminal puede incrementar ligeramente el número de bacterias asociadas a la fase sólida en el inóculo, Pell y Schofield (1993) eliminaron este paso de su técnica, y no observaron un efecto aparente en los resultados de la fermentación ni del perfil de producción de gases, sugiriendo que el simple filtrado del inóculo proporciona una adecuada preparación.

Relacionados con la preparación del cultivo

El medio de cultivo utilizado en las técnicas *in vitro* está compuesto por una solución tampón, macro y microelementos minerales, fuentes de proteína y agentes reductores. Cuando la solución tampón contiene bicarbonato en su composición, esto complica la interpretación de los resultados del perfil de producción de gases, debido a la producción indirecta de gas que se produce entre los iones bicarbonato y los ácidos producidos durante la fermentación. Sin embargo, es un componente muy importante en el sistema amortiguador del rumen, y es usualmente incluido en los medios de cultivo para simular las condiciones ruminales de forma precisa (Rymer *et al.*, 2005). Se investigó entonces la sustitución del bicarbonato por fosfato (Omed *et al.*, 1998) aunque los fosfatos también podrían alterar el resultado de la incubación, ya que aumentan la digestión de la fibra (Kennedy *et al.*, 2000). En un trabajo en el que se evaluaron diferentes medios de cultivo (Rymer *et al.*, 2005) se comprobó que el medio descrito por Goering y Van Soest (1970) no producía significativamente más gas que otros evaluados mientras que fue capaz de mantener el pH por encima de 5,5 durante el desarrollo de la incubación, cosa que los otros no consiguieron.

Por otra parte, Grant y Mertens (1992) sugirieron la necesidad de que el medio de cultivo no debía limitar de ninguna forma el crecimiento microbiano y para ello se añaden al medio macro y micronutrientes, así como fuentes de nitrógeno. El medio de incubación, incluyendo la contribución del N del alimento, debería contener al menos 80 mg N/ L, para maximizar la tasa de degradación de los carbohidratos (Dryhurst y Wood, 1998) siendo el requerimiento de N dependiente del aporte de carbohidratos y cuanto más se incrementa el aporte de carbohidratos (especialmente los rápidamente fermentables), más N requieren los microorganismos para alcanzar tasas óptimas de crecimiento.

En los fermentadores se simula la producción de saliva por parte del animal con una entrada constante de solución tampón en el sistema. En condiciones naturales, cuando los animales toman una dieta con mayor proporción de forraje aumentara su tiempo de rumia y, por tanto, la cantidad de saliva producida será mayor; sin embargo, en condiciones *in vitro* se suele utilizar la misma cantidad de saliva independientemente de la dieta. Existen trabajos (Colombatto *et al.*, 2003; Carro *et al.*, 2009) en los que se ha variado la composición de la saliva con el fin de variar la capacidad tampón en función de la dieta utilizada en el fer-

mentador. Si se aumenta la velocidad de infusión de saliva en los fermentadores se aumenta la capacidad tampón del sistema y se evita que descienda el pH, lo que puede llevar a una distorsión en los resultados de la simulación (Carro *et al.*, 2009).

En cuanto a la proporción fluido ruminal:medio de cultivo, al aumentar la proporción de fluido ruminal en el medio de incubación aumentó el volumen (Wood y Bhat, 1988) y la tasa de producción de gas (Pell y Schofield, 1993; Rymer *et al.*, 1999) y se redujo el tiempo que tardan los microorganismos en colonizar y atacar las partículas del sustrato incubado (Pell y Schofield, 1993). Estos mismos autores recomendaron para CNRMR una proporción 1:4 de líquido ruminal:medio de cultivo para así reducir la posibilidad de que una baja cantidad de inóculo limitara la producción de gas.

Relacionados con el sustrato incubado

La cantidad de sustrato a incubar varía en los diferentes trabajos pero siempre se ha de tratar de encontrar un equilibrio. Si la cantidad de sustrato incubada es demasiado pequeña puede haber más errores en la simulación ya que la muestra de sustrato puede no ser representativa de la dieta que se pretende incubar, sobre todo si esta es muy heterogénea (Pell y Schofield, 1993). Por otra parte, si la cantidad de sustrato es excesiva la acumulación de gas en el espacio de cabeza puede llegar a inhibir la fermentación, distorsionando los resultados obtenidos.

El tamaño de partícula del sustrato incubado también puede influir en los resultados obtenidos. Se ha observado un incremento de la digestibilidad *in vitro* al disminuir el tamaño de partícula (Cone *et al.*, 1989). En todos los sustratos la tasa de producción de gas aumenta a medida que se disminuye el tamaño de partícula (Menke y Steingass, 1988; Lowman *et al.*, 2002) debido a que así se favorece el acceso de los microorganismos al alimento y aumenta su fermentación. Esto, sin embargo, representa un problema para determinar las cinéticas de degradación de los sustratos ya que en el rumen del animal las partículas de alimento van disminuyendo paulatinamente de tamaño y este hecho es difícilmente reproducible *in vitro* (Lowman *et al.*, 2002). Es preciso estandarizar el modo de preparación del alimento antes de realizar la cinética de producción de gas para que los datos obtenidos puedan ser comparables entre diferentes experimentos o laboratorios.

Otro aspecto que puede afectar a la fermentación *in vitro*, además del tamaño de partícula, es el tratamiento previo al que se haya sometido al sustrato. Lowman *et al.* (2002) indicaron que muestras secadas en microondas, estufa o liofilizadas y utilizadas en cultivos de tipo discontinuo producían más gas que las muestras frescas o congeladas, sugiriendo que las primeras se pudieron en el proceso de secado, haciéndolas más fácilmente degradables. Este tipo de factores deben ser considerados cuando se utilicen los datos obtenidos *in vitro* para predecir la fermentabilidad de un alimento *in vivo*.

Relacionados con el manejo de los sistemas *in vitro* y con el ambiente

El gas acumulado en el espacio de cabeza libre de las botellas de incubación *in vitro* de los CNRMR puede afectar a la fermentación del sustrato incubado y por tanto a la cantidad de gas que se produce. Theodorou *et al.* (1994) sugirieron que en un sistema donde no se vacía el gas de las botellas durante la incubación (Pell y Schofield, 1993) se produce menos gas total ya que el gas acumulado puede inhibir la fermentación. A presiones mayores de 7 psi se alteraba el crecimiento microbiano produciéndose una inhibición de la fermentación. Para evitar que el aumento de la presión afecte al crecimiento de los microorganismos se ha propuesto aumentar el espacio libre en la botella o disminuir la cantidad de sustrato incubado (Pell *et al.* 1998).

La acumulación de gas en el espacio de cabeza afecta a los perfiles de producción de gas y también refleja diferencias en el área de la superficie del medio de cultivo incubado con el espacio de cabeza, a través de la cual se produce el intercambio de gases de la fermentación entre el medio y espacio libre en la botella, siendo este más fácil en cultivos con una mayor área de superficie (Rymer *et al.*, 2005).

Lowman *et al.* (1998) utilizando un medidor manual de presión, variaron la presión del espacio de cabeza utilizando diferentes intervalos entre medidas de la presión de gas. No varió la producción de AGV ni el porcentaje de MS degradada, pero si se modificó el perfil de producción de gas, liberándose desde el cultivo menos gas cuando este era medido cada seis horas que cuando era medido cada dos horas. Por otra parte Mauricio *et al.* (1999) observaron un aumento en el volumen de gas cuando el intervalo de medición era aumentado de una a tres horas, afectándose además algunos parámetros de la cinética de fermentación cuando se realiza la medición cada hora, sugiriendo que el aumento de la frecuencia de lectura reduce el error asociado a la medición.

La presión atmosférica podría, a priori, influir en los resultados de medida de gas y su efecto sería especialmente importante al comparar resultados obtenidos en laboratorios situados en altitudes muy diferentes (Theodorou *et al.*, 1994) o cuando se producen cambios muy acusados en la presión atmosférica, sin embargo Rymer *et al.*, (2005) concluyeron que la mayoría de cambios en la presión atmosférica no son suficientes para provocar efectos en el perfil de producción de gas.

No está claro si la agitación de los cultivos puede afectar o no a los resultados obtenidos. Wilkins (1974) mostró una ausencia de efecto de la agitación en el tiempo que tardan los microorganismos en colonizar comenzar a digerir las partículas del substrato incubado, pero se observó que los cultivos que se agitaban liberaban más cantidad de gas respecto a los cultivos que permanecían sin agitación. Sin embargo Stevenson *et al.* (1997) no observaron cambios en el patrón de fermentación, ni en la producción de biomasa microbiana cuando el medio de incubación era agitado. En una comparación entre laboratorios entre el sistema automático de Cone (1996), en el que se agita el medio, y el de Davies (2000), en el que no se agita, no se encontraron diferencias entre aparatos, sugiriendo que agitar el medio tiene relativamente poco efecto en la reproductibilidad de los resultados (Rymer *et al.*, 2005). En los fermentadores de flujo continuo existe una agitación mediante palas giratorias, mientras que en los semicontinuos la agitación se realiza mediante el movimiento vertical de ascenso y descenso.

La duración de la incubación también puede influir en los resultados obtenidos. Normalmente los experimentos con CNRMR suelen tener una duración reducida (horas) y los fermentadores se mantienen en funcionamiento durante tiempos más largos (dos o tres semanas).

Para simular la estratificación que se produce en el contenido ruminal en los fermentadores se introduce el alimento en bolsas de nailon (Czerkawski y Breckenridge, 1977) o a través de un sistema de doble flujo por filtración (Hoover *et al.*, 1976a,b), mediante cambios en la velocidad de agitación, o por selección de las partículas por su densidad. Varios autores han intentado reproducir esta estratificación con resultados más o menos prometedores (Teather y Sauer, 1988; Fuchigami, 1989; Muetzel *et al.*, 2009).

La tasa de dilución, que es la cantidad de saliva (o medio de cultivo) que pasa al recipiente de incubación durante un período de tiempo determinado, y el tiempo de retención del sólido, que es el tiempo que

permanece el alimento en la vasija de incubación, afectan a la fermentación ruminal y el crecimiento microbiano. Hay estudios que han indicado una mayor producción de AGV y crecimiento microbiano al aumentarse la tasa de dilución (Stern y Hoover, 1979; Meng *et al.*, 1999), y al disminuir el tiempo de retención del sólido (Hoover *et al.*, 1982; Shriver *et al.*, 1986; Schadt *et al.*, 1999) mientras que otros autores no han encontrado efectos en la producción de AGV (Isaacson *et al.*, 1975; Hoover *et al.*, 1984; Eun *et al.*, 2004) o en el crecimiento de los microorganismos (Hoover *et al.*, 1984). La tasa de dilución del contenido líquido y el tiempo de retención de la digesta sólida en el rumen pueden ser muy variables *in vivo*, y dependen de la especie animal, el estado fisiológico, las características de la dieta y el nivel de ingestión, entre otros factores (Colucci *et al.*, 1990; Stern *et al.*, 2006). La tasa de dilución y el tiempo de retención del sólido afectan a la fermentación ruminal, a la digestibilidad del alimento y a las comunidades microbianas tanto *in vivo* como *in vitro* (Abe y Kumeno, 1973; Crawford *et al.*, 1980a; Hoover *et al.*, 1984; Meng *et al.*, 1999; Fu *et al.*, 2001).

En los experimentos *in vitro*, la forma de conseguir tasas de dilución más elevadas es incrementar el volumen de saliva artificial o solución tampón que entra en el sistema por unidad de tiempo. A su vez, al aumentarse la capacidad amortiguadora en el sistema, se evita que disminuya el pH. Hoover en 1984 apuntó que a tiempo de retención constante, el efecto del pH podría ser más importante que el de la tasa de dilución per se en el control de la digestión ruminal, pero en este tipo de estudios los efectos de la tasa de dilución y del pH en la fermentación y la síntesis de proteína microbiana no pueden separarse.

En los fermentadores de flujo continuo simple (Meng *et al.*, 1999) las fracciones sólida y líquida salen a la vez del sistema, y por lo tanto si se aumenta la tasa de dilución se provoca una disminución del tiempo de retención del sólido. Los fermentadores de flujo continuo doble (Hoover *et al.*, 1984, Schadt *et al.*, 1999) permiten que las fracciones líquida y sólida abandonen el sistema separadamente, por lo que se puede controlar mejor el tiempo de retención de la fase sólida. En sistemas de flujo semicontinuo, como el RUSITEC, la fracción sólida se retira del sistema manualmente a tiempos prefijados y por tanto el tiempo de retención del sólido no se ve afectado por la dilución.

En la mayoría de trabajos realizados con fermentadores RUSITEC el substrato se incuba durante 48 horas, pero *in vivo* el tiempo de retención del concentrado es menor que el de los alimentos más fibro-

sos (Mambrini y Periyaud, 1997). Gracias a la posibilidad de incubar los substratos individualmente en este tipo de fermentadores, el concentrado puede permanecer 24 h mientras que el forraje se incuba durante 48 h para que su tiempo de retención sea similar a lo que acontece *in vivo*, obteniéndose de esta manera perfiles de AGV parecidos a los encontrados *in vivo* (Martinez *et al.*, 2009).

El tiempo de retención y la tasa de dilución podrían, a priori, afectar a distintos parámetros relacionados con la fermentación. Algunos autores han reportado mayor desaparición de la materia seca, FND y FAD al aumentar la tasa de dilución (Crawford *et al.*, 1980a; Eun *et al.*, 2004; Fondevila y Pérez- Espés, 2008) mientras otros no observaron este efecto (Czerkawski y Breckenridge, 1977; Carro *et al.*, 1995). Se ha demostrado que un mayor tiempo de retención provocará una mayor desaparición aparente de la materia seca, FND y FAD (Crawford *et al.*, 1980a; Shriver *et al.*, 1986; Schadt *et al.*, 1999). La producción y el perfil de AGV también se ven afectados por el tiempo de retención del sólido y la tasa de dilución, con efectos variables dependiendo de los diferentes trabajos. Stern y Hoover (1979) y Crawford *et al.* (1980a) encontraron que una alta tasa de dilución incrementaba la producción total de AGV, mientras que otros encuentran que este parámetro no afecta a la producción de AGV (Hoover *et al.*, 1984; Isaacson *et al.*, 1995; Eun *et al.*, 2004) o la hace disminuir (Carro *et al.*, 1995; Meng *et al.*, 1999). En algunos experimentos con RUSITEC cuando se utilizan dietas con elevada proporción de concentrado se han observado relaciones Ac:Pr no fisiológicas y concentraciones anormalmente elevadas de caproico que no aparecen *in vivo* (Gómez *et al.*, 2005; Carro *et al.*, 2009), hecho que se ha atribuido a que el concentrado permanece 48 horas dentro del fermentador, tiempo superior al que permanecería en el rumen y a tasas de dilución bajas que fomentan una mayor acumulación de productos finales. En lo referente a la producción de metano, los resultados también son contradictorios. Isaacson *et al.* (1975) encontraron un descenso en la producción de este gas al aumentar la tasa de dilución que podría ser debido al descenso de la abundancia de arqueas metanogénicas a altas diluciones. Sin embargo, Eun *et al.* (2004) observaron que con mayores tasas de dilución se produjo mayor cantidad de metano.

El uso de fermentadores continuos y semicontinuos, que permiten incubaciones de larga duración (semanas), provoca cambios cualitativos y cuantitativos en las comunidades microbianas a lo largo del periodo de estudio. Recientes trabajos (Soto *et al.*, 2012; Soto *et al.*, 2013)

han evaluado, utilizando técnicas moleculares, los cambios en la poblaciones microbianas durante el periodo de incubación en fermentadores de flujo continuo, observando que la estructura de las comunidades bacterianas y la abundancia de algunos grupos microbianos (bacterias, hongos y arqueas) se ven afectadas, disminuyendo su abundancia después del filtrado del contenido ruminal, debido a la exposición del contenido al oxígeno y a la pérdida de microorganismos asociados a la fase sólida. Sin embargo, no se detectó impacto negativo sobre los parámetros fermentativos, indicando que se puede reducir el tiempo necesario para la adaptación de los fermentadores. En un estudio (Soto *et al.*, 2013) en el que se evaluó el desarrollo de los microorganismos, mediante PCR cuantitativa y la técnica del polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción terminales, los CNRMR mostraron importantes cambios en las abundancias de los microorganismos y en el perfil de especies bacterianas con una menor diversidad bacteriana que en el inóculo, pero un sustancial crecimiento de bacterias fibrolíticas que apoya el uso de esta técnica para el análisis de substratos fibrosos, mientras que los CCF mantienen una microbiota y una estructura de las comunidades bacterianas más estables y parecidas a las del contenido líquido del rumen, en la incubación del mismo tipo de inóculo ruminal. En fermentadores RUSITEC no se tiene demasiada información sobre qué ocurre con las comunidades microbianas ruminales, aunque sí que es conocido que se produce un acusado descenso en el número de protozoos o su desaparición, tanto en los fermentadores de flujo continuo como en los fermentadores RUSITEC (Carro *et al.*, 1995; Mansfield *et al.*, 1995; Moumen *et al.*, 2007; Muetzel *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2010a, 2011a). Esta rápida desaparición de los protozoos se debe probablemente a su lenta velocidad de crecimiento (Czerkawski y Breckenridge, 1977; Mansfield *et al.*, 1995) y a la exposición de los fermentadores al oxígeno (Abe e Iriki, 1978; Hillman *et al.*, 1991; Mansfield *et al.*, 1995). También está documentada la retención de los protozoos entre la masa sólida de la digesta (Nakamura y Kurihara, 1978), y por tanto una reducción en el tiempo de retención del sólido en fermentadores continuos conlleva un marcado descenso de las comunidades protozoarias (Crawford *et al.*, 1980a).

Los fermentadores de flujo continuo y los fermentadores RUSITEC presentan varias diferencias funcionales, tales como la tasa de dilución, el tiempo de retención del sólido, la cantidad de alimento suministrado o la frecuencia de alimentación que han demostrado afectar a las variables de fermentación (Carro *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2009, 2010b 2011b), y en consecuencia se espera que haya también

diferencias en las poblaciones microbianas en ambos tipos de fermentadores. Además, las poblaciones microbianas también varían con los cambios en la composición de alimentación, y las condiciones de funcionamiento en los fermentadores pueden tener una influencia variable en el desarrollo microbiano cuando se incuban diferentes dietas.

A pesar del uso extendido de ambos tipos de fermentadores, no existe una estandarización en cuanto al manejo entre los dos sistemas (Carro *et al.*, 2009). Cuando se inocula un fermentador, los microorganismos ruminales tienen que adaptarse a las nuevas condiciones presentes en el sistema *in vitro*. A lo largo del periodo de incubación, y mayoritariamente en los primeros días, se producen cambios en las comunidades microbianas relacionadas con esta adaptación (Slyter y Putnam, 1967; Prevot *et al.*, 1994). En la bibliografía los diferentes autores han utilizado periodos de adaptación variables desde 5 hasta 11 días (Czerkawski y Breckenridge, 1977, 1979; Carro y Miller, 1999; Carro *et al.*, 1999; Godoy y Meschy, 2001; Ranilla y Carro, 2003; Jalc *et al.*, 2006; Giraldo *et al.*, 2007; Carro *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2011b; Soto *et al.*, 2012). La tasa de dilución de la fase líquida y el tiempo de retención de la sólida en fermentadores RUSITEC pueden afectar al número de días necesarios para permitir la adaptación al sistema, puesto que una mayor tasa de dilución dificulta el desarrollo de microorganismos de lenta multiplicación y si se reduce el tiempo de retención del sólido se puede alterar la colonización del substrato por parte de microorganismos de menor ritmo de crecimiento. Una vez adaptado el sistema se alcanza lo que se denomina estado estacionario entendiendo este como aquel momento en el que la salida diaria de productos de fermentación (AGV, NH₃ y lactato) no varía de forma significativa durante varios días consecutivos (Martínez *et al.*, 2011b). Czerkawski y Breckenridge (1977, 1979) indicaron que cuando el RUSITEC recibe dietas de alta calidad, el sistema logra alcanzar el estado estacionario en 4 a 6 días, mientras que si la dieta era de baja calidad este periodo aumentaba. Martínez *et al.* (2011b) determinaron que este estado se consigue a los 6 días de empezar la incubación.

Comparación *in vivo-in vitro*

Comparación de parámetros fermentativos y de poblaciones microbianas

Un sistema de simulación de la fermentación no puede imitar la fermentación ruminal *in vivo* en todos sus aspectos (Muetzel *et al.*,

2009), pero si se puede perfeccionar su capacidad para reproducirlos. Para validar un sistema de fermentación *in vitro* y utilizarlo como un modelo de la fermentación ruminal, se requieren trabajos que comparen de forma directa los resultados obtenidos *in vivo* e *in vitro* (Mansfield *et al.*, 1995). Los estudios que muestran comparaciones directas *in vivo* - *in vitro* son escasos y han sido realizados fundamentalmente en ganado vacuno y utilizando sistemas de tipo continuo.

Algunos de los trabajos que comparan la fermentación ruminal *in vitro* con lo que ocurre *in vivo* se muestran en la Tabla 1. Hannah *et al.* 1986 observaron que los valores de degradabilidad de la proteína y de los aminoácidos eran comparables entre un cultivo de fermentadores de doble flujo continuo e *in vivo* en ganado vacuno. Un estudio (Mansfield *et al.* 1995) comparando el mismo sistema con vacuno mostró valores similares de la digestión de la MS y de la MO, pero una menor digestión de la FND en los fermentadores y en estos una mayor concentración de AGV que *in vivo*, lo cual coincide con lo observado con Devant *et al.*, 2001. Tafaj, *et al.*, 2005 observaron una correlación lineal positiva entre producción de gas *in vitro* y concentración de AGV en CNRMR 2 h después de la incubación y alimentación *in vivo* en ganado vacuno. Bhatta *et al.*, 2007 compararon una técnica de medida de producción de metano *in vivo* en vacuno con el metano producido en fermentadores RUSITEC y en CNRMR observando menos gas estimado por RUSITEC que *in vivo*, siendo la estimación de los CNRMR muy próxima a lo observado *in vivo*. Strobel *et al.*, 2008 compararon la abundancia de bacterias y arqueas en fermentadores RUSITEC con valores encontrados en la literatura encontrando comparables esos valores *in vitro* - *in vivo*. Un trabajo que comparaba *in vivo* en ganado ovino, RUSITEC y fermentadores de flujo continuo comprobó que detectaban las mismas diferencias en pH, digestibilidad de la MS y eficiencia de crecimiento microbiano, pero hubo diferencias en la digestibilidad de FND *in vivo* que no fueron detectadas por ninguno de los dos tipos de fermentadores (Carro *et al.*, 2009). Di Marco *et al.*, (2009) observaron que la digestibilidad de la materia seca era sobreestimada *in vitro* tras 48 h de incubación, pero la predijo con exactitud a las 24 horas frente a lo que ocurría *in vivo* en ganado ovino y vacuno. En un estudio similar, Stalker *et al.*, (2013) en CNRMR y ganado vacuno, encuentran que la técnica *in vitro* subestima el valor de digestibilidad de la FND a las 24 horas. Muetzel *et al.* 2009 compararon un sistema estratificado de incubación ruminal con lo que ocurre *in vivo* en ganado vacuno y observaron cambios importantes en la estructura de las comu-

nidades microbianas *in vitro* con respecto a lo observado en los animales. Un experimento (Norman *et al.* 2010) realizado para comparar la digestibilidad de la MO en ganado ovino *in vivo*, la técnica in sacco y CNRMR mostró muy buena correlación entre *in vitro* e *in vivo* y en 72 h la digestibilidad in sacco fue precisa. Otro trabajo (Pelve *et al.*, 2012) que comparó una medida de la digestibilidad *in vitro* de la MO durante 96 h con lo que ocurrió *in vivo* en ganado vacuno demostró que es posible utilizar esta técnica para estimar la digestibilidad de la misma. Tahir *et al.*, 2013 observaron que los CNRMR no detectaron tantas diferencias en la digestibilidad de la FND entre substratos como las observadas *in vivo* en ganado vacuno. Finalmente, Hatew *et al.*, 2015 estudiaron la producción de metano en ganado vacuno y en CNRMR y vieron una buena correlación cuando se expresaba la producción de metano en relación a la MO fermentable en rumen.

Título	Especie / Sistema <i>in vitro</i>	Parámetros comparados	Conclusión
Evaluation of a dual flow continuous culture system for estimating bacterial fermentation <i>in vivo</i> of mixed diets containing various soybean products. (Hannah <i>et al.</i> , 1986)	Vacuno / Fermentador de flujo continuo	- Degradabilidad de la proteína y de los aminoácidos	- Valores comparables
		- Proporciones de acético	- Valores similares
Comparison of microbial fermentation in the rumen of dairy cows and dual flow continuous-culture. (Mansfield <i>et al.</i> , 1995)	Vacuno / Fermentador de flujo continuo	- Digestión de la materia orgánica y de la materia seca	- Valores similares
		- Digestión de los carbohidratos no estructurales	- Mayor en los fermentadores
		- Digestión de la FND	- Menor en los fermentadores
		- Concentración de AGV	- Mayor en los fermentadores
Effect of nitrogen source in high- concentrate, low-protein beef cattle diets on microbial fermentation studied <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> . (Devant <i>et al.</i> , 2001)	Vacuno / Fermentadores de flujo continuo	- Concentración de AGV	- Mayor en cultivos continuos
		- Nitrógeno amoniacal	- Concentración en el efluente dentro de los rangos obtenidos <i>in vivo</i>
		- Degradabilidad de la proteína	- Valores próximos a los obtenidos <i>in situ</i>
Site and extent of starch degradation in the dairy cow – a comparison between <i>in vivo</i> , <i>in situ</i> and <i>in vitro</i> measurements. (Hindle <i>et al.</i> , 2005)	Vacuno / <i>in situ</i> / CNRMR	- Degradación de almidón	- Discrepancia entre lo medido <i>in vivo</i> y lo estimado <i>in situ</i> e <i>in vitro</i> .
Effects of particle size of a total	Vacuno /	- Ácidos grasos	- Correlación lineal posi-

Título	Especie / Sistema <i>in vitro</i>	Parámetros comparados	Conclusión
mixed ration on <i>in vivo</i> ruminal fermentation patterns and inocula characteristics used for <i>in vitro</i> gas production. (Tafaj <i>et al.</i> , 2005)	CNRMR	volátiles (AGV), tiamina y producción de gas <i>in vitro</i> .	tiva entre producción de gas <i>in vitro</i> y concentración de AGV y tiamina.
Comparison of <i>In vivo</i> and <i>In vitro</i> Techniques for Methane Production from Ruminant Diets. (Bhatta <i>et al.</i> , 2007)	Vacuno / RUSITEC / CNRMR	– Producción de metano	– Menos gas estimado por RUSITEC que <i>in vivo</i> . Pero el gas estimado por el sistema CNRMR fue muy parecido al medido <i>in vivo</i> .
Diversity of responses of rumen microbial communities to <i>Fusarium</i> contaminated feed, evaluated with rumen simulating technology (RUSITEC). (Strobel <i>et al.</i> , 2008)	Valores literatura/ RUSITEC	– Abundancia de bacterias y arqueas	– Comparables <i>in vitro</i> – <i>in vivo</i> .
Comparison of microbial fermentation of high- and low-forage diets in RUSITEC, single- flow continuous-culture fermenters and sheep rumen. (Carro <i>et al.</i> , 2009)	Ovino / RUSITEC y fermentadores de flujo continuo	– pH, digestibilidad de la MS, eficiencia de crecimiento	– Detectan las mismas diferencias.
		– Acetato:Propionato	– Valores más altos en RUSITEC
		– Digestibilidad de la FND	– Existieron diferencias entre dietas <i>in vivo</i> , pero estas no fueron detectadas <i>in vitro</i> .
Digestibility of forage silages from grain, sweet and bmr sorghum types: Comparison of <i>in vivo</i> , <i>in situ</i> and <i>in vitro</i> data. (Di Marco <i>et al.</i> , 2009)	Ovino y vacuno / digestibilidad <i>in vitro</i> en ankorm	– Digestibilidad de la materia seca	– La técnica <i>in vitro</i> sobreestima este parámetro en incubación de 48 h, pero lo predice con exactitud a las 24 h.
	Daisy	– Digestibilidad de la FND	– La técnica <i>in vitro</i> subestima este valor
Evaluation of a stratified continuous rumen incubation system. (Muetzel <i>et al.</i> , 2009)	Vacuno / Sistema continuo estratificado de incubación ruminal	– Estructura de las comunidades microbianas	– Cambios importantes <i>in vitro</i> respecto <i>in vivo</i> .
Comparison of <i>in vivo</i> organic matter digestion of native Australian shrubs by sheep to <i>in vitro</i> and <i>in sacco</i> predictions. (Norman <i>et al.</i> , 2010)	Ovino / <i>in situ</i> / CNRMR	– Digestibilidad de la MO	– Muy buena correlación entre <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> . – En 72 h la digestibilidad <i>in sacco</i> fue precisa.
<i>In vivo</i> and <i>in vitro</i> digestibility, nitrogen balance and methane production in non-lactating cows and heifers fed forage	Vacuno / Método de la digestibilidad <i>in vitro</i>	– Digestibilidad de la MO	– Es posible utilizar el método de digestibilidad <i>in vitro</i> para estimar la digestibilidad de la

Título	Especie / Sistema <i>in vitro</i>	Parámetros comparados	Conclusión
harvested from heterogeneous semi- natural pastures. (Pelve <i>et al.</i> , 2012)	de la MO (96 h)		MO <i>in vivo</i> .
Inclusion of forage standards with known <i>in vivo</i> digestibility in <i>in vitro</i> procedures. (Stalker <i>et al.</i> , 2013)	Vacuno / CNRMR	- Digestibilidad de la MS	- Los valores de digestibilidad obtenidos <i>in vitro</i> son mayores
<i>In vitro</i> estimations of the rate and extent of ruminal digestion of starch-rich feed fractions compared to <i>in vivo</i> data. (Tahir <i>et al.</i> , 2013)	Vacuno / CNRMR	- Digestibilidad de la FND	- La técnica <i>in vitro</i> detecta menos diferencias entre substratos.
Relationship between <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> methane production measured simultaneously with different dietary starch sources and starch levels in dairy cattle. (Hatew <i>et al.</i> , 2015)	Vacuno/ CNRMR	- Producción de metano	- Correlación buena entre <i>in vitro</i> - <i>in vivo</i> cuando se expresa en MO estimada fermentable en rumen

Tabla 1. Trabajos que comparan la fermentación ruminal *in vitro* vs. *in vivo*

Técnicas moleculares como herramienta de estudio

Las técnicas basadas en el análisis de los ácidos nucleicos son de gran utilidad para el estudio del ecosistema ruminal. Hasta el desarrollo de las técnicas de biología molecular, los microorganismos ruminales solo se podían estudiar mediante técnicas de cultivos clásicas, aislamiento y recuento o caracterizándose indirectamente a través de los productos resultado de la fermentación. Además, las técnicas microbiológicas convencionales permitían el estudio de solo un número limitado de microorganismos y se han visto complementadas en la actualidad por las técnicas moleculares (Raskin *et al.*, 1997).

Los métodos moleculares se basan, principalmente, en la utilización como marcadores taxonómicos de los genes que codifican para la subunidad 16S del ribosoma en procariotas o 18S en eucariotas; aunque también se pueden utilizar otras regiones como la que se encuentra entre los genes que codifican para las subunidades 16S y 23 S en procariotas. La elección de este fragmento del genoma se debe a que tiene regiones altamente conservadas (codifican para el ribosoma bacteriano, encargado de la síntesis proteica, una función conservada en todos los seres vivos) combinadas con regiones altamente variables que son las utilizadas para la clasificación filogenética (Spiegelman *et al.*, 2005). La PCR ha sido una herramienta crucial en el desarrollo de las técnicas

de caracterización microbiana independientes de los cultivos conocidas como de fingerprinting o huella genética (Smith y Osborn, 2009). Estas técnicas combinan la extracción del ácido desoxirribonucleico (ADN) con una PCR posterior y han venido utilizándose desde principios de los años 90, permitiendo el análisis del conjunto de comunidades microbianas presentes en un determinado ecosistema. El uso combinado de la amplificación de un gen que permita una clasificación taxonómica (como es el del ribosoma 16S bacteriano) con una posterior técnica de huella genética (fingerprinting) ha permitido un estudio más profundo de la diversidad del ecosistema microbiano presente en el rumen, en comparación con lo que permitían las técnicas de cultivo clásicas.

La PCR amplifica exponencialmente el ADN presente en una muestra mediante repetidos ciclos de desnaturalización, anillamiento de cebadores específicos y polimerización con nucleótidos con ayuda de una enzima polimerasa estable en altas temperaturas (polimerasa de la bacteria *Thermus aquaticus*). Como se ha indicado anteriormente, los métodos moleculares más ampliamente utilizados están basados en la PCR como paso previo al análisis de las muestras. A partir de ahí se separan los amplicones que son diferentes en función de determinadas características, inherentes a cada técnica.

La clave en la PCR es la elección de los oligonucleótidos utilizados como cebadores, que deben ser específicos de la región del genoma que se necesita amplificar. Gracias a la especificidad de los mismos es posible diseñar cebadores para amplificar según el grado de profundidad deseado en el estudio, por ejemplo, el conjunto de las bacterias, un grupo concreto de estas o una sola especie (Spiegelman *et al.*, 2005).

Estas técnicas moleculares aplicadas al estudio del ecosistema ruminal tienen una serie de limitaciones que deben ser tomadas en consideración, la primera en referencia al método de extracción de ADN elegido. La lisis de los microorganismos previa a la extracción de ADN es un paso crítico ya que las bacterias Gram- se lisan más fácilmente que las Gram+ (Fliegerova *et al.*, 2014), así que el tratamiento que no es suficiente para unas resulta excesivo para otras, pudiendo no extraerse todo el ADN de la muestra o lisar parte del mismo, y este ADN excesivamente fragmentado puede actuar como inhibidor de la PCR (von Wintzingerode *et al.*, 1997). Junto con el ADN se pueden extraer de la muestra otros compuestos indeseados que inhiban posteriormente la reacción de PCR. Por todo ello se han descrito en la literatura múltiples

protocolos de extracción de ácidos nucleicos, en función del tipo de muestra, ecosistema de procedencia y tipo de microorganismos presentes en la misma. En el caso del ecosistema ruminal se ha probado como uno de los más eficaces el descrito por Yu y Morrison (2004), que combina una lisis con un tampón y un tratamiento de homogeneización con una posterior purificación con un kit comercial, obteniéndose la mayor producción específica de ADN, en un estudio en que se evaluaron 15 métodos de extracción de ADN diferentes, en muestras liofilizadas de contenido ruminal de vacas alimentadas con heno y de ovejas en pastoreo, (Henderson *et al.*, 2013). En el estudio realizado, este método extrajo un ADN de buena calidad, en cuanto a su integridad, medida en gel de electroforesis y con buenas características para la amplificación por PCR de bacterias, protozoos ciliados, hongos y arqueas (Henderson *et al.*, 2013). Cuando se realiza una PCR convencional, el número de copias de un fragmento de ADN es desconocido. Por ello la PCR convencional no puede ser utilizada para la estimar la abundancia de un fragmento de ADN presente en una muestra (Farrelly *et al.*, 1995), sino que sólo ofrece una idea de la diversidad que existe en la misma.

En estas secuencias obtenidas por PCR las regiones más conservadas simplemente permiten diferenciar entre los reino Eukarya, Bacteria y Archaea, mientras que las regiones más variables permiten la diferenciación de género y especie (von Wintzingerode *et al.*, 1997). En un principio se probó con la subunidad 5S por ser la más pequeña y de más fácil manejo. Sin embargo, el que sea la más pequeña hace que no cuente con regiones variables suficientes para diferenciar unos microorganismos de otros. Por tanto la subunidad más utilizada es la 16S, ya que es más fácil de secuenciar que la 23S. A veces, las secuencias de las subunidades 16S o 18S no resultan suficientes para diferenciar algunos grupos, por lo que es necesaria una alternativa como el espacio intergénico entre las regiones que codifican para la subunidad 16S y 23S en bacterias.

Dependiendo de los objetivos del estudio de las comunidades microbianas que se va pretenda llevar a cabo, las técnicas moleculares utilizadas se dividen en dos grupos: aquellas empleadas para el estudio de la diversidad microbiana, basadas en la “huella genética” o métodos fingerprinting, y las que buscan evaluar la abundancia de las diferentes poblaciones microbianas, basadas en métodos cuantitativos. Las primeras son útiles para estudiar de una manera rápida la estructura y diversidad de un ecosistema (Muyzer, 1999) y consisten en una extracción de

ADN seguida de amplificación de un fragmento mediante PCR y el análisis, mediante diferentes métodos, del producto de la PCR. Las segundas, permiten cuantificar además de detectar y amplificar, diferentes secuencias de ADN.

En este trabajo se han utilizado dos técnicas diferentes de biología molecular: una técnica de huella genética o fingerprinting, el ARISA (análisis automatizado de la región espaciadora intergénica ribosomal), método utilizado para el análisis de la población bacteriana que proporciona estimaciones de su diversidad y composición (Fisher y Triplett, 1999) y una técnica cuantitativa, la PCR cuantitativa (qPCR), método que se desarrolló a partir de la PCR convencional pero en el que es posible cuantificar las poblaciones específicas.

Análisis automatizado de la región espaciadora intergénica ribosomal (Automated ribosomal intergenic spacer analysis, ARISA)

El ARISA es un método de huella genética que permite analizar la diversidad microbiana de un ecosistema. En el caso de este trabajo se ha utilizado para estimar la diversidad bacteriana en muestras de ecosistema ruminal. Partiendo de una muestra de ADN se realiza una PCR en la que el fragmento diana a amplificar es el encontrado en el genoma bacteriano entre los genes que codifican para las subunidades 16S y 23S del ribosoma (Fisher y Triplett, 1999). Es un fragmento conservado pero que varía considerablemente en cuanto a longitud (de 50 a 1500 pares de bases, Ranjard *et al.*, 2001) y secuencia nucleotídica entre los diferentes filotipos bacterianos. Uno de los dos cebadores utilizados en la PCR se marca con fluorescencia. El producto de la PCR se somete a una electroforesis capilar en la que se separaran los diferentes fragmentos en función de la longitud y estos, gracias al marcado fluorescente, son detectados de manera automática en un analizador de fragmentos por lo que se obtienen resultados de manera rápida y relativamente sencilla (Fisher y Triplett 1999; Ranjard *et al.*, 2001).

Esta técnica de huella genética tiene la ventaja, en comparación con técnicas similares, de la sencillez, ya que no son necesarias digestiones de los productos de PCR con enzimas ni geles engorrosos de preparar. Además esta técnica muestra una mayor sensibilidad para detectar microorganismos presentes en menor cantidad en las comunidades microbianas y la electroforesis parece tener una mayor resolución para detectar la fluorescencia (Saro *et al.*, 2014).

PCR cuantitativa (quantitative PCR, qPCR)

La qPCR funciona de manera similar a la PCR convencional, con múltiples ciclos en los que el ADN es desnaturalizado, para permitir el anillamiento de los cebadores y la posterior elongación de las secuencias de ADN, aumentando de esta forma exponencialmente el número de fragmentos. La especificidad de la qPCR depende de los cebadores utilizados, pudiéndose cuantificar, por ejemplo, la población total de bacterias del rumen o la cantidad una sola especie bacteriana si se utilizan los cebadores específicos para ello. En la qPCR el aumento del número de amplicones es registrado durante el proceso mediante detección de fluorescencia. Los sistemas de marcado con fluorescencia más comúnmente utilizados son las sondas Taqman (Holland *et al.*, 1991; Livak *et al.*, 1995) y el SYBR green (Wittwer *et al.*, 1997).

La cuantificación del ADN se realiza mediante el método del “ciclo de cuantificación” (quantification cycle, Cq). El termociclador recoge de manera automática la medida de fluorescencia tras cada ciclo de amplificación y se registra el incremento de fluorescencia con respecto al ciclo anterior, junto con el número de ciclo resultando una curva de amplificación en la que se pueden diferenciar 4 estados: fluorescencia basal, amplificación exponencial, amplificación lineal y fase de meseta. Durante la fase exponencial de amplificación la cantidad del segmento diana amplificado es proporcional a la cantidad que había del mismo en la muestra de partida y la cantidad de fluorescencia puede asociarse con la cantidad de ADN presente en la muestra de partida mediante un valor: el ciclo umbral o ciclo de cuantificación (Cq).

Esta cuantificación puede realizarse de manera relativa o absoluta. En la cuantificación relativa los cambios en el gen de interés son expresados en relación a la cantidad de otro gen. En la cuantificación absoluta el número de copias del gen diana se cuantifica a partir de una curva estándar, mediante diluciones seriadas de una muestra en la que se encuentra el gen diana en una concentración conocida.

MATERIAL Y METODOS

Animales experimentales

A lo largo de todos los experimentos se dispuso de seis ovejas raza merina, todas ellas provistas de una cánula ruminal permanente. La colocación de la cánula se llevó a cabo mediante la técnica de la incisión descrita por Komarek (1981). Los animales no recibieron alimento

durante las 24 horas previas a la intervención quirúrgica y estuvieron privados de agua durante 12 horas antes de la operación. El tratamiento postoperatorio consistió en un antibiótico de amplio espectro durante 7 días, limpiándose la zona intervenida diariamente con agua templada y yodo diluido. Las ovejas fueron manejadas de acuerdo con el Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia de España y los protocolos experimentales fueron aprobados por el Comité de Ética de la Universidad de León.

Durante el periodo experimental las seis ovejas con cánula ruminal se alojaron juntas cuando recibían la misma dieta y en diferentes rediles cuando recibían diferentes dietas. Todas ellas recibieron diariamente una dieta experimental que varió en función del estudio. En todos los casos, la dieta estaba constituida por forraje (heno de alfalfa o heno de gramíneas) y un concentrado comercial formulado para ovejas en lactación o corderos de cebo. Los animales dispusieron continuamente de agua y de un bloque de corrector vitamínico-mineral.

Pruebas *in vitro*

Las pruebas *in vitro* se llevaron a cabo en dos tipos de sistemas: cultivos no renovados de microorganismos ruminales (CNRMR) y fermentadores de flujo semicontinuo (RUSITEC).

Sistema de cultivos no renovados de microorganismos ruminales (CNRMR)

Las incubaciones *in vitro* en CNRMR se llevaron a cabo en viales de vidrio de 120 mL de capacidad, en los cuales se pesaron diferentes cantidades de materia seca (MS) de sustrato que se indican en las distintas pruebas. Todos los sustratos utilizados en este tipo de pruebas se molieron previamente a un tamaño de partícula de 1 mm, utilizando un molino de martillos tipo Culatti. Para las incubaciones se utilizó fluido ruminal diluido en un medio de cultivo no limitante para el crecimiento de microorganismos ruminales, en concreto, el descrito por Goering y Van Soest (1970), sin la adición de tripticasa. El contenido ruminal se extrajo de cada oveja a través de la cánula ruminal inmediatamente antes de la administración del alimento, se introdujo en termos con el fin de mantener la temperatura y evitar el contacto con el aire e inmediatamente se trasladó al laboratorio. Una vez en el laboratorio, se

filtró a través de una doble capa de gasa y el líquido recogido se mezcló con el medio de cultivo en proporción 1:4 (vol:vol).



Figura 1. Cultivos no renovados de microorganismos ruminales

La mezcla de los componentes del medio de cultivo y la del medio de cultivo con el fluido ruminal, así como su distribución en los viales se realizó en condiciones de anaerobiosis, bajo un flujo continuo de CO₂, y a una temperatura de 39°C. Los viales se cerraron herméticamente con un tapón de caucho, se precintaron con cápsulas de aluminio y se colocaron en un incubador a 39°C.

Los viales permanecieron dentro del incubador durante un tiempo variable en función del estudio y se realizaron las medidas y recogieron las muestras que se describen a continuación:

- pH del cultivo: fue medido (pH-metro Basic 20, Crison Instruments, S.A. Alella, España) al final de la incubación, nada más abrir las botellas.
- Producción total de gas y producción de CH₄: al finalizar la incubación antes de abrir las botellas fue leída la presión, con un transductor de presión, existente en el espacio libre de cabeza de la botella y con una jeringa fue medido el volumen de gas, recogiendo a su vez una muestra del mismo en tubos vacutainer[®], para el posterior análisis de metano.

- Producción de AGV y concentración en NH_3 y ácido láctico del medio: 4 mL de contenido de las botellas fueron introducidos en tubos a los que previamente se les había añadido 100 μL de ácido sulfúrico al 20% y se congelaron a -20°C .
- Desaparición del sustrato (MS y FND): el contenido de las botellas fue filtrado a través de crisoles y el residuo sólido se utilizó para calcular la MS y FND la desaparecida.

Sistema de fermentadores de flujo semicontinuo (RUSITEC)

Descripción del sistema

El sistema de fermentadores de flujo semicontinuo utilizado en los experimentos fue el RUSITEC (Rumen Simulation Technique, Czerkawski y Breckenridge, 1977), con algunas modificaciones realizadas en nuestro laboratorio. El sistema consta de 8 fermentadores sumergidos en un baño de agua a 39°C (ver Figura 3.2). Cada fermentador está compuesto por un recipiente de plástico rígido de 600 mL de volumen,



Figura 2. Sistema de 8 fermentadores de flujo semicontinuo (RUSITEC; Rumen Simulation Technique; Czerkawski y Breckenridge, 1977)

cerrado con una tapa con tres orificios. A través de uno de ellos se infunde continuamente una solución tampón (saliva artificial, McDougall, 1948) mediante una bomba peristáltica. El segundo de los orificios está conectado a una botella donde se recoge el efluente que rebosa del fermentador que su vez, está conectada a una bolsa hermética en la que se recogen los gases producidos durante la fermentación. El tercer orificio de la tapa dispone de una válvula, a través de la cual se puede acceder directamente al fermentador para tomar muestras de su contenido.

La tapa de los fermentadores es atravesada por un eje unido a un motor que hace que mantenga un movimiento cíclico ascendente y

descendente en el interior del mismo produciéndose una agitación continua del medio de fermentación facilitando que el contenido líquido del

fermentador pase a través del material sólido en cada movimiento, simulando los movimientos de contracción del rumen.

Manejo del sistema

El primer día de la prueba experimental, cada fermentador se inoculó con contenido ruminal, tanto líquido como sólido. 250 mL de líquido ruminal se mezclaron con 200 mL de saliva artificial (Mcdougall, 1948) y con esa mezcla se llenó la vasija. Posteriormente, se introdujeron 80 g de contenido ruminal en una bolsa de nailon (100 μm de diámetro de poro). El alimento se introdujo en dos bolsas, empapadas con la mezcla de saliva y líquido ruminal para eliminar el aire de su interior, una con el forraje y una con el concentrado, correspondientes en cada experimento. Una vez fijadas las tres bolsas al eje rígido, el fermentador se cerró, se colocó dentro del baño de agua, y se conectaron los tubos de saliva artificial y de salida del efluente. En las botellas de recogida del efluente se añadieron 20 mL de ácido sulfúrico (20%, vol:vol) con el fin de detener el proceso fermentativo. A continuación, a cada fermentador se le suministró 2 L de nitrógeno para establecer condiciones de anaerobiosis, y se conectaron las bolsas de recogida de gas correspondientes. Finalmente, y una vez que todas las conexiones fueron confirmadas, se puso en marcha el motor del sistema.

El manejo diario de los fermentadores se describe a continuación: se apagaba el motor de agitación y cada fermentador recibía 2 L de N₂, con el fin de desplazar los gases producidos que pudieran quedar en el sistema hasta la bolsa de recogida antes de que esta fuera retirada. A continuación, se desconectaban los tubos de la saliva y del efluente, se extraía la vasija y se introducía en otro baño de agua (39°C) de menor tamaño, para poder manejar el fermentador cómodamente. Antes de abrir el fermentador, se agitaba varias veces el eje con las bolsas de alimento para homogeneizar el contenido antes de recoger las muestras. Una vez abierta la vasija, se medía el pH del contenido líquido (pHmetro Basic 20, Crison Instruments, S.A. Alella, España) y se extraían las bolsas de alimento que llevaban 48 h (forraje) y 24 h (concentrado) dentro del fermentador. La bolsa de alimento extraída se sometía a dos lavados sucesivos con contenido líquido del fermentador y el líquido procedente de estos dos lavados se empleaba para impregnar las nuevas bolsas de alimento que iban a ser introducidas. Finalmente, se cerraba el fermentador y se colocaba dentro del baño de agua.

El efluente recogido en cada botella se pesaba y se vaciaba la botella, volviendo a añadirse 20 mL de ácido sulfúrico al 20%. Una vez

que todos los fermentadores y tubos eran colocados correctamente, se gaseaba cada fermentador con 2 L de nitrógeno, se conectaban las bolsas de recogida de gases y se ponía en marcha el motor.

Durante los diferentes estudios se recogieron las muestras y se realizaron las medidas que se describen a continuación:

- Volumen de gas contenido en las bolsas y concentración de metano en el mismo.
- Peso del efluente y muestras para analizar su concentración de NH_3 (2 mL), AGVs (1 mL) y lactato (1 mL). Dichas muestras se almacenaron a -20°C hasta su posterior análisis.
- Desaparición de MS, FND y FAD. Las bolsas de nailon con el residuo sólido de alimento no degradado se sacaron de los fermentadores, se escurrieron, se lavaron en la lavadora en programa de agua fría, y se secaron en estufa a 60°C . La desaparición de la MS se calculó por diferencia de peso con respecto a la cantidad de MS que se había introducido en el fermentador. Para calcular la desaparición de FND y FAD se realizó el análisis de FND y FAD en el residuo previamente molido.
- Muestras para el análisis de las comunidades microbianas mediante biología molecular. Se tomaron muestras de las fases sólida y líquida de la digesta: 8 mL de líquido de cada uno de los fermentadores y una muestra representativa del residuo sólido de las bolsas que contenían, respectivamente, el forraje y el concentrado. Estas muestras se almacenaron a -80°C .
- Muestras para análisis de actividad enzimática: 6 mL del contenido líquido de las vasijas y una muestra representativa del residuo sólido. Las muestras se congelaron inmediatamente a -20°C .

Procesado de las muestras y análisis químicos

Producción de gas y metano

La producción diaria de gas (L/d) en los fermentadores RUSITEC se midió conectando la bolsa de recogida del gas a un medidor de volumen (modelo TG1; Ritter Apparatebau GmbH, Bochum, Alemania). El volumen de gas fue corregido para las condiciones normales (1 atmósfera de presión y 273°K de temperatura) en función de la temperatura y la presión atmosférica del momento, y se calcularon los moles

de gas producidos. La concentración de CH₄ en el gas de las bolsas del RUSITEC y de las muestras de las botellas de los CNRMR se determinó utilizando un cromatógrafo de gases (Shimadzu GC 14B) equipado con un detector de ionización de llama (FID) y una columna empaquetada con Carboxen 1000 (malla 45-60; Supelco, Madrid, España). Las muestras de gas se inyectaron en el cromatógrafo por duplicado. El cálculo de la concentración de CH₄ se realizó mediante la comparación con un estándar que posee una concentración de CH₄ conocida (10%).

Composición química

El contenido de MS de las muestras se determinó mediante desecación a 100°C en una estufa de ventilación forzada hasta alcanzar un peso constante (AOAC, 1999). El contenido de cenizas se determinó por calcinación de las muestras en un horno de mufla a 550°C durante 12 horas, y el contenido en materia orgánica (MO) se calculó por diferencia.

El contenido de FND y FAD se analizó siguiendo la técnica secuencial descrita por Van Soest et al. (1991), adoptando las modificaciones propuestas por ANKOM (1998). El contenido en N se determinó mediante el método Kjeldahl (AOAC, 1999), utilizando un equipo de destilación Kjeltex System 1002 (Tecator).

Amoníaco

El análisis de la concentración de NH₃ en las muestras se llevó a cabo siguiendo la técnica descrita por Weatherburn (1967). Este método está basado en la reacción del NH₃ presente en la muestra con fenol e hipoclorito sódico (NaClO), de tal forma que se produce indofenol.

Ácido láctico

La determinación de la concentración de lactato se realizó según la técnica descrita por Taylor (1996) que se basa en la reacción del ácido láctico presente en la muestra con parafenilfenol y sulfato de cobre en presencia de ácido sulfúrico y calor, produciéndose un compuesto que absorbe la luz a 570 nm.

Ácidos grasos volátiles

Las muestras que se recogieron para analizar su concentración de AGV se descongelaron a 4°C, y se mezclaron 0,8 mL del sobrenadante con 0,5 mL de una solución acidificante y desproteinizante (100 g

de ácido metafosfórico y 0,6 g de ácido crotónico, utilizado como estándar interno, por litro de HCl). La mezcla obtenida se dejó reposar durante 12 horas en frío (4°C) y se centrifugó a 13 000 x g durante 15 minutos a 4°C antes de proceder a su trasvase a viales de cromatografía. La concentración de los ácidos acético, propiónico, isobutírico, butírico, isovalérico, valérico y caproico se determinó mediante cromatografía de gases, en un cromatógrafo Shimadzu GC 2010 equipado con un inyector automático, un detector de ionización de llama y una columna semicapilar TR- FFAP de 30 m x 0.53 mm x 1 µm (Supelco, Barcelona, España).

Actividad enzimática

La actividad enzimática en las muestras se determinó siguiendo los procedimientos descritos por Giraldo et al. (2008). Las muestras de contenido sólido (aproximadamente 10 g) se descongelaron a 4°C. Una submuestra de 2 g se utilizó para determinar el contenido en MS y el resto fue picado con tijeras. A continuación, se pesaron 3 g en una bolsa de Stomacher® y se mezclaron con 15 mL de tampón fosfato (pH = 6,5) que contenía ditioneitol (DTT; 1mM). La mezcla fue homogeneizada en un Stomacher® (Stomacher 400 Circulator, Seward Ltd., Londres, Reino Unido) a 230 revoluciones por minuto durante 5 min con el objetivo de desligar los microorganismos de las partículas de alimento. De la suspensión resultante se tomaron 1,5 mL que se trataron durante 3 min en un Mini-Beadbeater (BioSpec Products, Inc., Bartlesville, OK, Estados Unidos) para acceder a enzimas de membrana e intracelulares. Tras el tratamiento las muestras se centrifugaron (10 000 x g; 10 min; 4°C) y en el sobrenadante se analizaron las actividades carboximetilcelulasa, xilanasas y amilasa usando como sustrato carboximetilcelulosa, xilano de avena y almidón soluble respectivamente. Las muestras de líquido ruminal se descongelaron también a 4°C y se tomaron 1,5 mL que se trataron en un Mini-Beadbeater y se analizaron siguiendo los procedimientos descritos anteriormente. La actividad enzimática se expresó como µmoles de glucosa o xilosa liberados del sustrato correspondiente por g de MS de contenido sólido o mL de líquido ruminal en un minuto a pH = 6,5 y 39°C.

Extracción y cuantificación de ADN

El ADN se extrajo de las muestras siguiendo la técnica descrita por Yu y Morrison (2004) con un paso adicional en el que las muestras se trataron con bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) para eliminar

inhibidores de la PCR (Saro *et al.*, 2012). El DNA extraído se cuantificó por espectrometría usando un Nanodrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, DE, Estados Unidos) a una longitud de onda de 260 nm y su calidad se estimó a partir de la relación de absorbancias a 260 y 280 nm (A260/A280).

Análisis automatizado de la región espaciadora intergénica ribosomal (Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis, ARISA)

El ADN extraído se amplificó usando los cebadores bacterianos universales 16S-1392F y 23S-123R (Danovaro *et al.*, 2006); sintetizados por Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid, España), que amplifican la región en el operón ITS1 del ARNr (Tabla 3.1). El cebador inverso fue marcado con el fluorocromo 6-FAM. Cada mezcla de PCR (25 µL volumen final) contenía tampón de reacción de PCR 1x, 1,5 mM MgCl₂, 0,25 µM de cada cebador, cada desoxinucleótido trifosfato en una concentración de 0,2 mM y 2,5 UI de Taq polimerasa (Biotools B&M Labs S.A., Madrid, España), agua miliQ y 10 ng de ADN. La reacción se inició con un ciclo de desnaturalización inicial de 4 min a 94°C seguido de 30 ciclos de desnaturalización 1 min a 94°C, anillamiento durante 1 min a 55°C y elongación a 72°C durante 2 min, con un paso final de elongación a 72°C durante 2 min.

Cebador	Secuencia
16S-1392 F	5'-GYACACACCGCCCGT-3'
23S-125 R	5'-GGGTTBCCCCATTCRG-3'

Tabla 2. Secuencias de los cebadores para el análisis automatizado de la región espaciadora intergénica ribosomal (Danovaro *et al.*, 2006)

Para cada muestra, 5 ng de amplicón se mezclaron con un estándar interno de tamaño (GS 1200 LIZ, Applied Biosystems, Foster City, CA, Estados Unidos) en formamida desionizada, después se desnaturalizaron a 94°C durante 4 min e inmediatamente se colocaron en hielo. La detección automática de los fragmentos del ARISA se llevó a cabo usando un secuenciador ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, Estados Unidos) con un capilar de 36 cm por 50 µm y el polímero POP-7 (Applied Biosystems, Foster City, CA, Estados Unidos). Con el fin de incluir el máximo número de picos evitando la fluorescencia basal y así estandarizar los electroferogramas, se utilizó un umbral de 100 unidades de fluorescencia. Con el perfil de picos del electroferograma se construyó una matriz de ceros y unos y se

calculó el índice de diversidad de Shannon y Weaver (1949) para cada grupo de muestras y este índice fue utilizado para evaluar la diversidad de las comunidades bacterianas. Asimismo, se construyeron dendrogramas usando el coeficiente de correlación Pearson y la opción UPGMA (Umweight pair-group method) y se realizó un análisis de componentes principales utilizando el software MVSP v3.12d (Kovach Computing Service, Anglesey, Gales, Reino Unido).

PCR cuantitativa (quantitative PCR, qPCR)

La PCR cuantitativa se utilizó para la cuantificación absoluta de bacterias y protozoos y para la cuantificación relativa de tres especies de bacterias fibrolíticas (*Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* y *Ruminococcus flavefaciens*), de los hongos y de las arqueas.

Las PCR se realizaron usando Power SYBR[®] Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido) y se analizaron en un ABI PRISM 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido). Las secuencias de los cebadores utilizados se muestran en la Tabla 3.2.

Especie destino	Secuencia	Tamaño	
Bacterias totales	f-CGGCAACGAGCGGAACCC r-CCATTGTAGCACGTGTGTAGCC	130	(Denman y McSweeney, 2006)
Hongos	f-GAGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTC r CAAATTCACAAAGGGTAGGATGATT	120	(Denman y McSweeney, 2006)
Protozoos	f-GCTTTCGWITGGTAGTGTATT r-CTTGCCCTCYAATCGTWCT	223	(Sylvester <i>et al.</i> , 2004)
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	f-GTTCGGAATTACTGGGCGTAAA r-CGCCTGCCCTGAACTATC	121	(Denman y McSweeney, 2006)
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	f-CGAACGGAGATAATTTGAGTTTACTTAGG r-CGGTCTCTGTATGTTATGAGGTATTACC	132	(Denman y McSweeney, 2006)
<i>Ruminococcus albus</i>	f-CCCTAAAACCAGTCTTAGTTCG r CCTCCTTGC GGTTAGAACA	176	(Koike y Kobayashi, 2001)
Arqueas metanogénicas	f-TTCGGTGGATCDCARAGRGC r-GBARGTCGWAWCCGTAGAATC	140	(Denman <i>et al.</i> , 2007)

Tabla 3. Secuencia de los cebadores para la PCR en tiempo real

En todos los casos el volumen de reacción fue de 20 μ L, que contenían 10 μ L de SBYR Green PCR Master Mix, 0,9 μ L de cada cebador (20 μ M), 6,20 μ L de agua destilada y 20 ng de la muestra de ADN. En el caso de las bacterias, las arqueas y los hongos las condiciones de la PCR fueron: un primer paso de desnaturalización de 94°C durante 10 min y 40 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 15 s y anillamiento y elongación a 60°C durante 1 min. En el caso de los protozoos las condiciones de la PCR fueron desnaturalización a 95°C durante 10 min seguido de 40 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 15 s, anillamiento a 54°C durante 30 s y elongación a 60°C durante 1 min.

En todos los casos se realizó una curva de desnaturalización para comprobar la especificidad de los amplicones, y en cada placa se cargó una muestra de agua destilada estéril para actuar como control negativo para detectar contaminación o formación de dímeros.

Para la cuantificación absoluta de las bacterias totales y de protozoos se creó una curva patrón con estándares de ADN bacteriano y otra de ADN protozoario de concentración conocida. El ADN fue obtenido del rumen de las ovejas siguiendo los procedimientos descritos por Ramos *et al.* (2009) y Saro *et al.* (2012) para las bacterias y los protozoos respectivamente. La cuantificación de las bacterias fibrolíticas y de los hongos se realizó de forma relativa en función de la cuantificación absoluta de las bacterias totales según el método propuesto por Pfaffl (2001).

RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Prueba 1

La primera prueba fue diseñada para evaluar el efecto de crecientes dosis de aceite de ajo y cinamaldehído [0 (control), 20, 60, 180 and 540 mg/L medio de incubación] sobre la fermentación ruminal *in vitro* de dos dietas diferentes (50:50 heno de alfalfa:concentrado y 15:85 paja de cebada:concentrado) que a su vez fueron suministradas a las ovejas donadoras del inóculo.

Ingrediente (g/kg de MS)	Dieta	
	MC	AC
Heno de alfalfa	500	–
Paja de cebada	–	150
Cebada	199	425

Maiz	96	255
Harina de soja	71	150
Altramuz	60	–
Avena	31,5	–
Soja	15	–
Carbonato cálcico	6,9	6,7
Caña de azucar	5	–
NaCl	3,5	3,7
Fosfato dicalcio	2,1	–
Mezcla vitaminico-mineral ^A	10	10

Análisis químicos (g/kg de MS)

Materia orgánica	935	942
Proteína Bruta	186	150
Fibra neutro detergente	394	357
Fibra ácido detergente	179	126

^A Composición (g/kg mezcla vitaminico-mineral): vitamina A, 600 000 UI; vitamina D3, 120 000 UI; vitamina E, 1 g; vitamina B1, 33 mg; niacina, 1,5 g; S, 5 g; IK, 300 mg; SO4Fe, 1 g; ZnO, 4 g; MnO, 2 g; CoSO₄, 60 mg; Na₂SeO₃, 30 mg; Etoxyquina, 30 mg.

Tabla 4. Ingredientes y análisis químico de las dietas con contenido medio (MC) y alto de concentrado (AC) utilizadas para alimentar a las ovejas donantes y como sustratos para las incubaciones in vitro

Resultados

Se encontraron diferencias entre las características de fermentación de los dos inóculos utilizados en este experimento (Tabla 5). El inóculo de las ovejas alimentadas con la mitad de concentrado tuvo un pH más alto ($P = 0,03$), una mayor concentración de NH₃-N ($P = 0,03$), proporción de acetato ($P = 0,002$) y relación acético:propiónico ($P = 0,006$), pero una menor proporción de propiónico ($P = 0,02$) comparado con el inóculo de ovejas alimentadas con alto contenido en concentrado. Sin embargo, no hubo diferencias entre ambos inóculos ni en la proporción molar de butírico ($P = 0,75$), ni en la proporción de otros AGV ($P = 0,98$), ni en la concentración de lactato ($P = 0,53$). Los pH iniciales de los medios de incubación fueron 6,98 y 6,59 para las dietas MC y AC dietas, respectivamente.

Efectos del aceite de ajo

Los efectos de la adición de aceite de ajo en los cultivos no renovados de microorganismos ruminales sobre los parámetros de fermentación se muestran en las Tablas 6 y 7. El tipo de dieta afectó a todo

los parámetros medidos ($P < 0,001$), con la excepción de la concentración de lactato total ($P = 0,11$). Interacciones aceite de ajo x tipo dieta ($P < 0,001 - 0,003$) fueron detectadas para la proporción molar de acético, butírico y caproico, la producción de gas y de metano y para las relaciones acético:propiónico y metano:AGV. A medida que se incrementaba la dosis de aceite de ajo disminuyó de forma lineal las proporciones molares de acético ($P < 0,001$) y caproico ($P = 0,01$) y la relación acético:propiónico ($P < 0,001$), pero aumentó ($P < 0,001$) las proporciones molares de propiónico, butírico y valérico. La dosis requerida para detectar efectos significativos fue generalmente mas baja cuando se incubó la dieta MC que cuando se incubó la AC. A medida que se aumentaba la dosis de aceite de ajo disminuyó de forma lineal ($P < 0,001$) la producción de gas y metano. Como consecuencia de esto la relación metano:AGV también disminuyó ($P < 0,001$) cuando la concentración de aceite de ajo aumentaba. La proporción de metano en el gas producido y la recuperación de hidrógeno disminuyeron de forma lineal ($P < 0,001$) cuando la concentración de aceite de ajo aumentaba. No se observaron ni efectos lineales ni cuadráticos ($P = 0,09 - 0,98$) con la adición de aceite de ajo para la producción total de AGV, la proporción molar de isobutírico e isovalérico, la materia orgánica aparentemente fermentable, el pH final y las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ y láctico.

Dieta ^A	pH	AGV totales (mmol/L)	Fluido ruminal						
			Acético (mmol/mol AGV totales)	Propiónico (mmol/mol AGV totales)	Butírico (mmol/mol AGV totales)	Otros AGV ^B (mmol/mol AGV totales)	Acético:propiónico (mol/mol)	Amoníaco (mg/L)	láctico total (mg/L)
MC	6,73	117	654	180	109	56,4	3,63	127	8,98
AC	6,45	99	585	226	132	56,6	2,6	114	8,4
s.e.m.	0,073	5,79	6,5	10,3	3,8	8,56	0,142	3,2	0,091
Valor de <i>P</i>	0,03	0,05	0,002	0,02	0,75	0,98	0,006	0,03	0,53

^A Dietas que recibían los animales donantes. Dieta MC (medio-concentrado) compuesta de heno de alfalfa y concentrado (500 y 500 g/kg MS, respectivamente) y dieta AC (alto-concentrado) compuesta de paja de cebada y concentrado (150 y 850 g/kg MS, respectivamente).

^B Calculado como la suma de isobutírico, isovalérico, valérico y caproico.

Tabla 5. Valores medios de pH y concentraciones de ácidos grasos volátiles (VFA), de NH₃-N y ácido láctico total en fluido ruminal utilizado como inóculo para las incubaciones in vitro

Variable	Tratamiento							Valores de P			
	Dieta	CON	AA20	AA60	AA180	AA540	s.e.m.	AA		Dieta	AA × dieta
								L	C		
Total VFA (mmol)	MC	2,07	2,07	2,08	1,99	1,93	0,057	0,26	0,09	<0,001	0,46
	AC	2,20	2,26	2,23	2,18	2,20	–	–	–	–	–
Molar proportion (mmol/mol total VFA) of:											
Acético	MC	629	625	608 ^A	569 ^A	547 ^A	5,3	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	AC	525	533	529	508 ^A	479 ^A	–	–	–	–	–
Propiónico	MC	215	218	233 ^A	256 ^A	268 ^A	6	<0,001	0,003	<0,001	0,06
	AC	309	306	309	326 ^A	350 ^A	–	–	–	–	–
Butírico	MC	106	108	112 ^A	124 ^A	138 ^A	2,9	<0,001	0,002	<0,001	<0,001
	AC	140	135	135	140	145	–	–	–	–	–
Isobutírico	MC	12,5	11,5	10,8	12,5	13,4	3,46	0,94	0,35	<0,001	0,81
	AC	3,3	2,9	3,1	3	3,3	–	–	–	–	–
Isovalérico	MC	13,5	13,5	13,2	14	12,7	0,52	0,37	0,91	<0,001	0,55
	AC	6,9	7,3	7,5	7,2	6,4	–	–	–	–	–
Valérico	MC	17,5	17,7	18,3	19,3 ^A	19,1 ^A	0,46	<0,001	0,06	<0,001	0,56
	AC	13,3	13,3	13,8	14,7 ^A	15,5 ^A	–	–	–	–	–
Caproico	MC	6,8	6,2	7,1	4,8 ^A	1,5 ^A	0,53	0,01	0,05	<0,001	<0,001
	AC	2,7	2,6	2,7	2,2	1,5 ^A	–	–	–	–	–
Acético:propiónico (mol/mol)	MC	2,93	2,87	2,62 ^A	2,23 ^A	2,05 ^A	0,66	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	AC	1,7	1,75	1,71	1,57 ^A	1,37 ^A	–	–	–	–	–
MOAF (mg)	MC	177	178	180	173	171	5,5	0,49	0,16	<0,001	0,81
	AC	198	203	200	196	200	–	–	–	–	–

^A Para cada dieta y variable, las medias son diferentes del control (CON) (P < 0,05)

Tabla 6. Efectos de cinco dosis de aceite de ajo (0, 20, 60, 180 y 540 mg/L para CON, AA20, AA60, AA180 y AA540, respectivamente), sobre la producción total de ácidos grasos volátiles (AGV), las proporciones molares de AGV, la relación acético:propiónico, y la materia orgánica aparentemente fermentada (MOAF) después de la fermentación *in vitro* de dietas (300 mg) con contenido medio-concentrado (MC) y alto-concentrado (AC) por microorganismos ruminales durante 16 h (n = 4)

L, efecto lineal de la dosis de AA; C, efecto cuadrático de la dosis de AA

Variable	Dieta	Tratamiento					s.e.m.	Valores de P				
		CON	AA20	AA60	AA180	AA540		GO		Dieta	GO × dieta	
								L	Q			
pH	MC	6,63	6,66	6,64	6,67	6,65	0,027	0,16	0,89	<0,001	0,25	
	AC	6,51	6,52	6,53	6,54	6,53	–	–	–	–	–	
NH ₃ -N (mg/L)	MC	232	228	231	243	230	8,8	0,86	0,98	<0,001	0,85	
	AC	95	99	93	91	90	–	–	–	–	–	
Lactato total (mg/L)	MC	13	9,8	9,9	9,6	10,5	1,78	0,12	0,4	0,11	0,57	
	AC	9,9	10,1	9	9,4	7,5	–	–	–	–	–	
Gas (mmol)	MC	3,22	3,22	3,24	3,03 ^A	2,90 ^A	0,047	<0,001	0,001	<0,001	0,002	
	AC	3,35	3,36	3,34	3,25 ^A	3,26 ^A	–	–	–	–	–	
Metano (mmol)	MC	0,54	0,53	0,47A	0,32 ^A	0,20 ^A	0,022	<0,001	<0,001	<0,001	0,001	
	AC	0,47	0,42A	0,42A	0,35 ^A	0,18 ^A	–	–	–	–	–	
Metano/AGV (mol/mol)	MC	0,26	0,26	0,23A	0,16 ^A	0,10 ^A	0,012	<0,001	0,006	<0,001	0,003	
	AC	0,21	0,19A	0,19A	0,16 ^A	0,08 ^A	–	–	–	–	–	
Proporción de metano (mmol/mol gas)	MC	168	164	146A	104 ^A	68 ^A	6,7	<0,001	0,003	<0,001	0,003	
	AC	140	126A	127A	107 ^A	55 ^A	–	–	–	–	–	
Recuperación de hidrógeno (%)	MC	90,2	89,7	85,5	75,6 ^A	65,7 ^A	2,61	<0,001	0,16	0,02	0,06	
	AC	92,2	84,4A	87,8	83,8 ^A	71,2 ^A	–	–	–	–	–	

^A Para cada dieta y variable, las medias son diferentes del control (CON) (P < 0,05)

Tabla 7. Efectos de cinco dosis de aceite de eaja (0, 20, 60, 180 y 540 mg/L para CON, AA20, AA60, AA180 y AA540, respectivamente), sobre el pH final, las concentraciones de NH₃-N y lactato total, la producción de gas y de metano, la relación metano/ácidos grasos volátiles (metano/AGV), la proporción de metano en el gas producido y la recuperación de hidrógeno después de la fermentación *in vitro* de dietas (300 mg) con un contenido medio (MC) y alto (HC) de concentrado en cultivos no renovados de microorganismos ruminales durante 16 h (n = 4)

L, efecto lineal de la dosis de CIN; Q, efecto cuadrático de la dosis de CIN

Efectos del cinamaldehído

Los efectos del CIN en la fermentación ruminal in vitro se muestran en las Tablas 8 y 9. El tipo de dieta afectó ($P < 0,001 - 0,008$) a la mayoría de parámetros medidos, con la excepción de la MOAF ($P = 0,07$), la concentración total de lactato ($P = 0,08$) y la recuperación de hidrógeno ($P = 0,99$). Las interacciones del cinamaldehído \times tipo de dieta se dieron ($P < 0.001 - 0.04$) para todos los parámetros estudiados, con la excepción del pH ($P = 0,15$) y las proporciones molares de caproico ($P = 0,77$), isobutírico ($P = 0,98$) e isovalérico ($P = 0,59$). A medida que se aumentaba la dosis de CIN incrementó linealmente ($P = 0,002$) la proporción de acético y disminuyó la de propiónico ($P = 0,04$) y la concentración de $\text{NH}_3\text{-N}$ ($P < 0,001$). No se detectaron efectos lineales ni cuadráticos ($P = 0,10 - 0,99$) con la adicción de CIN para la producción total de AGV, gas y metano, las proporciones molares de butírico, isobutírico, valérico, isovalérico y caproico, la MOAF, el pH final, y la concentración de lactato.

Variable	Tratamiento							Valores de P				
	Dieta	CON	CIN20	CIN 60	CIN 180	CIN 540	s.e.m.	CIN		Dieta	CIN × dieta	
								L	Q			
AGV totales (mmol)	MC	2,07	2,09	2,09	2,12	1,87A	0,070	0,22	0,30	<0,001	<0,001	
	AC	2,20	2,20	2,15	2,29	1,26A	–	–	–	–	–	
Proporción molar (mmol/mol AGV totales) de:												
Acético	MC	629	625	628	644 ^A	580 ^A	7,3	0,002	0,06	<0,001	<0,001	
	AC	525	526	533	540 ^A	554 ^A	–	–	–	–	–	
Propiónico	MC	215	219	218	204	220	6,2	0,04	0,09	<0,001	<0,001	
	AC	309	310	305	301	272 ^A	–	–	–	–	–	
Butírico	MC	106	105	104	104	148 ^A	2,9	0,10	0,63	<0,001	<0,001	
	AC	140	138	137	136	139	–	–	–	–	–	
Isobutírico	MC	10,5	13,0	12,5	10,7	11,2	2,84	0,40	0,53	<0,001	0,98	
	AC	3,3	3,1	3,1	1,6	3,8	–	–	–	–	–	
Isovalérico	MC	13,5	13,4	13,4	12,5	12,4	0,56	0,27	0,38	<0,001	0,59	
	AC	6,9	6,9	7,1	6,9	6,8	–	–	–	–	–	
Valérico	MC	17,5	17,9	17,6	17,3	20,2 ^A	0,95	0,46	0,74	<0,001	0,02	
	AC	13,3	13,1	12,9	12,7	19,8 ^A	–	–	–	–	–	
Caproico	MC	6,8	6,9	7,1	7,4	8,5	0,69	0,73	0,94	<0,001	0,77	
	AC	2,7	2,5	2,6	2,3	4,6	–	–	–	–	–	
Acético:propiónico (mol/mol)	MC	2,93	2,86	2,88	3,17 ^A	2,64 ^A	0,097	0,02	0,04	<0,001	<0,001	
	AC	1,70	1,70	1,75	1,79	2,04 ^A	–	–	–	–	–	
MOAF (mg)	MC	177	178	178	181	166	6,5	0,28	0,30	0,07	<0,001	
	AC	198	198	194	207	113 ^A	–	–	–	–	–	

^A Para cada dieta y variable, las medias son diferentes del control (CON) (P < 0,05)

Tabla 8. Efectos de cinco dosis de cinamaldehído (0, 20, 60, 180 y 540 mg/L para CON, CIN20, CIN60, CIN180 y CIN540, respectivamente), sobre la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) totales, las proporciones molares de los AGV, la relación acético:propiónico, y la materia orgánica aparentemente fermentada (MOAF) después de la fermentación *in vitro* de dietas (300 mg) con un contenido medio (MC) y alto (HC) de concentrado en cultivos no renovados de microorganismos ruminales durante 16 h (n = 4) L, efecto lineal de la dosis CIN; Q, efecto cuadrático de la dosis CIN

Variable	Tratamiento						Valores de P				
	Dieta	CON	CIN20	CIN 60	CIN 180	CIN 540	s.e.m.	CIN		Dieta	CIN × dieta
							L	Q			
pH	MC	6,63	6,62	6,65	6,65	6,64	0,028	0,37	0,86	<0,001	0,15
	AC	6,51	6,52	6,53	6,52	6,49	–	–	–	–	–
NH ₃ -N (mg/L)	MC	232	225	199 ^A	188 ^A	250 ^B	10	<0,001	0,44	<0,001	0,04
	AC	95	95	87	78 ^B	102	–	–	–	–	–
Lactato total (mg/L)	MC	13	10,8	12,3	12,1	292,5 ^A	49,3	0,99	0,99	0,08	0,04
	AC	9,9	9,1	10,8	8,8	103,9 ^A	–	–	–	–	–
Gas (mmol)	MC	3,22	3,25	3,26	3,22	3,12 ^A	0,048	0,6	0,93	0,008	<0,001
	AC	3,35	3,33	3,34	3,39	2,96 ^A	–	–	–	–	–
Metano (mmol)	MC	0,54	0,54	0,51	0,49	0,37 ^A	0,031	0,17	0,83	<0,001	<0,001
	AC	0,47	0,46	0,47	0,47	0,11 ^A	–	–	–	–	–
Metano/AGV (mol/mol)	MC	0,26	0,26	0,24	0,23	0,20 ^A	0,018	0,1	0,51	<0,001	0,009
	AC	0,21	0,21	0,22	0,21	0,09 ^A	–	–	–	–	–
Proporción de metano (mmol/mol gas)	MC	168	165	155	150	120 ^A	9	0,12	0,83	<0,001	<0,001
	AC	140	139	144	139	38 ^A	–	–	–	–	–
Recuperación de hidrógeno (%)	MC	90,3	90,3	86,7	81,4 ^A	79,7 ^A	4,02	0,04	0,3	0,99	0,002
	AC	92,2	91,8	92,5	89	62,8 ^A	–	–	–	–	–

^A Para cada dieta y variable, las medias son diferentes del control (CON) (P < 0,05)

^B Para cada dieta y variable, las medias son diferentes del control (CON) (P < 0,10)

Tabla 9. Efectos de cinco dosis de cinamaldehído (0, 20, 60, 180 y 540 mg/L para CON, CIN20, CIN60, CIN180 y CIN540, respectivamente), sobre el pH final, las concentraciones de NH₃-N y lactato total, la producción de gas y de metano, la relación metano/ácidos grasos volátiles (metano/AGV), la proporción de metano en el gas producido y la recuperación de hidrógeno después de la fermentación *in vitro* de dietas (300 mg) con un contenido medio (MC) y alto (HC) de concentrado en cultivos no renovados de microorganismos ruminales durante 16 h (n = 4)

L, efecto lineal de la dosis de CIN; Q, efecto cuadrático de la dosis de CIN

Prueba 2

Los objetivos del segundo trabajo fueron valorar como de aproximados son los cultivos no renovados de microorganismos ruminales para reproducir lo que ocurre en el rumen cuando se fermentan dietas de composición variable, y analizar los cambios en las comunidades bacterianas durante el periodo de incubación mediante el análisis automatizado de la región intergénica ribosomal. Para esto, se incubaron 4 dietas diferentes en cultivos no renovados de microorganismos ruminales durante 24 h y los resultados fueron comparados con los que se determinaron en ovejas alimentadas con las mismas dietas.

Parámetro	HFA	HFG	HCA	HCG
Ingrediente				
Heno de alfalfa	700	–	300	–
Heno de gramíneas	–	700	–	300
Cebada	64	64	152	152
Gluten feed	61	61	145	145
Harina de trigo	57	57	137	137
Harina de soja	41	41	97	97
Harina de palma	38	38	90	90
Trigo	15	15	35	35
Maiz	15	15	35	35
Mezcla vitaminico-mineral ¹	10	10	10	10
Composición química				
Materia seca (g/kg materia fresca)	927	925	925	924
Materia orgánica	913	927	913	919
Nitrógeno	26,9	19,4	28,3	25,6
Fibra neutro detergente	426	499	374	401
Fibra ácido detergente	269	238	187	174

¹ Contenido de la mezcla vitaminico-mineral por kilogramo de MS: 11 250 UI de vitamina A; 2250 UI de vitamina D3; 25 mg de vitamina E; y 10 mg de CuSO₄·5H₂O.

Tabla 10. Ingredientes (g/kg materia seca) y composición química (g/kg materia seca) de las dietas experimentales con 700 g de forraje/kg materia seca (AF) o 300 g de forraje/kg materia seca (AC) y heno de alfalfa (A) o heno de gramíneas (G) como forraje

Resultados

Los efectos de la relación forraje:concentrado (RFC) y del tipo de forraje sobre los parámetros de la fermentación ruminal y la degra-

dabilidad de la dieta en ovejas y en cultivos no renovados de microorganismos ruminales se muestran en la Tabla 11. No hubo interacciones RFC x forraje ($P = 0,122$ a $0,890$) para ninguna variable medida en los CNRMR con la excepción de la proporción molar de valérico ($P = 0,041$) y una tendencia para la degradabilidad aparente de la materia seca ($P = 0,060$), lo cual concuerda con los resultados obtenidos en oveja, donde la interacción RFC x forraje solo se encontró para la proporción molar de valérico ($P < 0,001$) y una tendencia para la degradabilidad aparente de la materia seca ($P = 0,079$).

La reducción de la proporción de forraje en la dieta disminuyó el pH del rumen en las ovejas ($P = 0,003$), pero solo una tendencia fue observada en los CNRMR ($P = 0,064$). Mientras que en las ovejas la fermentación de dietas de alto contenido en forraje provocó una mayor ($P < 0,05$) degradabilidad aparente de la materia seca y degradabilidad de la fibra neutro detergente comparado con las dietas de alto contenido en concentrado, en los CNRMR las dietas AF tendieron a una menor ($P = 0,052$) degradabilidad de la materia seca que las dietas AC y no fueron observadas diferencias ($P = 0,222$) en la degradabilidad de la FND. Tanto in vivo como in vitro las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ fueron menores ($P < 0,05$) para las dietas AF comparado con las dietas AC, pero no se vieron diferencias ($P > 0,110$) en las concentraciones de lactato.

La falta de efecto de la RFC en la concentración de AGV totales en las ovejas ($P = 0,668$) contrasta con la mayor concentración de AGV ($P = 0,010$) observada en dietas AC en los CNRMR. Hubo concordancia entre los CNRMR y las ovejas en la interpretación de los efectos de la RFC sobre el prefill de los AGV y en ambos sistemas la fermentación de dietas AF produjeron mayor ($P < 0,05$) proporción molar de acetato y mayor relación acético propiónico, y menores ($P < 0,05$) proporciones molares de butírico, isovalérico y caproico, comparado con la fermentación de dietas AC.

Ambos sistemas de fermentación detectaron diferencias similares atribuibles al tipo de forraje para la mayoría de los parámetros medidos. Las dietas que contenían heno de alfalfa provocaron ($P < 0,05$) una mayor degradabilidad aparente de la MS, mayores concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ y AGV totales y mayores proporciones molares de butírico, isobutírico y valérico que las que contenían heno de gramíneas tanto en ovejas como en CNRMR. La degradabilidad de la FND tendió a ser mayor ($P = 0,079$) para las dietas que contenían heno de alfalfa que para las dietas que contenían heno de gramíneas en las ovejas, pero no

se detectaron diferencias ($P = 0,678$) debido al tipo de forraje en CNRMR.

Hubo diferencias entre los sistemas de fermentación en la magnitud de la mayoría de los parámetros determinados. Los valores de pH fueron más altos ($P < 0,001$) en los CNRM que en las ovejas (0,37 y 0,47 unidades para las dietas AF y AC, respectivamente). Las ovejas tuvieron valores de degradabilidad aparente de la MS más bajos ($P < 0,001$) que para los CNRMR tanto para dietas AF (0,502 y 0,574 g/g, respectivamente) como para dietas AC (0,471 y 0,617 g/g, respectivamente). Para todas las dietas, los valores de degradabilidad de la FND fueron entre 1,55 y 1,69 veces más bajos en los CNRMR que en las ovejas. Las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ en los CNRMR fueron entre 1,63 y 3,02 veces más altos que in vivo, mientras que las concentraciones de lactato y AGV totales fueron 0,47 y 0,55 y 0,57 y 0,74 veces más que estas in vivo, respectivamente. A pesar de las diferencias en la magnitud de la concentración de AGV totales, hubo relaciones estadísticamente significativas entre los valores in vivo y los valores en los CNRMR ($n = 16$) para las proporciones molares de acético ($r = 0,831$; $P < 0,001$), propiónico ($r = 0,647$; $P = 0,007$) y butírico ($r = 0,582$; $P = 0,018$) y la relación acético:propiónico ($r = 0,675$; $P = 0,004$).

Un total de 181 picos fueron detectados en los electroferogramas del ARISA en un total de 32 muestras, y el número de picos en las muestras fue de 75 a 94 en el inóculo y de 65 a 90 en las muestras de los CNRMR. Como se muestra en la Tabla 12, el número de picos y el índice de Shannon en las muestras de los CNRMR no se vieron afectados ($P = 0,165$ a $0,866$) por la RFC ni por el tipo de forraje, pero los inóculos de las ovejas alimentadas con heno de alfalfa como forraje tuvo un mayor ($P = 0,030$) número de picos e índice de Shannon que los inóculos de ovejas alimentadas con heno de gramíneas. El índice de similitud entre las comunidades bacterianas presentes en los inóculos y las comunidades bacterianas en el correspondiente CNRMR no se vio afectado ($P > 0,05$) por ninguno de los factores dietéticos estudiados.

Parámetro ²		Dieta ¹					Valor de P		
		AFA	AFG	ACA	ACG	SEM	RFC	Forraje	RFC x Forraje
pH	Oveja	6,36	6,49	6,23	6,17	0,046	0,003	0,27	0,151
	CNRMR	6,76	6,83	6,65	6,69	0,038	0,064	0,389	0,473
Degradabilidad aparente									
Materia seca	Oveja	0,512	0,492	0,42	0,441	0,0878	<0,001	0,967	0,06
	CNRMR	0,58	0,568	0,612	0,622	0,0238	<0,001	0,449	0,079
Fibra neutro detergente	Oveja	0,622	0,632	0,523	0,584	0,0135	0,005	0,079	0,106
	CNRMR	0,399	0,388	0,337	0,345	0,012	0,222	0,678	0,284
NH ₃ -N	Oveja	184	83,1	204	122	12,5	0,041	0,004	0,533
	CNRMR	300	204	429	369	16,4	0,002	0,003	0,122
Lactato	Oveja	35,9	28,8	39,3	32,8	2,97	0,112	0,115	0,966
	CNRMR	19,8	14,4	18,9	15,4	1,94	0,883	0,268	0,268
Ácidos grasos volátiles totales	Oveja	107,8	84,4	98,1	90,2	2,88	0,668	0,001	0,117
	CNRMR	61,3	52,9	73	63,4	2,18	0,01	0,013	0,816
Proporciones molares de									
Acético	Oveja	66,2	68	62,7	63,4	0,45	<0,001	0,136	0,112
	CNRMR	63,4	64,3	57,5	58,9	0,65	<0,001	0,144	0,331
Propiónico	Oveja	17,3	18,6	17,6	18	0,3	0,51	0,004	0,352
	CNRMR	19,5	22,6	18,5	21,1	0,72	0,733	0,011	0,707
Butírico	Oveja	11,9	10,5	15,2	14,9	0,4	<0,001	0,049	0,129
	CNRMR	11,7	9,9	18	15	0,57	<0,001	0,01	0,859
Isobutírico	Oveja	1,27	0,79	1,2	0,84	0,076	0,631	0,003	0,156
	CNRMR	1,13	0,57	1,34	0,97	0,105	0,144	0,006	0,324
Isovalérico	Oveja	1,19	0,7	1,22	0,94	0,032	0,02	<0,001	0,124
	CNRMR	1,87	1,04	2,63	1,79	0,177	0,046	0,004	0,642
Valérico	Oveja	1,94	1,14	1,68	1,45	0,023	0,34	<0,001	<0,001
	CNRMR	2,11	1,37	1,82	1,78	0,139	0,706	0,031	0,041
Caproico	Oveja	0,22	0,27	0,41	0,43	0,017	<0,001	0,2	0,25

Parámetro ²	Dieta ¹					Valor de P			
	AFA	AFG	ACA	ACG	SEM	RFC	Forraje	RFC x Forraje	
Acético/propiónico	CNRMR	0,21	0,16	0,24	0,29	0,03	0,046	0,95	0,335
	Oveja	3,85	3,67	3,56	3,52	0,076	0,397	0,082	0,133
	CNRMR	3,25	2,85	3,11	2,79	0,117	0,262	0,029	0,413

¹ AFA: 700 g de heno de alfalfa/kg materia seca; AFG: 700 g de heno de gramíneas/kg materia seca; ACA: 300 g de heno de alfalfa/kg materia seca; ACG: 300 g de heno de gramíneas/kg materia seca. El mismo concentrado fue usado para todas las dietas.

² Los valores para pH, NH₃-N, lactato y AGV en ovejas son medias de los tiempos de muestreo 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 y 22 h después de la alimentación de la mañana. Los valores en los CNRMR fueron medidos tras 24 h de incubación.

Tabla 11. Efecto de la relación forraje:concentrado (RFC) y el tipo de forraje sobre la degradabilidad aparente (g/g) de la materia seca y de la fibra neutro detergente, las concentraciones de NH₃-N (mg/l), de lactato (mg/l) y de los ácidos grasos volátiles (mmol/l), las proporciones molares (mol/100 mol) de los ácidos grasos volátiles individuales y la relación acético/propiónico (mol/mol) en ovejas y en cultivos no renovados de microorganismos ruminales (CNRMR) inoculados con fluido ruminal de ovejas

Parámetro	Dieta ¹					Valor de P			
	AFA	AFG	ACA	ACG	SEM	RFC	Forraje	RFC x Forraje	
Índice de Shannon									
CNRMR	4,41	4,35	4,39	4,39	0,019	0,725	0,185	0,205	
IN	4,51	4,42	4,46	4,44	0,019	0,631	0,030	0,105	
Número de picos									
CNRMR	82,5	78,3	80,8	80,5	1,42	0,866	0,165	0,209	
IN	90,5	83	86,5	85,3	1,53	0,593	0,030	0,108	
Índice de similitud CNRMR-IN	74,7	67,2	71,9	71,9	1,98	0,662	0,111	0,110	

¹ AFA: 700 g de heno de alfalfa/kg materia seca; AFG: 700 g de heno de gramíneas/kg materia seca; ACA: 300 g de heno de alfalfa/kg materia seca; ACG: 300 g de heno de gramíneas/kg materia seca. El mismo concentrado fue usado para todas las dietas

Tabla 12. Efecto de la relación forraje:concentrado (RFC) y el tipo de forraje sobre los valores índice de Shannon y número de picos detectados en los electroferogramas del análisis automatizado del espacio intergénico ribosomal (ARISA) de las muestras de los cultivos no renovados de microorganismos ruminales (CNRMR) y del fluido ruminal de ovejas (IN) usado para inocular los CNRMR, y el índice de similitud (%) de los perfiles de ARISA entre los CNRMR y los IN

Las Figuras 3A y 3B muestran los dendrogramas de los perfiles de ARISA de las muestras de los inóculos y de los CNRMR para las dietas que contenía heno de alfalfa y heno de gramíneas como forraje, respectivamente. No se observe un agrupamiento claro de las muestras en función del Sistema de fermentación o de la RFC, Pero para las dietas con heno de alfalfa las muestras de las ovejas 4 y 3 se agruparon en dos grupos diferenciados; y de manera similar, las muestras de la oveja 2 se agruparon juntas para las dietas que contenían heno de gramínea.

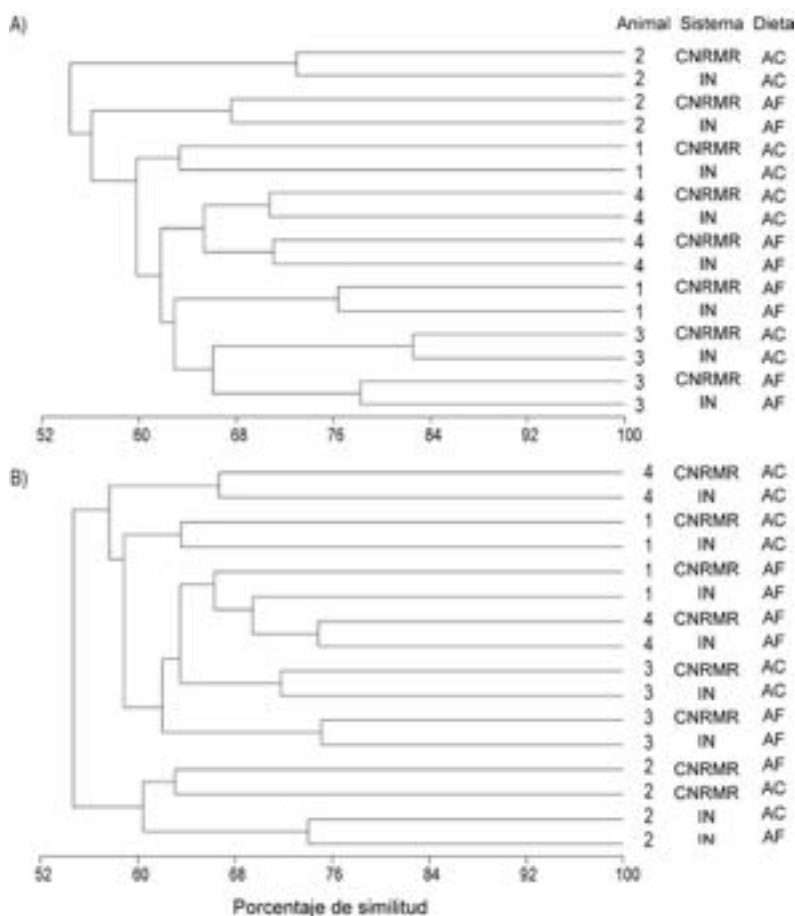


Figura 3. Dendrogramas de los perfiles del análisis automatizado del espacio intergénico ribosomal (ARISA) perfiles de las comunidades bacterianas en el fluido ruminal de ovejas usado como inóculo (IN) y en cultivos no renovados de microorganismos ruminales (CNRMR) tras 24 h de incubación para dietas con 700 (AC) o 300 (AF) g de concentrado por kg de MS y heno de alfalfa (Fig. 1A) o heno de gramíneas (Fig. 1B) como forraje. Números del 1 al 4 corresponden a cada una de las ovejas. En cada caso, cada oveja fue alimentada con la misma dieta incubada en los CNRMR

Prueba 3

El objetivo del tercer trabajo fue evaluar el efecto de tres métodos diferentes de procesamiento del contenido ruminal de oveja (Gasa: filtrado del contenido ruminal a través de 4 capas de gasa; Nailon: filtrado del líquido obtenido del tratamiento anterior a través de un filtro de nailon de 100 µm de poro; STO: tratamiento del contenido ruminal en un Stomacher[®] durante 3 min a 230 r.p.m. y un filtrado posterior a través de 4 capas de gasa) sobre las poblaciones microbianas (bacterias, protozoos, hongos, arqueas metanogénicas, *Fibrobacter succinógenes*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Ruminococcus albus*) y la diversidad bacteriana en los fluidos obtenidos. Un segundo objetivo fue evaluar la influencia sobre la fermentación ruminal *in vitro* cuando los fluidos obtenidos son utilizados para inocular cultivos no renovados de microorganismos ruminales (CNRMR). Para ello seis sustratos de composición variable en cuanto al tipo de forraje (heno de alfalfa, heno de gramíneas o paja de cebada) o a la relación de forraje concentrado (forraje solo o 50:50 forraje:concentrado) fueron incubados durante 8 y 24 h con cada uno de los tres fluidos obtenidos en CNRMR.

Parámetro	Forrajes ¹			Mezclas forraje: concentrado ¹		
	AL	GR	BS	CAL	CGR	CBS
Materia orgánica	879	926	908	902	931	920
Proteína bruta	177	94.4	52.4	189	149	128
Fibra neutro detergente (FND)	455	616	754	381	487	552
Fibra ácido detergente	270	314	448	205	227	449
Lignina ácido detergente (LIG)	81,1	52,3	60,8	49,5	39,5	42,9
LIG/FND (g/g)	0,178	0,087	0,081	0,13	0,085	0,078

¹ Los sustratos fueron heno de alfalfa, heno de gramíneas y paja de cebada, solos (AL, GR y PC, respectivamente) o mezclados 1:1 con un concentrado comercial (CAL, CGR and CPC, respectivamente). El concentrado contenía 932, 200, 350, 143 y 25,5 g de materia orgánica, proteína bruta, fibra neutro detergente, fibra ácido detergente y lignina ácido detergente por kg de materia seca, respectivamente.

Tabla 13. Composición química (g/kg de materia seca) de los sustratos usados en las incubaciones *in vitro*

Resultados

No hubo efectos del método de procesamiento (P = 0,17 a 0,81) en los valores de pH ni en las concentraciones de NH₃-N y de AGV totales e individuales en los fluidos ruminales resistentes.

Efectos del método de procesado en las poblaciones microbianas en el fluido ruminal

En Tabla 14 se muestran las poblaciones microbianas en los fluidos ruminales obtenidos después de aplicar los diferentes métodos de procesados a los contenidos ruminales. Hubo diferencias ($P < 0,05$) entre las ovejas donantes en todas las poblaciones microbianas analizadas. Sin embargo, no hubo diferencias entre los métodos de procesado ($P = 0,11$ to $0,99$) ni en la concentración de ADN bacteriano total ni en la abundancia relativa de *R. flavefaciens*, hongos y arqueas metanogénicas. Comparado con el tratamiento gasa, el tratamiento stomacher increment ($P < 0,05$) la abundancia relative de *F. succinogenes* y tendió ($P < 0,010$) a incrementar la abundancia relativa de *R. albus*, pero disminuyó ($P < 0,05$) la concentración de ADN protozoario total. No hubo diferencias ($P > 0,05$) entre los fluidos obtenidos mediante el procesado gasa y el filtro de nailon en ninguna de las poblaciones microbianas. La diversidad bacterina en los fluidos ruminales, expresada como índice de Shannon y número de picos en los electroferogramas de ARISA, no se vió afectada ($P = 0,40$ y $0,38$, respectivamente) por el método de procesado.

Parámetros	Tratamiento ¹				
	Gasa	Nailon	STO	SEM	P
ADN bacteriano total ($\mu\text{g ADN/mL}$)	40,5	43,3	49,5	2,55	0,11
ADN protozoario total ($\mu\text{g ADN/mL}$)	4,00 ^b	2,72 ^{ab}	1,36 ^a	0,500	0,03
Abundancia relativa de ²					
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	0,382 ^a	0,386 ^a	0,481 ^b	0,0207	0,02
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	0,291	0,306	0,327	0,0138	0,26
<i>Ruminococcus albus</i>	0,723	0,644	1,165	0,1433	0,08
Hongos	0,0015	0,0014	0,0014	0,0003	0,99
Arqueas metanogénicas	0,252	0,285	0,264	0,0157	0,38
Diversidad bacteriana					
Índice de Shannon	4,3	4,26	4,27	0,215	0,40
Número de picos	74,0	71,0	71,8	1,46	0,38

^{a,b} En cada fila, medias con un diferente superíndice difieren ($P < 0,05$).

¹ Gasa: filtrado a través de 4 capas de gasa; Nailon: Tratamiento Gasa y una filtración a través de un filtro de $100 \mu\text{m}$ de poro; STO: tratamiento con Stomacher[®] mediante 5 min a 230 rpm.

² ADN de los microorganismos medido de forma relativa al ADN bacteriano total. Valores expresados como $10^2 \times 2^{-\Delta\text{Ct}}$.

Tabla 14. Influencia del método de procesado de la digesta ruminal de ovejas sobre las concentraciones de AND bacteriano y protozoario total, la abundancia relativa de *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Fibrobacter succinogenes*, hongos y arqueas metanogénicas en el fluido, y los valores del índice de Shannon y del número de picos detectados en los electroferogramas del análisis automatizado del espacio intergénico ribosomal (ARISA)

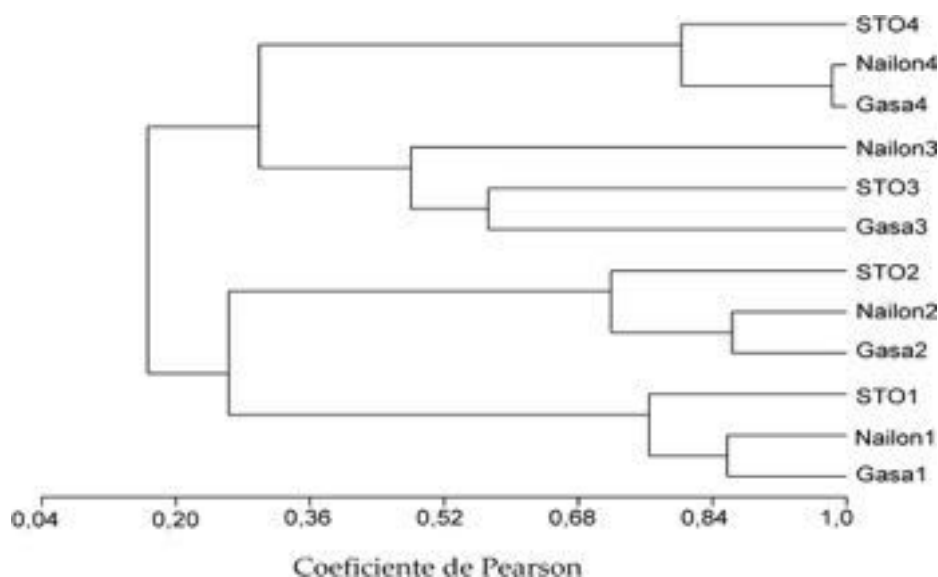


Figura 4. Dendrograma de los perfiles del análisis automatizado del espacio intergénico ribosomal (ARISA) de las comunidades bacterianas en el fluido ruminal de oveja obtenido mediante un filtrado del contenido ruminal a través de cuatro capas de gasa (Gasa).

Further filtration of squeezed fluid through a 100 μm nylon cloth (FL), and treatment with Stomacher[®] for 3 min at 230 rpm before squeezing through four layers of cheesecloth (STO). Numbers 1 to 4 correspond to individual sheep

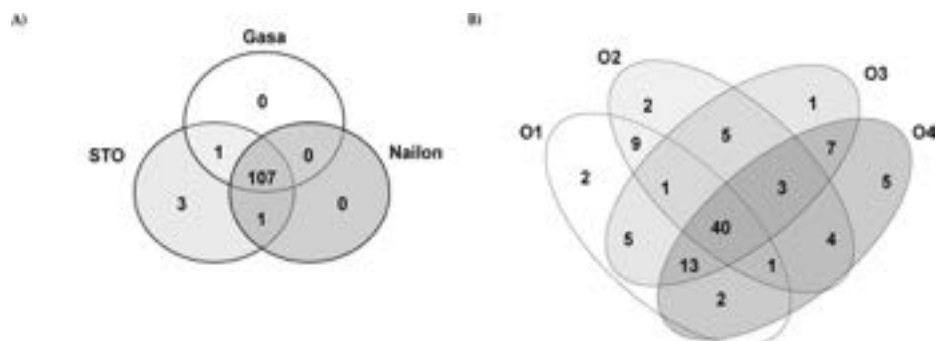


Figura 5. Los diagramas de Venn muestran los picos únicos y compartidos en los electroferogramas de ARISA de las muestras de fluido ruminal obtenidas por los tres tratamientos (Gasa, Nailon y STO; Figura 2A) y de las muestras de fluido ruminal de cada una de las 4 ovejas usadas como donadoras (O1 a O4; Figura 2B)

La Figura 4 muestra el dendrograma de los perfiles de ARISA de las comunidades bacterianas en los fluidos ruminales obtenidos. Las muestras se agrupan en cuatro grupos en función de la oveja donante, y para las ovejas 1, 2 y 4 las muestras gasa y nailon se agrupan con una

similitud mayor del 85%. Por el contrario, las muestras gasa y nailon de la oveja 3 tuvieron una similitud menor del 50%, y no siguieron el mismo patrón de agrupamiento. Como se muestra en los diagramas de Venn (Figura 5), de los 112 picos detectados en el ARISA, 107 estuvieron presentes en al menos una muestra de cada tratamiento, y solo 3 picos fueron identificados en las muestras stomacher. Cuarenta picos fueron compartidos por al menos una muestra de cada oveja, mientras que el resto estuvieron presentes en un solo animal o compartidas por dos o tres animales.

Efectos del método de procesado sobre los parámetros de fermentación

Los valores de pH en los CNRMR variaron de 6,90 a 7,56 y de 6,75 a 7,00 a 8 y 24 h de incubación, respectivamente, y no se vieron afectados por el método de procesado ($P = 0,41$ and $0,15$, respectively). Los efectos de los métodos de procesado del contenido ruminal sobre los parámetros de fermentación in vitro después de 8 y 24 h de incubación se muestran en las Tablas 4.3.3 y 4.3.4, respectivamente. Todos los parámetros ($P < 0.05$) fueron afectados por la oveja donante del inóculo. Ninguna interacción método de procesado x forraje, método de procesado x relación forraje:concentrado, o método de procesado x forraje x relación forraje:concentrate ($P = 0,24$ a $0,96$) fue detectada para ninguno de los parámetros medidos. La producción total de gas después de 8 h de incubación no se vió afectada por el método de procesado ($P = 0,53$), pero la producción de metano fue mayor ($P < 0,05$) para el tratamiento stomacher comparado con el tratamiento gasa. El método de procesado del contenido ruminal no influyó ($P = 0.28$ to 0.88) la producción de AGV total o individual con ningún sustrato tras 8 h de incubación (Tabla 15), con la excepción de la producción de isovalerato que fue más baja ($P < 0.05$) para el método STO que para SQ. Usar el inóculo STO resultó en una concentración más elevada de N amoniacal comparado con con los inóculos SQ y FL.

Parámetro	PM			FOR			FC			Valor de P ²			FOR x FC
	SQ	FL	STO	AL	GR	BS	FOR	FC	SEM	PM	FOR	FC	
Gas (μmol)	1354	1377	1348	1662 ^c	1352 ^b	1066 ^a	1211	1509	46,8	0,53	<0,001	<0,001	<0,001
Metano (μmol)	191 ^a	201 ^{ab}	212 ^b	243 ^c	202 ^b	160 ^a	168	234	13,6	0,04	<0,001	<0,001	0,005
AGV totales (μmol)	560	566	571	784 ^c	528 ^b	380 ^a	501	627	35,5	0,28	<0,001	<0,001	<0,001
AGV individuales (μmol)													
Acetato	370	369	375	522 ^c	347 ^b	248 ^a	341	402	23	0,88	<0,001	<0,001	<0,001
Propionato	124	130	132	185 ^c	118 ^b	78 ^a	110	144	9,5	0,12	<0,001	<0,001	<0,001
Butirato	49,8	51,1	47,6	55,3 ^b	49,3 ^{ab}	43,9 ^a	36,4	62,7	4,63	0,43	0,001	<0,001	0,04
Isobutirato	4,19	4	4,36	5,15 ^b	3,80 ^a	3,60 ^a	3,59	4,78	0,414	0,33	<0,001	<0,001	0,004
Isovalerato	4,08 ^b	3,55 ^{ab}	3,31 ^a	4,18 ^b	2,99 ^a	3,77 ^b	2,83	4,47	0,45	0,02	0,001	<0,001	0,002
Valerato	7,32	7,77	7,57	11,9 ^b	5,70 ^a	5,06 ^a	6,77	8,33	0,792	0,62	<0,001	0,001	<0,001
Caproato	0,4	0,83	0,62	0,63	0,61	0,62	0,65	0,59	0,48	0,32	0,99	0,79	0,45
Acetato/propionato (mol/mol)	2,99	2,85	2,85	2,83 ^a	3,00 ^{ab}	3,21 ^b	3,12	2,81	0,243	0,12	0,006	<0,001	0,25
NH ₃ -N (mg/L)	134 ^a	133 ^a	141 ^b	140 ^b	126 ^a	142 ^b	131	141	4,8	0,01	<0,001	<0,001	0,02

^{a, b, c} En cada PM, FOR o F:C las medias con diferente superíndice difieren (P<0.05)

¹ Fluido ruminal obtenido de ovejas mediante filtrado a través de cuatro capas de gasa (SQ), filtrado a través de tela de nylon de 100 μm de poro (FL) y tratamiento con Stomacher[®] durante 3 minutos a 230 rpm (STO). Los sustratos fueron heno de alfalfa (AL), heno de gramíneas (GR) o paja de cebada (BS) solos (FOR) o mezclados con concentrado 50:50 (FC)

² No se encontraron interacciones PM x FOR, PM x FC o PM x FOR x FC significativas (P=0.24 to 0.96)

Tabla 15. Influencia del método de procesado para obtener el fluido ruminal (PM) en los parámetros de fermentación de sustratos que diferían en el tipo de forraje (FOR) y la relación forraje:concentrado (F:C) incubados in vitro durante 8 h¹

Todos los parámetros de fermentación analizados tras 8 horas de incubación fueron afectados ($P < 0,001$ a $0,006$) por el tipo de forraje y por la relación forraje:concentrado, excepto la producción de caproato. Además, se detectaron interacciones forraje x forraje:concentrado ($P < 0,001$ a $0,04$) para todos los parámetros, con excepción de la producción de caproato y la relación acetato/propionato. Los sustratos que contenían heno de alfalfa produjeron la mayor cantidad de gas, metano y AGV totales ($P < 0,05$) y aquellos que contenían paja de cebada mostraron las más bajas ($P < 0,05$). La concentración de N amoniacal fue más baja ($P < 0,05$) para los sustratos que contenían heno de gramíneas que para los que contenían heno de alfalfa o paja de cebada. La proporción de forraje en el sustrato afectó a todos los parámetros de fermentación excepto la producción de caproato, con los sustratos que contenían concentrado presentando mayores ($P < 0,001$) producciones de gas, metano y AGV (totales e individuales), pero menores ($P = 0,02$) concentraciones de N amoniacal que los que contenían solo forraje.

Similar a lo observado para las 8 h de incubación, ninguna interacción método de procesado x forraje, método de procesado x relación forraje:concentrado, o método de procesado x forraje x relación forraje:concentrado ($P = 0,18$ a $0,98$) fue detectado para ninguno de los parámetros medidos tras 24 h de incubación (Tabla 16). El método de procesado del contenido ruminal no afectó la producción de gas y de AGV totales e individuales. El tratamiento con stomacher incrementó ($P < 0,05$) la producción de metano y la degradabilidad de la MS comparado con el inóculo gasa y nailon, pero no hubo efectos del procesado sobre la relación metano / MS degradada ($P = 0,49$) y la concentración de N-amoniacal ($P = 0,52$). El método stomacher provocó mayores ($P < 0,05$) valores de degradabilidad verdadera de la MS comparado con el método gasa.

Parámetros	PM			FOR			FC			Valor de P ²			
	Gasa	Nailon	STO	AL	GR	PC	FOR	FC	SEM	MP	FOR	FC	FOR x FC
Gas (µmol)	2254	2287	2285	2719 ^c	2249 ^b	1858 ^a	2024	2526	80,7	0,73	<0,001	<0,001	<0,001
Metano (µmol)	480 ^a	471 ^a	510 ^b	604 ^c	481 ^b	376 ^a	432	542	28,4	0,05	<0,001	<0,001	0,006
AGV totales (µmol)	956	989	988	1273 ^c	909 ^b	735 ^a	830	1115	60	0,27	<0,001	<0,001	<0,001
Acético	610	629	631	821 ^c	586 ^b	454 ^a	541	700	35,3	0,24	<0,001	<0,001	<0,001
Propiónico	205	210	213	280 ^c	186 ^b	155 ^a	175	240	11,2	0,16	<0,001	<0,001	<0,001
Butírico	92,9	101	95,7	111 ^b	94,1 ^a	84,7 ^a	72	121	8,99	0,31	<0,001	<0,001	0,15
Isobutírico	12	11,8	12,5	14,3 ^b	10,7 ^a	10,9 ^a	10,5	13,4	0,67	0,12	<0,001	<0,001	<0,001
Isovalérico	16,5	16,3	16,9	19,5 ^b	14,9 ^a	15,3 ^a	14,5	18,7	1,18	0,56	<0,001	<0,001	<0,001
Valérico	16,9	17,7	16,5	24,1 ^c	14,6 ^b	12,4 ^a	15	19,1	0,88	0,12	<0,001	<0,001	<0,001
Caproico	2,7	2,81	2,35	2,75	2,76	2,34	2,23	3,01	0,647	0,45	0,44	0,01	0,75
Acético/propiónico (mol/mol)	3	3,03	2,98	2,94 ^a	3,15 ^b	2,97 ^{ab}	3,1	2,94	0,182	0,6	0,03	0,04	0,82
NH ₃ -N (mg/L)	198	201	204	225 ^b	186 ^a	192 ^a	186	216	8,6	0,52	<0,001	<0,001	0,05
DMS (g/100 g)	35,1 ^a	35,4 ^a	38,7 ^b	45,9 ^b	36,9 ^b	27,6 ^a	29,7	43,3	2,23	0,01	<0,001	<0,001	<0,001

^{a, b, c} En MP, FOR o FC, medias con diferente superíndice difieren (P<0,05)

¹ Fluido ruminal de ovejas obtenido mediante filtrado del contenido ruminal a través de 4 capas de gasa (Gasa), filtrado del fluido anterior a través de un filtro de nailon de 100 µm de poro (Nailon), y tratamiento con Stomacher[®] durante 3 min a 230 rpm (STO). Los sustratos fueron heno de alfalfa (AL), heno de gramíneas (GR) y paja de cebada (PC) solo (FOR) o mezclado con concentrado 50:50 (FC)

² No se detectaron interacciones significativas MP x FOR, MP x FC y MP x FOR x FC (P=0,18 to 0,98)

Tabla 16. Influencia del método de procesado para obtener fluido ruminal (MP) sobre los parámetros de la fermentación de sustratos que difieren en el forraje (FOR) y en la relación forraje:concentrado (FC) incubado in vitro durante 24 h¹

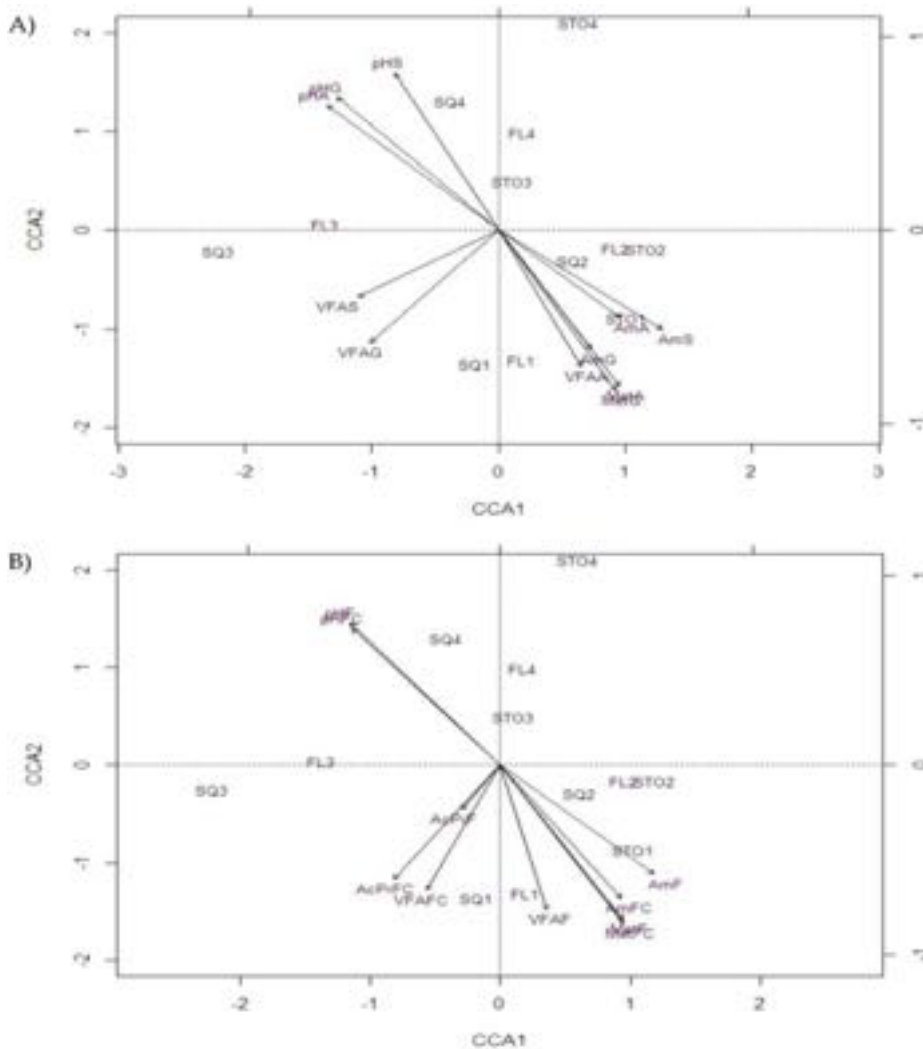


Figura 6. Gráfico del análisis canónico de correspondencias (CCA) de las poblaciones microbianas en el inóculo y los parámetros de fermentación tras 8 h de incubación de forrajes (A: heno de alfalfa; G: heno de gramíneas; S: paja de cebada; Figura 3A) o sustratos con diferente relación forraje:concentrado (F: 100% forraje; FC: 50:50 forraje:concentrado; Figura 3B), con las flechas indicando el incremento de los valores de los parámetros de fermentación. Cada etiqueta corresponde a un inóculo obtenido mediante filtrado del contenido ruminal a través de 4 capas de gasa (SQ), filtrado del tratamiento anterior a través de un filtro de nailon de 100 μm de poro (FL) o tratamiento con Stomacher (STO), y los números del 1 al 4 corresponden a cada una de las ovejas. AcPr: relación acético:propiónico; Am: N-amoniacal; Met: CH_4 ; VFA: AGV totales; Bac: bacterias totales; Prt: protozoos totales; Arq: arqueas metanogénicas; Fs: *Fibrobacter succinogenes*; Rf: *Ruminococcus flavefaciens*; Ra: *Ruminococcus albus*

El tipo de forraje afectó ($P < 0,001$ to $0,03$) a la concentración de N- amoniacal y a la producción de gas metano y AGV totales, y AGV individuales (excepto la producción de caproico), con valores para el heno de alfalfa siendo significativamente mayores ($P < 0,05$) que los obtenidos por el heno de gramíneas y la paja de cebada, pero no hubo diferencias entre forrajes en la relación metano / MS degradada ($P = 0,58$). Todos los parámetros analizados se vieron afectados por la relación forraje:concentrado, con los sustratos de forraje solo provocando una menor ($P < 0,001$) concentración N-amoniacal y menores producciones de gas, metano y AGV totales, y también menores ($P < 0,001$) valores de degradabilidad de la MS y degradabilidad verdadera de la MS que los sustratos que contenían concentrado. Por el contrario, los sustratos de forraje solo tuvieron mayores ($P = 0,03$) relaciones metano / MS degradada que los sustratos que contenían concentrado.

El análisis de correspondencias canónicas fue realizado para evaluar las asociaciones entre las abundancias de las poblaciones microbianas o los perfiles de ARISA en el inóculo y los parámetros de fermentación medidos tras 8 h de incubación. La oveja donante tuvo la mayor influencia en la composición microbiana (Figura 6) y el perfil de ARISA. Las muestras se dispersan en el gráfico sin aparente ordenación en función del método de procesado, pero para todas las ovejas, las muestras de los tratamientos gasa y nylon se sitúan más cerca entre ellas que de las del tratamiento stomacher, lo que concuerda con los resultados mostrados en la Tabla 14. El pH y la producción de metano fueron los parámetros con una mayor asociación al patrón de variación en la composición microbiana del inóculo. Los valores de P del test de permutación Monte Carlo ($P = 0,25$ y $0,33$ para los 3 forrajes y para la relación forraje:concentrado, respectivamente; coeficiente RV de $0,180$ y $0,137$, respectivamente) muestra que no hubo correlación entre las poblaciones microbianas determinadas en nuestro estudio y los parámetros de fermentación. Por el contrario, cuando se comparó los perfiles de ARISA y los parámetros de fermentación los valores de P del test fueron $0,003$ ($RV = 0,660$) y $0,001$ ($RV = 0,710$) para los tres forrajes y para la relación forraje:concentrado, respectivamente, indicando una relación entre la diversidad bacteriana y los parámetros de fermentación.

Prueba 4

La última prueba tuvo como objetivo evaluar la evolución de las poblaciones microbianas (bacterias, protozoos, hongos y arqueas metanogénicas) y las características de fermentación durante el periodo de incubación en fermentadores RUSITEC alimentados con dos dietas

diferentes (MC: 50:50 heno de alfalfa:concentrado; AC: 15:85 paja de cebada:concentrado). Un segundo objetivo fue comparar valores de crecimiento microbiano determinado utilizando ^{15}N como marcador externo con las concentraciones de ADN microbiano en los fermentadores para valorar si ambos procedimientos detectan diferencias similares entre dietas.

Resultados

Poblaciones microbianas y diversidad bacteriana

La mayoría de las poblaciones microbianas analizadas variaron con el tiempo de incubación ($P < 0,05$), pero fueron detectadas interacciones dieta x tiempo (estadísticamente significativas o tendencia) para todas las variables, con la excepción de la abundancia relativa de *R. flavefaciens* y hongos en la fase sólida y arqueas metanogénicas y hongos en la fase líquida (Tabla 17). Las concentraciones de ADN protozoario total y la abundancia relativa de hongos disminuyeron con el avance del tiempo en ambas fases de la digesta ($P = 0,024$ a $< 0,001$). Por el contrario, el ADN bacteriano total en la fase líquida y la abundancia relativa de arqueas metanogénicas en la fase sólida incrementaron con el tiempo de incubación ($P < 0,001$ y $0,021$, respectivamente). La concentración de ADN bacteriano total y la abundancia relativa de *R. flavefaciens* permanecieron sin cambios ($P = 0,224$ y $0,722$, respectivamente) durante el período de incubación en la fase sólida.

La dieta incubada afectó ($P < 0,05$) a todas las poblaciones microbianas estudiadas, con la excepción de las bacterias totales ($P = 0,998$) en la fase líquida y la abundancia relativa de hongos también en la fase líquida, aunque una tendencia ($P = 0,086$) a valores más bajos para la dieta MC que para la dieta AC fue observada para esta última población. Comparados con los fermentadores que recibieron la dieta AC, los fermentadores que recibieron la dieta MC tuvieron mayores ($P < 0,05$) concentraciones de ADN bacteriano y protozoario total y abundancias relativas de las 3 bacterias fibrolíticas y arqueas metanogénicas en la fase sólida, al igual que una mayor concentración de ADN protozoario total y abundancia relativa de arqueas metanogénicas en la fase líquida, pero menores ($P < 0,05$) abundancias relativas de hongos en ambas fases de la digesta.

Un total de 90 picos fueron detectados en los electroferogramas del ARISA en las 56 muestras, de los cuales 6 fueron identificados solamente en los fermentadores que recibieron la dieta MC y 4 solamente

in fermentadores alimentados con la dieta AC. Como se muestra en la Tabla 18, tanto el número de picos como el índice de Shannon en el sólido fueron mayores ($P < 0,001$) en los fermentadores que recibieron la dieta MC comparado con los que recibieron la dieta AC, lo cual pudo indicar un mayor diversidad bacteriana promovida por la dieta MC. Por el contrario, no se observaron diferencias ($P > 0,05$) entre dietas en la diversidad bacteriana de la fase líquida, aunque la interacción dieta x tiempo tendió a ser significativa para el índice de Shannon y el número de picos ($P = 0,069$ y $0,071$, respectivamente). Sin embargo el índice de Shannon y el número de picos en el sólido fueron mayores los días 8 y 14 de incubación que el día 3, la diversidad bacteriana en la fase líquida permaneció sin cambios en la fase líquida ($P > 0,05$) durante el periodo de incubación. Para ambas dietas, el índice de similitud entre las fases sólida y líquida de los fermentadores increment ($P < 0,05$) desde el día 3 al día 8, pero recuperó los valores iniciales al final del periodo de incubación.

El gráfico de análisis de coordenadas principals de las comunidades bacterianas (Figura 7) dividió las muestras según el componente 2 en dos grupos en función de la dieta sin tener en cuenta el tiempo de incubación. Veintidós de las 24 muestras de los fermentadores que recibieron la dieta MC se agruparon debajo del eje 2, mientras que 16 muestras de los fermentadores alimentados con la dieta AC se situaron encima del eje. En cada grupo, las muestras tendieron a agruparse según el día de muestreo, aunque este patrón fue evidente solamente en las muestras del inóculo y de los fermentadores recogidas el día 3 de incubación. Los porcentajes de varianza explicada por las coordenadas principales 1 y 2 fueron 28,53% y 12,42%, respectivamente. Basados en estos resultados, dendrogramas separados fueron construidos para las muestras de los fermentadores que recibieron la dieta MC y los que recibieron la dieta AC. Las muestras de los fermentadores que recibieron la dieta MC formaron 3 grupos en función del día de muestreo, y las muestras de día 3 se dividieron en función de la fase de la digesta (Figura 8A); sin embargo, no se observó un claro patrón de agrupamiento en función de la fase de la digesta o el fermentador para las muestras de los días 8 y 14. Como se muestra en la Figura 8B, las muestras de los fermentadores que recibieron la dieta AC se agruparon en función de la fecha de incubación, con todas las muestras de los fermentadores 3 y 4 (primera incubación) formando un grupo las de los fermentadores 1 y 2 (segunda incubación) agrupándose juntas. En cada grupo las muestras del día 3 se agrupan juntas y se dividen a su vez en función de la fase. Al igual que lo observado para los fermentadores

alimentados con la dieta MC, ningún patrón de agrupamiento claro puede establecerse para las muestras de los días 8 y 14. Para ambas dietas, las muestras del inóculo forman grupos separados y a su vez divididos en función de la fase de la digesta.

Parámetros de fermentación y las relaciones con las poblaciones microbianas

Como se muestra en la Tabla 19, los valores de pH, producción diaria de AGV y de CH₄ y las proporciones molares de isobutírico permanecieron estables durante el período de incubación ($P = 0,345$ a $0,985$), pero el resto de los parámetros de fermentación variaron con el tiempo. Las proporciones molares de acético y propiónico, las concentraciones de lactate y las actividades enzimáticas (amilasa y xilanas) disminuyeron ($P < 0,05$) desde el día 3 hasta el final de la incubación, mientras que un aumento ($P < 0,05$) a medida que pasa el tiempo de incubación fue observado para las proporciones molares de butírico, isovalérico, valérico y caproico y la relación acético:propiónico. Se detectaron Interacciones estadísticamente significativas dieta x tiempo ($P < 0,05$) para las proporciones molares de acético, propiónico, butírico y valérico y la actividad xilanas, y una tendencia ($P < 0,10$) fue observada para la relación acético:propiónico, las concentraciones de N-amoniacal y la actividad amilasa. Como era de esperar, la dieta incubada tuvo una marcada influencia sobre los parámetros de fermentación. Comparado con la dieta MC, la fermentación de la dieta AC prococó valores más bajos ($P < 0,001$) de pH, de las proporciones molares de los isoácidos y el valérico, de las relaciones acético:propiónico y de las concentraciones de N-amoniacal, pero mayores valores de las proporciones molares de propiónico y caproico ($P < 0,001$), y de las concentraciones de lactato ($P = 0,015$) y de la actividad amilasa ($P < 0,001$).

El análisis de componentes principales en la Figura 9 muestra como las muestras de los diferentes fermentadores se agrupan en función de la abundancia de las poblaciones microbianas y los parámetros de fermentación para cada fase de la digesta. La dirección de cada flecha indica un aumento del valor de esa variable y el ángulo entre flechas indica el grado de correlación entre los dos parámetros. La magnitud de las flechas determina la importancia de esa variable para clasificar las muestras. Las muestras del día 3 fueron claramente distintas a las de los días 8 y 14, las cuales se agrupan sus respectivos grupos en la fase sólida (Figura 9A), pero mostraron un cierto solapamiento en la fase líquida (Figura 9B). Las muestras de la fase sólida y líquida del día 3 de los

fermentadores que recibieron la dieta AC estuvieron relacionadas con una mayor proporción molar de propiónico, actividad amilasa y concentración de lactato, mientras que las muestras de los fermentadores alimentados con la dieta MC estuvieron relacionadas con una mayor abundancia de protozoos y proporción molar de butírico. Para ambas fases de la digesta, las muestras de los días 8 y 14 de los fermentadores AC se relacionaron con mayor proporción molar de caproico, y las muestras de los fermentadores MC se relacionaron con mayores proporciones molares de valérico e isovalérico. Las muestras de sólido de los fermentadores MC recogidas el día 3 se relacionaron con mayores concentraciones de ADN protozoario total y abundancias relativas de las tres bacterias celulolíticas.

Crecimiento microbiano diario

Los valores de crecimiento microbiano diario en cada fase del fermentador determinado por el ^{15}N como marcador microbiano o basado en la cuantificación de ADN ribisómico microbiano se muestran en la Tabla 20. No hubo interacciones dieta x fase de la digesta para ninguno de los métodos de estimación ($P = 0,146$ a $0,949$). Tanto con el ^{15}N y el ADN total, la dieta MC promovió un mayor ($P < 0,001$ y $0,013$, respectivamente) crecimiento microbiano que la dieta AC, pero no hubo diferencias ($P = 0,509$) entre dietas en el ADN bacteriano. Mientras que el uso del ^{15}N reveló un mayor ($P = 0,004$) crecimiento microbiano en la fase sólida comparado con la fase líquida, lo contrario fue observado para el ADN microbiano total y el ADN bacteriano ($P < 0,001$). No hubo relación entre los valores de crecimiento microbiano obtenido con el ^{15}N y la cantidad de ADN total (bacteriano más protozoario) en cada fermentador ($r = 0,521$; $P = 0,186$; $n = 8$), pero se observó una tendencia cuando solo los valores en la fase líquida fueron considerados ($r = 0,620$; $P = 0,100$; $n = 8$).

Muestra	Microorganismo	Dieta	Día de incubación				Valor de P		
			3	8	14	SEM	Dieta	Tiempo	Dieta x tiempo
Contenido sólido	Bacterias totales, µg ADN / g MS	MC	176	222	330	30,3	0,002	0,224	0,009
		AC	192	129	124				
	Protozoos totales, µg ADN / g MS	MC	348 ^b	47,5 ^a	35,0 ^a	26,701	<0,001	<0,001	<0,001
		AC	52,6	6,87	0,82				
	Abundancia relativa de ¹ :								
	<i>Fibrobacter succinogenes</i>	MC	33,4 ^c	13,3 ^b	4,56 ^a	2,437	0,021	<0,001	0,003
		AC	16,4 ^b	13,4 ^{ab}	6,06 ^a				
	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	MC	6,29	6,82	7,86	1,006	<0,001	0,722	0,175
		AC	2,38	0,2	0,05				
	<i>Ruminococcus albus</i>	MC	13,5	11,7	14,6	1,619	<0,001	0,012	0,007
		AC	13,1 ^b	5,51 ^{ab}	1,78 ^a				
	Arqueas metanogénicas	MC	0,204 ^a	0,403 ^a	0,674 ^b	0,0831	0,002	0,021	0,074
		AC	0,122	0,197	0,185				
	Hongos	MC	6,82	8,56	4,01	4,25	0,003	0,024	0,117
			27,2 ^b	23,2 ^b	5,78 ^a				
Contenido líquido	Bacterias totales, µg ADN / ml	MC	16,52 ^a	21,25 ^b	25,50 ^c	0,971	0,998	<0,001	0,073
		AC	15,60 ^a	19,39 ^b	28,27 ^c				
	Protozoos totales, µg ADN / ml	MC	82,9 ^b	27,4 ^a	14,6 ^a	5,943	<0,001	<0,001	<0,001
		AC	8,89	3,07	0,77				
	Abundancia relativa de ¹ :								
	Arqueas metanogénicas	MC	0,398	0,29	0,311	0,0393	<0,001	0,089	0,334
		AC	0,232	0,222	0,132				
	Hongos	MC	0,277	0,131	0,076	0,0836	0,086	0,002	0,142
		AC	0,583 ^b	0,254 ^a	0,275 ^a				

a, b, c En cada fila, medias sin el mismo superíndice difieren (P < 0,05). Superíndices se muestran solamente cuando un valor significativo de P (P < 0.05) para el efecto tiempo fue detectado.

¹ ADN de microorganismos medido relativo al total de ADN bacteriano, calculado como $2^{-(Ct\ patrón - Ct\ bacterias\ totales)} \times 10^2$.

Tabla 17. Evolución a través del período de incubación del ADN bacteriano total, ADN protozoario total, y la abundancia relative de Ruminococcus flavefaciens, Ruminococcus albus, Fibrobacter succinogenes, arqueas metanogénicas y hongos en el contenido sólido y líquido de los fermentadores RUSITEC alimentados con dietas con medio (MC) alto (AC) contenido en concentrado (n = 4)

Muestra	Parámetro	Dieta	Día de incubación			SEM	Dieta	Valor de P	
			3	8	14			Tiempo	Dieta x tiempo
Contenido sólido	Índice de Shannon	MC	3,30 ^a	3,56 ^b	3,59 ^b	0,076	<0,001	<0,001	0,233
		AC	2,88 ^a	3,42 ^b	3,27 ^b				
	Número de picos	MC	27,3 ^a	35,3 ^b	36,3 ^b	2,13	<0,001	<0,001	0,368
		AC	18,5 ^a	31,5 ^b	26,8 ^b				
Contenido líquido Índice de Shannon	Índice de Shannon	MC	3,4	3,69	3,57	0,063	0,764	0,118	0,069
		AC	3,56	3,54	3,51				
	Número de picos	MC	30	40,3	36	2,17	0,678	0,115	0,071
		AC	35,3	34,8	34				
Sólido-Líquido	Índice de similitud, %	MC	60,8 ^a	70,2 ^b	68,3 ^{ab}	2,61	0,952	0,009	0,490
		AC	62,5 ^a	71,9 ^b	64,5 ^{ab}				

^{a,b,c} En cada fila, medias sin el mismo superíndice difieren ($P < 0,05$). Superíndices se muestran solamente cuando un valor significativo de P ($P < 0,05$) para el efecto tiempo fue detectado.

Tabla 18. Evolución a través del periodo de incubación del índice de Shannon y el número de picos detectados en los electroferogramas del análisis automatizado del espacio intergénico ribosomal (ARISA) en el contenido sólido y líquido de fermentadores RUSI-TEC alimentados con dietas con medio (MC) y alto (AC) contenido en concentrado, y el índice de similitud de los perfiles de ARISA entre el contenido sólido y líquido

Parámetro	Dieta	Día de incubación			SEM	Dieta	Valor de P	
		3	8	14			Tiempo	Dieta x tiempo
pH	MC	6,48	6,41	6,43	0,064	<0,001	0,78	0,816
	AC	5,89	5,87	5,91				
AGV totales (mmol/d)	MC	112	118	115	2,84	<0,001	0,345	0,689
	AC	95,3	97,3	98,4				
Proporciones (mol/100 mol):								
Acético	MC	56,5 ^b	54,9 ^{ab}	54,0 ^a	0,60	0,1258	<0,001	<0,001
	AC	50,7 ^a	56,8 ^b	55,5 ^b				
Propiónico	MC	21,4 ^c	16,5 ^b	15,2 ^a	0,32	<0,001	<0,001	0,002
	AC	26,5 ^c	19,8 ^b	17,3 ^a				
Butírico	MC	15,6 ^a	16,3 ^{ab}	17,3 ^b	0,52	0,2058	0,003	0,003
	AC	17,2 ^b	13,5 ^a	16,8 ^b				
Isobutírico	MC	1,15	1,28	1,33	0,163	<0,001	0,469	0,98
	AC	0,32	0,43	0,55				
Isovalérico	MC	1,76 ^a	2,94 ^b	4,29 ^c	0,325	<0,001	<0,001	0,267
	AC	0,97 ^a	1,63 ^{ab}	2,39 ^b				
Valérico	MC	2,50 ^a	5,00 ^b	4,96 ^b	0,255	<0,001	<0,001	0,015
	AC	2,19 ^a	3,29 ^b	3,09 ^b				
Caproico	MC	1,10 ^a	3,06 ^b	2,95 ^b	0,198	<0,001	<0,001	0,37
	AC	2,07 ^a	4,58 ^b	4,31 ^b				
Acético:Propiónico (mol/mol)	MC	2,65 ^a	3,31 ^b	3,57 ^c	0,086	<0,001	<0,001	0,09
	AC	1,91 ^a	2,87 ^b	3,23 ^c				
CH ₄ (mmol/d)	MC	23,3	24,2	24,2	0,89	<0,001	0,985	0,623
	AC	16,3	15,6	15,8				
Lactato (g/l)	MC	10,6 ^b	4,6 ^a	4,7 ^a	0,96	0,015	<0,001	0,481
	AC	13,9 ^b	5,5 ^a	6,8 ^a				
NH ₃ (mg/l)	MC	346	339	348	8,7	<0,001	0,053	0,063
	AC	105	71,5	61,5				
Actividad enzimática ¹								
Amilasa	MC	314	282	265	67,5	<0,001	0,026	0,098

Parámetro	Dieta	Día de incubación			SEM	Dieta	Valor de P	
		3	8	14			Tiempo	Dieta x tiempo
Xilanasas	AC	856 ^b	603 ^a	501 ^a	26	0,77	<0,001	0,012
	MC	681 ^b	711 ^b	512 ^a				
	AC	778 ^c	660 ^b	444 ^a				

^{a, b, c} En cada fila, medias sin el mismo superíndice difieren ($P < 0,05$). Superíndices se muestran solamente cuando un valor significativo de P ($P < 0,05$) para el efecto tiempo fue detectado.

¹ Actividad amilasa expresada en nanomoles de glucosa liberados de almidón soluble por 1 ml del contenido líquido de los fermentadores en 1 min a 39°C y pH 6,5. Actividad xilanasas expresada como nanomoles de xilosa liberados de xilano de cebada por 1 ml de contenido líquido de los fermentadores en 1 min a 39°C y pH 6,5.

Tabla 19. Evolución a través del periodo de incubación de los parámetros de fermentación y de la actividad enzimática en fermentadores RUSITEC alimentados con dietas con medio (MC) y alto (AC) contenido en concentrado (n = 4)

Método	Fase de digesta	Dieta	Crecimiento microbiano	SEM	Dieta	Valor de P	
						Fase de digesta	Dieta x Fase de digesta
¹⁵ N (mg N microbiano /d)	Solid	MC	127,8	4,59	<0,001	0,004	0,949
	Liquid		109,5				
	Solid	AC	88,8				
	Liquid		69,8				
ADN Bacteriano más protozoario (mg ADN/d)	Solid	MC	4,44	1,230	0,013	<0,001	0,146
	Solid	AC	1,55				
	Liquid		12,9				
ADN bacteriano (mg ADN/d)	Solid	MC	4,01	1,071	0,509	<0,001	0,416
	Liquid		11,5				
	Solid	AC	1,54				
	Liquid		12,51				

Tabla 20. Crecimiento microbiano diario en las fases sólida y líquida de los fermentadores RUSITEC alimentados con medio (MC) y alto (AC) contenido en concentrado determinado usando el ¹⁵N como un marcador microbiano o las concentraciones de ADN bacteriano y protozoario

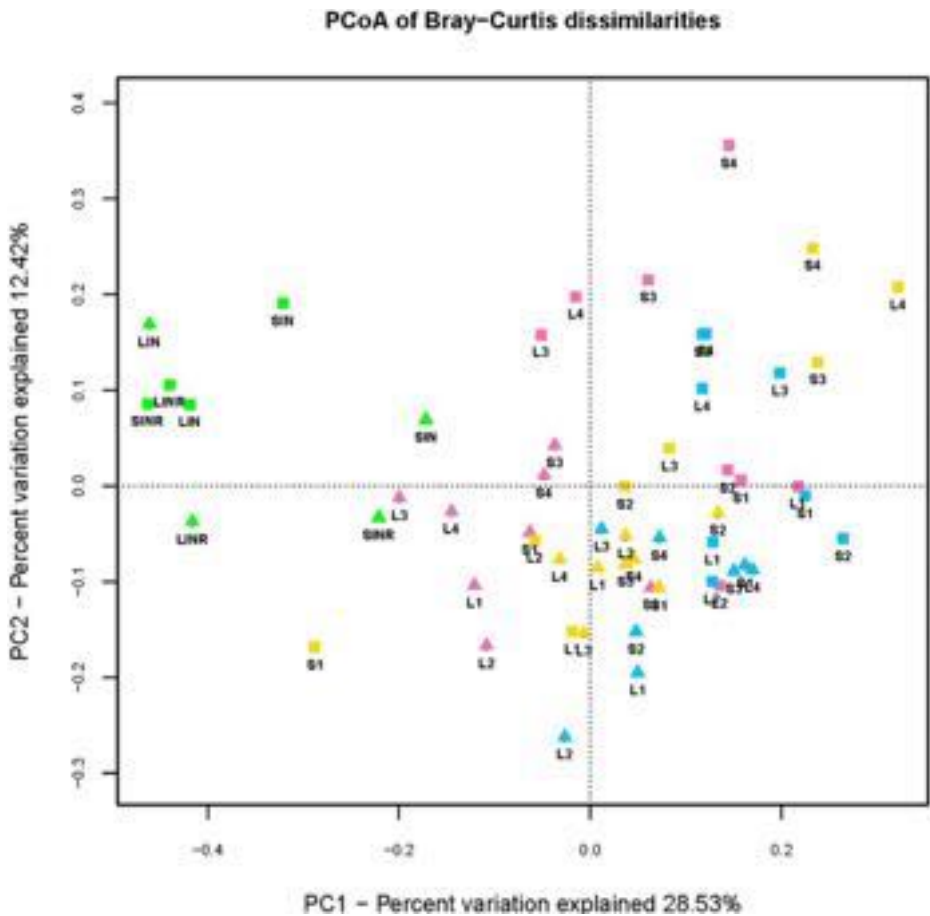


Figura 7. Gráfico del Análisis de coordenadas principales de dissimilitudes Bray-Curtis de los perfiles ARISA de las muestras de ADN de las fases líquida (L) y sólida (S) de los fermentadores RUSITEC alimentados con dietas medio- concentrado (triángulos) o alto-concentrado (cuadrados). Los puntos están coloreados en función del día de muestreo: 0 (inoculos, verde), 3 (rosa), 8 (amarillo) y 14 (azul) tras inoculación. Números del 1 al 4 corresponden a cada uno de los fermentadores. Las muestras IN e INR son los inóculos ruminales en cada período de incubación 1 y 2, respectivamente

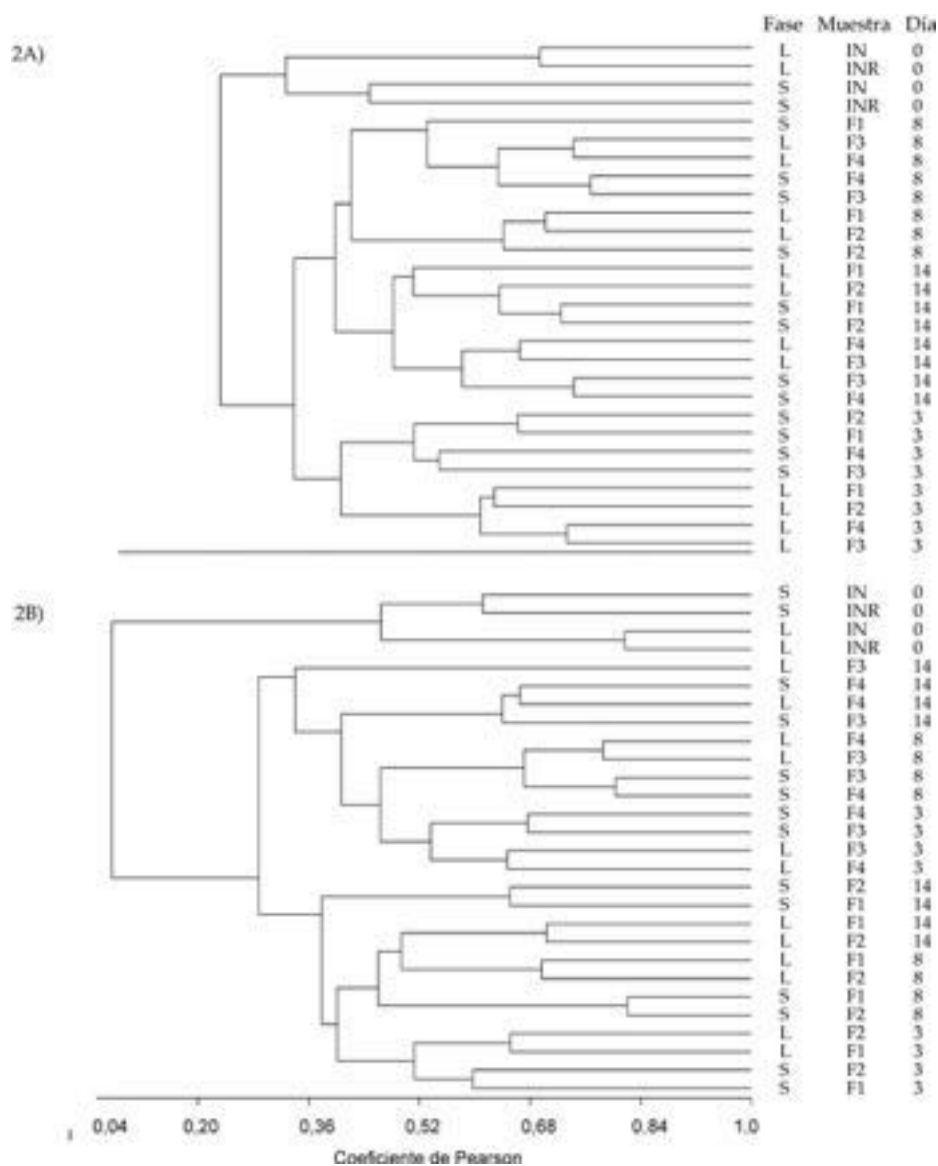


Figura 8. Dendrogramas de los perfiles de ARISA de las comunidades bacterianas en el contenido ruminal sólido (S) y líquido (L) de ovejas usado como inóculo (IN y INR) y en fermentadores RUSITEC (F) para dietas medio- (2A) y alto contenido en concentrado (2B). Números del 1 al 4 corresponden a cada uno de los fermentadores. En cada caso, la oveja donante fue alimentada con la misma dieta incubada en los fermentadores

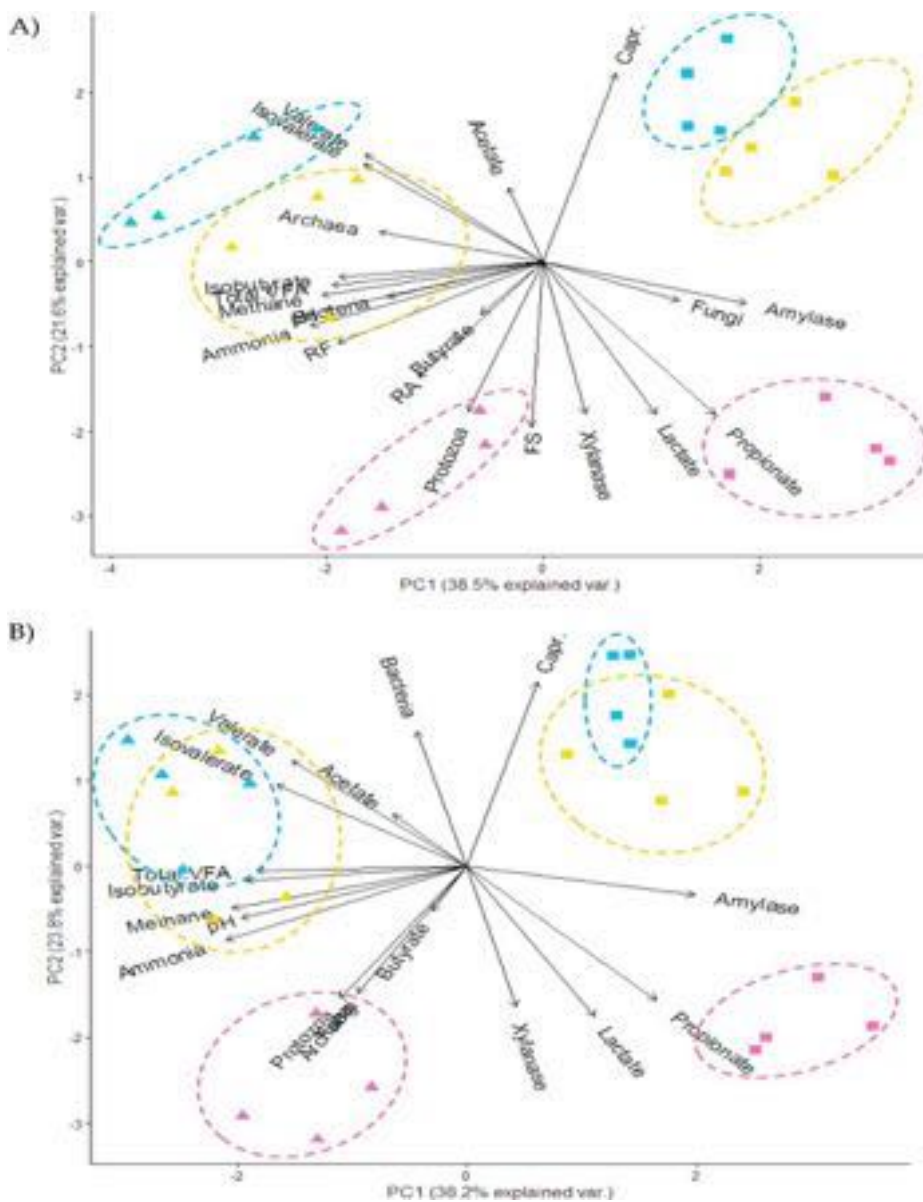


Figura 9. Gráficas del análisis de componentes principales de las poblaciones microbianas y los parámetros de fermentación, con las flechas indicando un incremento de los valores. Las muestras de las fases sólida (Figura A) y líquida (Figura B) de los fermentadores RUSITEC alimentados con dietas con medio (triángulos) o alto contenido en concentrado (cuadrados). Los puntos están coloreados en función del día de muestreo: día 3 (rosa), 8 (amarillo) y 14 (azul) tras la inoculación. Cada símbolo corresponde a una muestra de fermentador. Capr.: caproico; FS: *Fibrobacter succinogenes*; RF: *Ruminococcus flavefaciens*; RA: *Ruminococcus albus*

DISCUSIÓN

El interés por la fermentación ruminal y la creciente preocupación por el uso de animales de experimentación en investigación han llevado al desarrollo de diversas técnicas *in vitro* que tratan de emular la fermentación ruminal. Además, la complejidad de la fermentación ha conducido a un constante estudio y perfeccionamiento de estas técnicas para poder replicar de manera precisa los procesos que acontecen en el rumen del animal. Estas técnicas cuentan con una variada posibilidad de usos: permiten estimar el valor nutritivo de los alimentos utilizados para animales rumiantes, analizar el efecto de diferentes aditivos sobre la fermentación ruminal o estimar el potencial metanogénico del contenido ruminal (Yáñez-Ruiz *et al.*, 2016). Existen gran cantidad de estudios en los que se utilizan cultivos no renovados de microorganismos ruminales (CNRMR) para simular la fermentación ruminal *in vitro*, además de los que utilizan sistemas de fermentación continua que permiten mantener la fermentación durante varios días o semanas. Por ello se han realizado tres pruebas con CNRMR y una con fermentadores RUSITEC. En el primero de los trabajos se evaluó la influencia de la dieta de los animales donantes y de la dieta incubada en los efectos detectados de diferentes dosis de dos extractos naturales de plantas (aceite de ajo y cinamaldehído) sobre la fermentación ruminal. En el segundo, se determinaron las características de la fermentación ruminal de diferentes dietas administradas a ovejas y utilizadas como sustratos en CNRMR, para investigar si las diferencias encontradas entre dietas *in vivo* se corresponden con lo observado *in vitro*. En el tercer trabajo se analizó la posible influencia del tipo de procesado del contenido ruminal utilizado como inóculo para los CNRMR sobre los microorganismos presentes en el inóculo, ya que la actividad de dicho inóculo es un factor importante que influye en la fermentación del sustrato, y su posterior efecto en los parámetros de la fermentación ruminal. Finalmente, en el experimento con fermentadores RUSITEC se ha estudiado la evolución de las poblaciones microbianas a lo largo del periodo de incubación, puesto que es un tema del que existe muy poca información en la bibliografía hasta la fecha.

El primer estudio fue diseñado específicamente para evaluar la influencia del tipo de dieta administrada a los animales donantes de líquido ruminal, e incubada en CNRMR, sobre los efectos de dosis crecientes de aceite de ajo (AA) y cinamaldehído (CIN) en la fermentación ruminal *in vitro*. Este trabajo fue realizado incubando dos dietas diferentes, representativas de la alimentación de ovinos, una compuesta por

50% de heno de alfalfa y 50% de concentrado (MC; utilizada para ganado ovino lechero) y la otra compuesta por 15% de paja de cebada y 85% de concentrado (AC; utilizada en corderos de cebo). En la mayoría de los estudios *in vitro* se evalúa el efecto de diferentes aditivos incubando un solo sustrato, pero algunos estudios demuestran una interacción del aditivo con el sustrato (Yáñez-Ruiz *et al.*, 2016).

La adición de AA no disminuyó la producción total de AGV con ninguna dieta, sugiriendo que la fermentación ruminal no se inhibió ni siquiera a la dosis más alta (540 mg/L). De forma similar a nuestros resultados, Busquet *et al.* (2006) observaron que el AA a 300 mg/L no afectó la producción total de AGV en CNRMR con una dieta 50:50 forraje:concentrado como sustrato, aunque diez veces más altas disminuyeron ($P < 0,05$) la producción de AGV al 86% de la observada en el control. Los AGV representan la principal fuente de energía metabolizable para los rumiantes, y por lo tanto una reducción en su producción sería nutricionalmente desfavorable para el animal (Busquet *et al.*, 2006) y debe evitarse. Las interacciones AA \times tipo de dieta observadas en algunos de los parámetros determinados podrían ser debido a las diferentes comunidades microbianas presentes en los dos inóculos. En general, los efectos del AA fueron más pronunciados para la dieta MC en comparación con la dieta AC, lo que indicaría que los efectos del AA varían con la dieta.

De acuerdo con nuestros resultados, otros estudios *in vitro* utilizando CNRMR y una dieta 50:50 forraje:concentrado (Busquet *et al.*, 2005a., 2006) o fermentadores de flujo continuo alimentados con una dieta 30:70 forraje:concentrado (Busquet *et al.*, 2005b) demostraron que la adición de AA a 300 mg/L aumentó la proporción de propionato y butirato y disminuyó la proporción de acetato. Por el contrario, Klevenhusen *et al.* (2011b) no observaron ningún efecto del AA sobre el perfil de AGV en el líquido ruminal de ovejas alimentadas con una dieta 50:50 forraje:concentrado y con una adición diaria de 5 g de AA durante 19 días. Las concentraciones de AA en el estudio de Klevenhusen *et al.* (2011b), estimadas suponiendo un volumen ruminal promedio de 7 L para una oveja (Ranilla *et al.*, 1998), eran aproximadamente 736 mg/L, e incluso a esta concentración el AA no afectó la concentración de AGV totales en el rumen o a la digestibilidad de la dieta. Debe tenerse en cuenta que en ovejas la salida de la digesta desde el rumen contribuiría a disminuir la concentración ruminal del AA con el tiempo, mientras que esta salida de digesta no ocurre en los CNRMR. En nuestro estudio, la cantidad de materia orgánica aparentemente fermentable

(MOAF) no se vió afectada por ninguna de las dosis de AA en las dietas incubadas. La falta de efectos del AA en la producción total de AGV y en MOAF indicaría que el AA no modificó la fermentabilidad de las dietas, lo cual coincide con los resultados citados anteriormente.

Estudios previos han obtenido efectos significativos sobre la producción de metano del AA o de sus compuestos (disulfuro de dialilo y alicina) suministrados a niveles de 300 mg/L en CNRMR (Busquet *et al.*, 2005b) y en fermentadores RUSITEC (Soliva *et al.*, 2011) o a 76 mg/L en CNRMR (Macheboeuf *et al.*, 2006). Extractos de bulbos de ajo o incluso bulbos de ajo mezclados con la dieta han demostrado reducir la producción de metano en CNRMR (Patra *et al.*, 2010 y Staerfl *et al.*, 2010, respectivamente). En cambio, Kamel *et al.* (2008) con dosis bajas de alicina y dialil disulfuro (hasta 10 mg/L) o Kongmun *et al.* (2010) con polvo de ajo 320 mg/L no observaron efectos sobre la producción de metano. Sólo unos pocos ensayos *in vivo* han investigado los efectos del AA o sus compuestos en la producción de metano, pero sus resultados son contradictorios. Klevenhusen *et al.* (2011a) observaron una disminución en la producción de metano en ovejas a las que se suministraba disulfuro de dialilo, pero en otro trabajo no detectaron efectos del disulfuro de dialilo o del AA (Klevenhusen *et al.*, 2011b). En otros estudios, no se encontró ningún efecto sobre la producción de metano al administrar disulfuro de dialilo a vacas lactantes (van Zijderveld *et al.*, 2011) o bulbos de ajo a ovejas (Patra *et al.*, 2011) y novillos en cebo (Staerfl *et al.*, 2012). Kongmun *et al.* (2011) observaron que añadir a la dieta de búfalos aceite de coco y polvo de ajo redujo la producción de metano, pero observaron una reducción similar sólo con aceite de coco. Cabe mencionar de nuevo que en nuestro estudio ninguna dosis de AA afectó negativamente a la producción de AGV y por lo tanto la proporción de metano:AGV disminuyó con las dosis de AA de 60, 180 y 540 mg/L, lo que indicaría un mayor suministro de energía para el animal.

En lo que se refiere al CIN, las dosis de 20, 60 y 180 mg/L de CIN solo provocaron sutiles efectos sobre la fermentación ruminal *in vitro*. En comparación con el control, CIN180 aumentó significativamente la proporción de acetato para las dietas MC y AC, respectivamente, sin afectar las proporciones o la producción total de AGV. Esto se reflejó en un aumento significativo en la relación acetato:propionato en las botellas que recibieron la dosis CIN180 para la dieta MC, pero no se detectaron cambios para la dieta AC. Los cambios menores en las proporciones de AGV producidos por la adición del CIN hasta 180

mg/L no produjeron diferencias en la cantidad de MOAF para ningún tipo de dieta, indicando que no hubo un claro efecto sobre la fermentabilidad de la dieta. Del mismo modo, Macheboeuf *et al.* (2008) observaron que la adición de CIN a dosis de 132 o 264 mg/L en CNRMR con una dieta AC no alteraba la producción total de AGV.

La administración de CIN a 540 mg/L (CIN540) redujo significativamente la producción total de AGV a un 90 y 58% respecto al control para las dietas MC y AC, respectivamente. Además, CIN540 redujo la proporción de acetato para la dieta MC, pero aumentó la proporción de acetato y redujo la de propionato para la dieta AC, indicando un efecto diferente del CIN en el perfil de AGV de las dos dietas. Este efecto fue confirmado por la diferente respuesta observada a CIN540 en la relación acetato:propionato, que disminuyó significativamente para la dieta MC, pero aumentó para la dieta AC. Estos resultados indicarían una inhibición de la actividad fermentativa cuando el CIN fue adicionado a 540 mg/L, siendo este efecto más pronunciado para la dieta AC que para la dieta MC. Esta hipótesis es apoyada además por la menor cantidad de gas producida (97 y 88% de los valores control para las dietas MC y AC, respectivamente) y menor producción de metano (69 y 24% de los valores control para las dietas MC y AC, respectivamente). Por otra parte, las concentraciones de lactato en las botellas con CIN540 fueron 23 y 10 veces más altas comparadas con el control para las dietas MC y AC, respectivamente, lo que pudo ser debido a una inhibición de los microorganismos utilizadores de lactato. De acuerdo con nuestros resultados, Macheboeuf *et al.* (2008) observaron que el CIN suministrado en dosis de 396 mg/L en CNRMR con una dieta 75:25 forraje:concentrado redujo la producción de metano en un 19% y la producción de AGV en un 13%. En el estudio de Macheboeuf *et al.* (2008), el CIN en dosis de 661 mg/L inhibió casi totalmente la producción de metano (aproximadamente un 94%) y redujo drásticamente la producción de AGV totales (aproximadamente un 60%). Estos cambios indican que, en dosis altas, la actividad antimicrobiana de CIN es suficiente para inhibir casi totalmente la fermentación microbiana ruminal.

En nuestro estudio, el CIN60 y el CIN180 disminuyeron significativamente las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ en comparación con el control con la dieta MC, pero con la dieta AC se observó sólo una tendencia de CIN180 en este sentido. Los efectos del CIN sobre las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ ruminal encontrados en la literatura son contradictorios y parecen ser dependientes de la dosis y la dieta. Busquet *et al.* observaron que la adición de CIN reducía las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$

N en fermentadores de doble flujo (Busquet *et al.*, 2005a) y en CNRMR (Busquet *et al.*, 2006), al igual que Cardozo *et al.* (2005) en trabajos realizados con CNRMR. Por el contrario, Benchaar *et al.* (2007) no observaron efectos en las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ al añadir CIN a CNRMR. En nuestro estudio, CIN60 y CIN180 redujeron las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ tanto para la dieta MC como para la dieta AC, lo que concuerda bien con los resultados de Busquet *et al.* (2005a, 2006). Por el contrario, Chaves *et al.* (2008) no encontraron efectos del CIN en las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ ruminal en corderos a los que se les administraba diariamente CIN. Yang *et al.* (2010) tampoco encontraron ningún efecto sobre las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ ruminal en bueyes a los cuales se les administraba diariamente diferentes concentraciones de CIN. Ambos estudios (Chaves *et al.* (2008) y Yang *et al.* (2010)) se llevaron a cabo en rumiantes alimentados con una dieta baja en forraje, y la ausencia de efectos del CIN coincide con nuestros resultados para el CIN20 y el CIN60 con la dieta AC, sugiriendo que se necesitan dosis mayores de CIN para modificar la fermentación ruminal *in vivo*. Sin embargo, en el estudio de Yang *et al.* (2010) la dosis más alta disminuyó la ingesta de nutrientes, la digestibilidad ruminal, especialmente de la FND, y la digestibilidad del N ingerido, lo que pone de relieve la importancia de investigar los posibles efectos secundarios antinutricionales de los aditivos en la alimentación animal.

Las diferencias entre los dos tipos de dieta en los principales parámetros de fermentación siguieron el patrón observado en el líquido ruminal de ovejas alimentadas con las mismas dietas. Nuestros resultados coinciden con estudios previos (Gomez *et al.*, 2005; Martínez *et al.*, 2010b) mostrando que la producción de metano *in vitro* se ve afectada por la relación forraje:concentrado en la dieta de las ovejas donantes y en el sustrato incubado. La producción de metano fue aproximadamente 1,2 veces mayor con la dieta MC en comparación con la dieta AC (valor promedio de los tratamientos experimentales). Aunque los estudios *in vitro* tienen algunas limitaciones, constituyen una herramienta útil para evaluar un gran número de tratamientos experimentales antes de realizar ensayos *in vivo*.

En resumen, los efectos del AA y del CIN sobre la fermentación *in vitro* de dos tipos de dieta (leche *versus* cebo) fueron dependientes de la dosis y la dieta. Por tanto, la efectividad de ambos para manipular la fermentación ruminal dependerá de las características de la dieta suministrada a los animales, lo que pone de relieve la importancia de probar los aditivos con diferentes tipos de dieta. Estos resultados tendrían im-

portantes consecuencias prácticas si se confirman *in vivo*, aunque debe tenerse en cuenta que algunas dosis altas utilizadas en el presente estudio serían imposibles de suministrar en la alimentación práctica de rumiantes debido a la gran cantidad de aditivo que se necesitaría y a sus posibles efectos negativos en la ingestión o en las características de los productos animales.

Puesto que la dieta incubada tiene una importante relevancia sobre la fermentación ruminal y por tanto sobre el efecto de los aditivos utilizados para su modificación (Yáñez-Ruiz *et al.*, 2016), en el segundo experimento se propuso evaluar la capacidad de CNRMR para reproducir la fermentación ruminal *in vivo* de dietas de composición variable y analizar los cambios producidos en las comunidades bacterianas durante el período de incubación determinados. Para ello, se utilizaron cuatro ovejas canuladas en el rumen que se alimentaron con 4 dietas diferentes, resultado de la combinación dos proporciones de forraje y concentrado (70:30 y 30:70) y dos forrajes diferentes (heno de alfalfa y heno de gramíneas). El fluido ruminal de estas ovejas fue utilizado para la incubación en CNRMR de las mismas 4 dietas y los principales parámetros de fermentación fueron determinados a las 24 h de incubación.

La falta de marcadas diferencias en el pH entre dietas de alto contenido en forraje (AF) y dietas de alto contenido en concentrado (AC) observadas en los CNRMR fue en parte debida a la alta capacidad amortiguadora de la solución tampón que impidió una bajada del pH en las botellas con las dietas AC. Por lo tanto, la disminución del pH observada en las ovejas alimentadas AC no pudo reproducirse en los CNRMR, y esto se reflejó también en los mayores valores de pH *in vitro* en comparación con los observados en las ovejas para todas las dietas. Las concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ en los CNRMR fueron más altas que las observadas *in vivo* y mayores que los valores observados generalmente en el rumen de animales alimentados con dietas similares (Mackie *et al.*, 1978; Carro *et al.*, 2000). Esto fue debido, posiblemente, a la utilización en el sistema *in vitro* de una solución buffer y minerales enriquecida con N y a la falta de absorción en los CNRMR. En este sentido, la solución tampón-mineral de Goering y Van Soest (1970) modificada utilizada en este estudio suministró 84,11 mg de N por L en forma NH_4HCO_3 , que pudo ser degradado rápidamente a NH_3 por los microorganismos ruminales. Estos resultados indicarían que, reduciendo la cantidad de N en la solución tampón y minerales (por ejemplo, NH_4HCO_3 sustituido por NaHCO_3) se ayudaría a lograr concentraciones de $\text{NH}_3\text{-N}$ más fisiológicas en los CNRMR cuando se incuban die-

tas similares a las utilizadas en la práctica en la alimentación de los rumiantes. Por el contrario, las concentraciones de lactato fueron menores en los CNRMR que *in vivo*, lo cual confirma estudios anteriores (Tejido *et al.*, 2005; Mateos *et al.*, 2013). Estos resultados pueden sugerir una menor producción de lactato o una mayor utilización de lactato en los CNRMR en el rumen de las ovejas, pero probablemente la alta capacidad amortiguadora de la solución tampón evitó valores de pH bajos que pudieran haber estimulado el crecimiento de los microorganismos productores de lactato.

La cantidad de alimento y el flujo de digesta ruminal son diferentes en los sistemas *in vitro* e *in vivo*, y esto puede explicar algunas de las diferencias observadas en la magnitud de los parámetros medidos. Las menores concentraciones de AGV totales en los CNRMR comparadas con el rumen de las ovejas coinciden con observaciones previas (Brown *et al.*, 2002; Rymer y Givens, 2002) y pueden atribuirse a la menor proporción alimento/fluido ruminal en CNRMR (0,01; 0,4 g MS en 40 mL) que *in vivo* (0,17; 1,184 g MS en un volumen de rumen estimado de 7000 mL; Ranilla *et al.*, 1998). Sin embargo, debe considerarse también que los AGV son extraídos del rumen por absorción y por el flujo hacia las siguientes secciones del aparato digestivo, mientras que en los CNRMR no existe ningún flujo de digesta o absorción. A pesar de las diferencias de magnitud en la concentración total de AGV, se observaron correlaciones significativas entre ambas mediciones para las principales proporciones de AGV. Estos resultados concuerdan con los de Rymer y Givens (2002), quienes también encontraron correlaciones significativas entre el perfil de AGV en CNRMR y en el rumen de ovejas alimentadas con 3 dietas mixtas. Por el contrario, Brown *et al.* (2002) no observaron ninguna correlación entre los AGV medidos en CNRMR y en el rumen de novillos alimentados con 8 forrajes diferentes. Estos autores atribuyeron la falta de relación a la utilización de una especie animal diferente (ovejas) como fuente de líquido ruminal para el experimento con CNRMR. Además, el experimento *in vivo* se realizó con novillos alimentados únicamente con forraje, mientras que las ovejas donantes de líquido ruminal para el experimento *in vitro* fueron alimentadas con una dieta mixta (600 g forraje/kg y 400 g concentrado/kg).

La correlación observada en nuestro estudio entre el perfil de AGV *in vivo* e *in vitro* indicaría un patrón similar de fermentación en ambos sistemas, aunque las proporciones de acetato fueron menores y mayores las de propionato en los CNRMR que en las ovejas. Como

señalaron Rymer y Givens (2002), algunas diferencias entre las fermentaciones *in vitro* e *in vivo* pueden explicarse en parte por las bacterias fibrolíticas, que pueden ser más activas *in vivo* que *in vitro*. La inevitable manipulación del contenido del rumen para su uso como inóculo implica una cierta exposición al oxígeno que reduce la viabilidad de estas bacterias (Russell y Wilson, 1996). Esto ayudaría a explicar las menores proporciones de acetato en los CNRMR, lo cual coincide con una digestibilidad de la FND más baja *in vitro*, debido a que el acetato se produce principalmente en la fermentación de carbohidratos estructurales. Las concentraciones más altas de isovalerato y valerato en los CNRMR que en las ovejas también pueden indicar una menor captura de estos AGV de cadena ramificada por las bacterias fibrolíticas, ya que utilizan estos AGV para la síntesis de aminoácidos esenciales, ácidos grasos de cadena larga y aldehídos (Bryant, 1973).

Los cambios en las comunidades bacterianas se estudiaron mediante el análisis automático del espacio intergénico ribosomal (ARISA). El índice de similitud entre las comunidades bacterianas del inóculo y de los CNRMR correspondientes osciló entre el 67,2 y 74,7% para las diferentes dietas. Estos valores son similares al 70,2% de similitud encontrado por Prates *et al.* (2010) al comparar la estructura de las comunidades bacterianas en cultivos de flujo semicontinuo con heno de alfalfa como sustrato después de 24 h de incubación con la del líquido ruminal utilizado como inóculo. Estos resultados indican que se produjeron algunos cambios en las comunidades bacterianas durante el período de incubación. Las diferentes condiciones en los CNRMR, como la elevada capacidad tampón del medio de incubación, la concentración de sustrato en las botellas (sustrato/medio de cultivo), el tiempo de retención de digesta, la falta de contracciones, etc., en comparación con el rumen de ovejas podrían haber influido en la selección de algunas cepas bacterianas en el sistema *in vitro*. Dada la amplia gama de bacterias que habitan en el rumen, cabe esperar que algunas poblaciones se adapten bien a las condiciones ambientales en CNRMR, mientras que otras no puedan crecer en las mismas condiciones. De acuerdo con esta hipótesis, los valores del número de picos y del índice de Shannon fueron menores en los CNRMR que en el inóculo para las dos dietas; además, las muestras de los inóculos poseían 14 picos que no fueron detectados en ninguna muestra de CNRMR. Cuando se compararon las muestras por pares (inóculo para cada dieta y oveja y su correspondiente CNRMR) el número de picos que aparecieron en el inóculo y no en los CNRMR osciló entre 21 y 34, y este número no se vio afectado por la

relación forraje:concentrado, tipo de forraje u oveja individual. Estos resultados parecen indicar que las condiciones ambientales en los CNRMR fueron los principales factores que influyeron en la transición de las comunidades bacterianas, y que ni las características de la dieta ni los animales donantes tuvieron gran influencia sobre el número de picos de los inóculos que no aparecieron posteriormente en los CNRMR.

El patrón de agrupamiento observado en los dendrogramas indicaría que el animal (las ovejas) tuvo un mayor efecto sobre las comunidades bacterianas que la dieta o el sistema de fermentación. En todos los casos, cada muestra de CNRMR mostró el mayor índice de similitud con su inóculo correspondiente, a excepción de muestras de la oveja 2 cuando recibió las dietas con el heno de gramíneas. Estos resultados destacan la importancia de la utilización de un inóculo de animales donantes alimentados con una dieta similar a la que se incubaba en los CNRMR cuando se llevan a cabo experimentos *in vitro*.

En resumen, aunque hubo diferencias entre las ovejas y los CNRMR en la magnitud de la mayoría de los parámetros, las diferencias entre las dietas atribuidas al tipo de forraje en los CNRMR fueron similares a las de ovejas para la mayoría de los parámetros medidos. La similitud entre las comunidades bacterianas entre el inóculo y los CNRMR fue mayor del 67% para todas las dietas, pero la menor diversidad bacteriana en los CNRMR en comparación con el líquido ruminal de las ovejas utilizado como inóculo podría indicar una selección de algunas cepas bacterianas durante el período de incubación. Por ello, la realización de análisis de los cambios en poblaciones microbianas específicas durante el período de incubación en los CNRMR sería muy útil para entender las diferencias observadas en los parámetros fermentativos entre los sistemas *in vivo* e *in vitro* y contribuiría a la posible mejora de los sistemas de fermentación *in vitro*.

En el tercer trabajo, el último realizado con CNRMR, se valoró el efecto de tres métodos distintos de procesado (MP) del contenido ruminal sobre las poblaciones microbianas presentes en el fluido ruminal, puesto que la manipulación del inóculo influye en su actividad (Yáñez-Ruiz *et al.*, 2016). El primer tratamiento consistió en un filtrado por 4 capas de gasa (Gasa), que fue utilizado como control, puesto que es el tratamiento que se realiza de manera habitual en estudios con CNRMR. El segundo fue el filtrado por gasa más un filtrado posterior por una tela de nylon de 100 micras de poro (Nylon), para eliminar las

posibles partículas de alimento que pueden quedar el líquido ruminal utilizado como inóculo y que pueden influir en el patrón de fermentación. El último tratamiento consistió en el desligamiento de microorganismos asociados a la fase sólida utilizando un Stomacher® y filtrado posterior a través de cuatro capas de gasa (Sto), puesto que gran parte de microorganismos están ligados a las partículas de alimento, especialmente en animales alimentados con dietas con alto contenido en forraje (Cheng *et al.*, 1995), y es previsible que este tratamiento suponga una mejora de la simulación de la fermentación con la inclusión de los mismos. Los inóculos obtenidos después de haber realizado los diferentes tratamientos fueron utilizados para la incubación en CNRMR de 6 sustratos que diferían en el tipo de forraje (heno de alfalfa, heno de gramíneas o paja de cebada) y en la cantidad de forraje y concentrado (solo forraje (FOR) o 50:50 forraje:concentrado (FC)), para evaluar las posibles interacciones entre el MP y las características del sustrato.

Algunos estudios han investigado los efectos del MP del contenido ruminal sobre los perfiles de producción de gas (Pell y Schofield, 1993; Cone *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 2004) y los parámetros de fermentación (Senshu *et al.*, 1980; Rymer *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2004), pero muy pocos han analizado los efectos del MP sobre la composición microbiana del rumen (Mackie *et al.*, 1983; Martínez *et al.*, 2009; Ramos *et al.*, 2009).

El MP no afectó significativamente a la concentración de ADN total bacteriano en los líquidos ruminales obtenidos, pero este valor fue un 22,2% mayor con el método Sto que con el Gasa, lo que pudo deberse a un mayor desligamiento de las bacterias de la fase sólida. De acuerdo con esta hipótesis, Mackie *et al.* (1983) encontraron que el tratamiento de la digesta sólida ruminal con Ultra-Turrax® o Stomacher® durante 1 minuto casi duplicó el número de bacterias totales cultivables y utilizadoras de lactato en comparación con los recuentos obtenidos después de la agitación manual para suspender partículas sólidas, pero disminuyó el número de bacterias celulolíticas. La pobre anaerobiosis que se puede mantener durante la realización de tratamientos de este tipo podría explicar la falta de influencia de los MP utilizados en nuestro estudio en la mayoría de los parámetros de fermentación, a pesar de que el método Sto dio lugar a una mayor abundancia de *F. succinogenes* y *R. albus* y cantidades de bacterias totales numéricamente mayores.

Otros estudios anteriores han demostrado que el tratamiento con Sto de la digesta ruminal tiene un impacto sobre la cantidad y el perfil

de las bacterias recuperadas en el líquido (Ramos *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2009) por lo que decidimos incluir dicho método en nuestro estudio, pero el tiempo de tratamiento se limitó a 3 minutos para disminuir la exposición al oxígeno, y esto puede haber reducido la cantidad de bacterias desligadas. La falta de diferencias significativas entre el inóculo Gasa y Nylon en cualquiera de las poblaciones microbianas analizadas podría indicar que las pequeñas partículas de alimento asociadas al inóculo Gasa no representan una contribución significativa para provocar cambios en la población microbiana total. La falta de diferencias entre métodos Gasa y Nylon en cualquier parámetro de fermentación es consistente con esta hipótesis.

El MP no afectó a la diversidad (índice de Shannon) ni al número de unidades taxonómicas operacionales (OTUs; número de picos) de ningún inóculo. Sin embargo, la estructura de la comunidad bacteriana fue diferente en los distintos animales y con los diferentes MP, como muestra el dendrograma obtenido a partir del ARISA. La baja similitud de las muestras Sto con las muestras Gasa y Nylon indicaría la presencia de diferentes OTUs en este inóculo, lo que puede sugerir que la homogenización del contenido ruminal separa bacterias específicas de la fase sólida; sin embargo, únicamente 3 picos de los electroferogramas del ARISA eran exclusivos de las muestras del método Sto. El patrón de agrupamiento observado en el dendrograma de los perfiles ARISA indica que el individuo (la oveja) tuvo un mayor efecto sobre la estructura de las comunidades bacterianas que el MP, lo que coincide con lo observado previamente por otros autores en el rumen de ovinos alimentados con dietas diferentes (Saro *et al.*, 2012; Saro *et al.*, 2014a; Mateos *et al.*, 2015).

El MP afectó a la concentración total de ADN protozoario, que fue de 1,5 y 2,9 veces mayor en las muestras Gasa que en las de Nylon y Sto, respectivamente. La menor concentración de ADN protozoario en las muestras Nylon fue atribuida a la retención de los protozoos más grandes ($> 100 \mu\text{m}$) en la tela de nylon utilizada para la filtración. El inóculo Sto tuvo la concentración más baja de ADN protozoario, lo que podría ser debido al daño físico de la lábil membrana de los protozoos, permitiendo la liberación de ADN intracelular durante la homogenización y ocasionando su posterior pérdida durante la centrifugación de las muestras antes de la extracción de ADN. Estos resultados concuerdan con los de Mackie *et al.* (1983), quienes observaron que el batido del contenido ruminal durante 1 min disminuyó el recuento de protozoos ciliados en 2,3 veces en comparación con la agitación manual como método para resuspender las partículas sólidas.

A pesar de los cambios observados en las poblaciones microbianas, los patrones de fermentación de los distintos sustratos tras 8 o 24 h de incubación se vieron afectados sólo ligeramente por los MP utilizados. Las únicas diferencias entre los métodos Gasa y Sto fueron detectadas en la producción de metano y en la digestibilidad de la materia seca (DMS). De acuerdo con nuestros resultados, Rymer *et al.* (1999) encontraron que la cinética de producción de gas y la producción de AGV con forraje como sustrato no se vieron significativamente afectadas por el batido del contenido ruminal durante 20 segundos en comparación con el filtrado del contenido ruminal a través de 4 capas de gasa, aunque el batido aumentó significativamente la degradabilidad aparente de la materia orgánica del sustrato. Del mismo modo, Bueno *et al.* (2005) observaron que la inclusión de bacterias del sólido en el inóculo ruminal no tuvo ningún efecto sobre los parámetros de la cinética de producción de gas de diferentes sustratos, pero aumentó la degradabilidad aparente de la materia orgánica. En cambio, Lee *et al.* (2004), utilizando bacterias solo de la fase sólida o solo de la fase líquida como inóculo para incubaciones de 24 h de distintos sustratos, observaron que los parámetros de la cinética de producción de gas y la producción de AGV eran mayores con el inóculo que contenía únicamente bacterias de la fase sólida. En nuestro experimento, los inóculos Gasa y Nylon contenían principalmente bacterias asociadas a la fase líquida, pero el inóculo Sto contenía también bacterias separadas de fase sólida, como lo confirma la mayor abundancia de algunas bacterias celulolíticas. El procesado del contenido ruminal para su uso como inóculo implica la exposición de los microorganismos al oxígeno, y la mayor exposición durante la homogenización pudo haber contrarrestado el efecto positivo esperado de incluir bacterias de la fase sólida en el inóculo utilizado para las fermentaciones *in vitro*.

En nuestro estudio no se encontró una correlación entre las poblaciones microbianas y los parámetros de fermentación, lo que podría explicarse por la complejidad del ecosistema microbiano del rumen y las intrincadas interacciones que se producen entre microorganismos durante el proceso fermentativo. Además, ha de remarcar que las poblaciones microbianas y los parámetros de fermentación se vieron sólo ligeramente afectados por el MP, y esto redujo el rango de variación en los datos, limitando la detección de correlaciones entre las medidas. En cambio, en el análisis ARISA se detectaron diferencias sutiles entre MP, como se ha comentado anteriormente. La abundancia de *F. succinogenes* y *R. flavefaciens* en el inóculo se relacionó positivamente con

la cantidad de metano producida (Tabla 21), lo que es consistente con la mayor abundancia de metanógenos y la mayor producción de metano observada para Sto en comparación con los métodos Gasa y Nylon. La relación negativa entre la abundancia de *F. succinogenes* y *R. flavefaciens* en el inóculo y el pH después de 8 h de incubación (Tabla 5.1) pudo reflejar la mayor fermentación (asociada a valores de pH más bajos) producida por los inóculos que presentaban una mayor abundancia de estas bacterias celulolíticas, puesto que el rango de valores de pH (desde 6,90 a 7,56) fue el adecuado para el crecimiento de ambas. Por último, la falta de correlación entre la abundancia de arqueas metanogénicas y la producción de metano observado en nuestro estudio (Tabla 21) coincide con lo reportado previamente en la literatura (Abecia *et al.*, 2012; Romero-Perez *et al.*, 2014).

	Bac	Prt	Hong	Arq	Fs	Rf	Ra
AmA					0,55 (0,07)		
AmG				-0,51 (0,09)	0,61 (0,03)	0,52 (0,08)	-0,55 (0,06)
AmS		-0,51 (0,09)			0,61 (0,03)		-0,54 (0,07)
AmF					0,66 (0,02)		
AmFC					0,57 (0,05)		-0,754
pHA		0,57 (0,05)		0,57 (0,05)	-0,73 (0,01)	-0,61 (0,04)	0,66 (0,02)
pHG		0,53 (0,07)			-0,65 (0,02)	-0,51 (0,09)	0,77 (0,003)
pHS				0,52 (0,08)	-0,72 (0,01)	-0,61 (0,03)	0,77 (0,003)
pHF					-0,73 (0,01)	-0,61 (0,04)	0,77 (0,003)
pHFC					-0,71 (0,01)	-0,58 (0,05)	0,74 (0,01)
AGVA						-0,68 (0,02)	
AGVG		0,62 (0,03)	0,73 (0,01)				
AGVS		0,64 (0,02)	0,71 (0,01)				
AGVF							-0,80 (0,002)
AGVFC			0,67 (0,02)				
MetA					0,72	0,60	-0,78

	Bac	Prt	Hong	Arq	Fs	Rf	Ra
					(0,01)	(0,04)	(0,002)
MetG					0,76	0,64	-0,78
					(0,004)	(0,02)	(0,002)
MetS					0,61		-0,84
					(0,03)		(0,001)
MetF					0,72	0,60	-0,81
					(0,01)	(0,04)	(0,001)
MetFC					0,73	0,61	-0,84
					(0,01)	(0,03)	(0,001)
AcPrA							
AcPrG				-0,59	0,59	0,57	
				(0,04)	(0,05)	(0,05)	
AcPrS							
AcPrF							
AcPrFC			0,62				-0,61
			(0,03)				(0,03)

Tabla 21. Matriz de correlación (valores del coeficiente de Pearson y valores de P entre paréntesis) de las abundancias de los microorganismos (ADN bacteriano (Bac), ADN protozoario (Prt), abundancia relativa de hongos (Hong), arqueas (Arq), *Fibrobacter succinogenes* (Fs), *Ruminococcus flavefaciens* (Rf), *Ruminococcus albus* (Ra)) con los parámetros de fermentación (concentración de amoníaco (Am), pH, AGV totales (AGV), producción de metano (Met) y relación acético:propiónico (Ac:Pr)) en cultivos no renovados de microorganismos ruminales con tres forrajes diferentes (alfalfa (A), gramíneas (G) y paja de cebada (S)) y con diferente cantidad de forraje y concentrado (solo forraje (F) o 50:50 forraje:concentrado (FC))

Como era de esperar, las características del sustrato incubado (FOR y FC) influyeron en su patrón de fermentación, pero la falta de interacciones significativas entre el MP y las características del sustrato indica una respuesta similar al MP de todos los sustratos. Para la mayoría de los parámetros de fermentación, los sustratos FOR, clasificados de mayor a menor valor, fueron heno de alfalfa > heno de gramíneas > paja de cebada, lo cual es consistente con su composición química. La incubación de los sustratos FC dio lugar a una mayor cantidad de productos de fermentación que los sustratos FOR a las 8 y 24 h, lo que concuerda con los patrones de fermentación en ovinos alimentados con dietas con proporciones diferentes de forraje:concentrado.

En definitiva, el tratamiento con Stomacher[®] incrementó la abundancia de bacterias totales y celulolíticas y disminuyó la de protozoos en el líquido obtenido. El procesado del contenido ruminal para su uso como inóculo implica la exposición de microorganismos al oxígeno, y la mayor exposición por el tratamiento con Stomacher[®] puede

haber contrarrestado el efecto positivo de la inclusión de bacterias desligadas de la fase sólida en el inóculo. Los resultados de este experimento muestran que el método de procesamiento del contenido del rumen para obtener el inóculo para incubaciones *in vitro* puede afectar a las poblaciones microbianas presentes en el mismo, pero esto parece afectar poco a la fermentación de sustratos de diferente composición química.

El cuarto y último trabajo fue planteado para evaluar la evolución de las poblaciones microbianas y de las características de la fermentación durante la incubación en fermentadores RUSITEC de dos dietas diferentes representativas de la alimentación de ganado ovino, una compuesta por 50% de heno de alfalfa y 50% de concentrado (MC; utilizada para ganado ovino lechero), y la otra compuesta por 15% de paja de cebada y 85% de concentrado (AC; utilizada en corderos de cebo). A lo largo del periodo de incubación se tomaron muestras de la fase sólida (SOL) de los fermentadores para el análisis de las comunidades microbianas ligadas a esta fase, y se determinó la degradación del sustrato incubado y el crecimiento microbiano. En la fase líquida (LIQ), se tomaron muestras para el análisis de los microorganismos y de los principales parámetros de la fermentación, y para la valoración del crecimiento microbiano.

Paralelamente, se recogieron muestras del gas producido para analizar su concentración de metano.

Desde el día 3 al 14 de incubación, las concentraciones de ADN protozoario se redujeron 9,9 y 5,7 veces en las fases SOL y LIQ con la dieta MC, y 64,1 y 11,5 veces con la dieta AC, respectivamente. En línea con nuestros resultados, también se ha observado una disminución de protozoos a lo largo del tiempo en fermentadores de flujo continuo (Muetzel *et al.*, 2009; Soto *et al.*, 2013; Martínez-Fernández *et al.*, 2015). Una disminución del número de protozoos al aumentar el tiempo de incubación también se ha encontrado en la fase líquida de fermentadores RUSITEC (Carro *et al.*, 1992; Carro *et al.*, 1995; Martínez *et al.*, 2010c; Martínez *et al.*, 2011a), pero nuestros resultados muestran asimismo una disminución de protozoos en la fase sólida (SOL). Por otra parte, en nuestro estudio hubo una correlación significativa entre las concentraciones de ADN protozoario en el SOL y la fase LIQ de los fermentadores. El pH más bajo en los fermentadores que recibieron la dieta AC contribuyó probablemente a la reducción de la población de protozoos, ya que se ha demostrado que su número disminuye con valo-

res de pH inferiores a 6,0 tanto *in vivo* (Franzolin y Dehority, 1996) como *in vitro* (Carro *et al.*, 1995; Martínez *et al.*, 2011a). Además, el menor tiempo de retención de la digesta sólida en los fermentadores con dieta AC (48 h para forraje y 24 horas para concentrado; 85% y el 50% de concentrado para dietas con AC y MC, respectivamente) también podría contribuir a la reducida concentración de protozoos en esta fase de la digesta, debido a que el secuestro de protozoos entre las partículas de la digesta se ha identificado como un factor importante en el mantenimiento de su concentración (Nakamura y Kurihara, 1978).

Contrariamente a lo observado para los protozoos, las concentraciones de ADN bacteriano aumentaron con el tiempo de incubación en ambas fases de la digesta en fermentadores MC y en la fase LIQ de fermentadores AC. Ziemer *et al.*, (2000) y Soto *et al* (2013) también observaron un aumento de 1,7 y 1,2 veces en abundancia bacteriana en fermentadores de flujo continuo tras 10 y 5 días de incubación, respectivamente, mientras que Muetzel *et al* (2009) y Soto *et al.* (2012) no detectaron cambios temporales en la abundancia bacteriana en fermentadores de flujo continuo alimentados con dietas de composición variable e inoculados con contenido ruminal de vacas lecheras y cabras, respectivamente. Martínez-Fernández *et al.* (2015) observaron una disminución significativa de las concentraciones de ADN bacteriano desde el día 0 al día 4 de incubación en fermentadores de flujo continuo inoculados con contenido ruminal de cabras, aunque posteriormente las concentraciones se mantuvieron estables hasta el día 12. En el único estudio de este tipo realizado con fermentadores RUSITEC, Prevot *et al.* (1994) observaron que la fluorescencia de las bacterias de la fase líquida disminuyó marcadamente durante los primeros 2 días de incubación, pero permaneció estable hasta el final del período de incubación de 6 días. Las diferencias en la fuente del inóculo, las condiciones de manejo de los fermentadores y el tipo de dieta pueden contribuir a explicar la variabilidad de estos resultados.

Las 3 poblaciones fibrolíticas analizadas mostraron una evolución diferente a lo largo del tiempo de incubación; mientras que en el día 3 *F. succinogenes* fue la más abundante en todos los fermentadores, al final de la incubación *R. albus* fue la más abundante en fermentadores MC y *F. succinogenes* lo fue en los fermentadores AC. En fermentadores de flujo continuo, algunos autores han observado una población bastante estable de *F. succinogenes* (Ziemer *et al.*, 2000, Muetzel *et al.*, 2009, Soto *et al.*, 2012), aunque Soto *et al.* (2013) señalaron un aumento de 17,5 veces en el día 5 de incubación. *F. succinogenes* se ha identi-

ficado como una de las bacteria celulolíticas más abundante, independientemente de la dieta, en el rumen de ovejas (Michalet-Doreau *et al.*, 2001; Saro *et al.*, 2012; Saro *et al.*, 2014b) y en CNRMR inoculados con líquido ruminal de ovejas (Chen *et al.*, 2008), observación que concuerda con nuestros resultados del día 3. Sin embargo, las condiciones en los fermentadores MC parecen haber sido más favorables para el crecimiento de ambos *Ruminococcus*, cuya abundancia se mantuvo bastante estable a lo largo del tiempo, que para *F. succinogenes*. En los fermentadores AC la abundancia de las tres bacterias celulolíticas disminuyó con el tiempo, lo que puede atribuirse en parte a los bajos valores de pH en estos fermentadores.

En varios estudios con fermentadores de flujo continuo se ha observado una población relativamente estable de metanógenos durante el período de incubación (Ziemer *et al.*, 2000; Soto *et al.*, 2012, 2013; Martínez-Fernández *et al.*, 2015), pero en nuestro estudio observamos un aumento en la abundancia relativa de metanógenos en la fase SOL al avanzar el tiempo, lo que podría indicar que las condiciones dentro de las bolsas de nylon que contienen el alimento eran apropiadas para su crecimiento. Aunque la población de metanógenos está influenciada por muchos factores (Belanche *et al.*, 2014), algunas especies tienen tiempos de multiplicación inferiores a 5 h (Thauer *et al.*, 2008) y por lo tanto, los tiempos de retención largos del alimento en los fermentadores RUSITEC (24 y 48 h de concentrado y forraje respectivamente) no impedirían su crecimiento. Piao *et al.* (2014) confirmaron el rápido crecimiento de los metanógenos dentro de bolsas de nylon que contenían forraje (*Panicum virgatum*) después de incubar las muestras *in situ* en el rumen de una vaca lechera, y observaron que la abundancia de metanógenos a las 4 h de incubación se incrementó 3,3 veces en comparación con la existente a los 30 minutos de incubación. Sin embargo, la abundancia relativa de metanógenos en la fase LIQ de los fermentadores tendió a disminuir durante el período de incubación para ambas dietas. Un factor que puede contribuir a la reducción de metanógenos y otros microorganismos en esta fase es la apertura diaria de los fermentadores para cambiar las bolsas que contienen los alimentos, ya que se expone el contenido al oxígeno atmosférico, que es tóxico para los microorganismos anaerobios (Tholen *et al.*, 2007). La menor abundancia de metanógenos en las fases SOL y LIQ de los fermentadores AC que en los fermentadores MC pudo estar relacionada con el pH, ya que el pH en los fermentadores MC se mantuvo en el rango de valores óptimos para la metanogénesis ruminal, pero en los fermentadores AC los

valores fueron inferiores (van Kessel y Russell, 1996). La menor producción de metano observada en los fermentadores AC apoyaría esta hipótesis.

La disminución de la abundancia relativa de hongos en ambas fases de digesta observada en nuestro estudio al avanzar la incubación no coincide con el aumento de 1,5 y 23,2 veces observado por Soto *et al* (2012) y Soto *et al* (2013) en fermentadores de flujo continuo tras 7 y 5 días de incubación, respectivamente. Kostyukovsky *et al.* (1995) observaron que el número de unidades formadoras de colonias de hongos en la fase LIQ de fermentadores RUSITEC defaunados disminuyó después de la inoculación, pero posteriormente se recuperó a valores ligeramente más bajos que los encontrados en el inóculo; sin embargo, el inóculo había sido congelado a -20 °C durante 3 semanas antes de la inoculación de los fermentadores y por lo tanto los resultados no son directamente comparables con los de nuestro estudio. La mayor abundancia de hongos en fermentadores AC que en fermentadores MC fue inesperada y contradice la idea general de que las dietas altas en fibra deben promover más las poblaciones fúngicas que las dietas bajas en fibra, debido al papel relevante que tienen hongos en la degradación de la misma. Sin embargo, en diversos estudios con fermentadores de flujo continuo (Soto *et al.*, 2012) o *in vivo* (Carberry *et al.*, 2012) no se observaron diferencias en las abundancias de hongos entre dietas con contenidos de fibra variable incubadas.

La diversidad bacteriana en la fase SOL aumentó al avanzar el tiempo de incubación para ambas dietas, mientras que en la fase LIQ de los fermentadores permaneció sin cambios. En contraste, Soto *et al* (2012, 2013) no observaron variaciones temporales en la diversidad bacteriana en el contenido de fermentadores de flujo continuo (mezcla de SOL y LIQ) evaluada por DGGE o T-RFLP. En los dendrogramas de nuestro estudio, las muestras de inóculo formaron un grupo separado, indicando que las poblaciones bacterianas cambiaron notablemente después de la inoculación de los fermentadores. Las muestras de inóculo a su vez se dividieron según la fase de la digesta, confirmando los resultados de estudios anteriores que muestran diferencias la estructura de las comunidades bacterianas entre las fases SOL y LIQ del rumen de ovejas (Michalet-Doreau *et al.*, 2001; Saro *et al.*, 2014a).

La mayor diversidad bacteriana observada en la fase SOL de los fermentadores MC en comparación con los fermentadores AC coincide con otros estudios (Martínez *et al.*, 2010c; Larue *et al.*, 2005) que mos-

traron una mayor diversidad bacteriana en la fase SOL de la digesta ruminal de ovejas alimentadas con dietas forrajeras que en las que recibían dietas que incluían concentrados. La falta de diferencias entre las dietas en la diversidad bacteriana en la fase LIQ de los fermentadores concuerda con los resultados de Martínez *et al.* (2010c), quienes tampoco observaron efecto de la dieta en la diversidad bacteriana en el líquido ruminal de ovejas y fermentadores RUSITEC. En cambio, Kocherginskaya *et al.* (2001) observaron índices más altos de diversidad en la fase LIQ del rumen de novillos alimentados con maíz que en animales alimentados con heno, utilizando para ello DGGE y bibliotecas de secuencias de ADN. Se ha demostrado repetidamente que la dieta afecta al perfil de la comunidad bacteriana, pero es difícil sacar conclusiones generales. Además, la técnica de huella genética utilizada para medir la diversidad bacteriana podría influir en los resultados obtenidos (Saro *et al.*, 2014a), lo que hace difícil una comparación directa de resultados de diferentes estudios.

La evolución de los parámetros de fermentación confirma resultados anteriores que indican que un periodo de adaptación de 8 días es suficiente para alcanzar condiciones estables en los fermentadores, porque la mayoría de parámetros muestran valores similares en los días 8 y 14 (Martínez *et al.*, 2011b). La disminución en las proporciones de propionato observadas desde el día 8 al 14 fue acompañada por un aumento en la proporción de butirato, posiblemente debido a cambios en las poblaciones bacterianas, según lo sugiere el agrupamiento de las muestras por día de muestreo en los dendrogramas. Las diferencias entre las dos dietas en los parámetros de fermentación siguieron el patrón observado *in vivo* (Ramos *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2010a) y en fermentadores de RUSITEC (Gomez *et al.*, 2005; Martínez *et al.*, 2010a) para dietas con diferentes proporciones de concentrado. El análisis de componentes principales relaciona las muestras del SOL del día 3 de fermentadores MC con el aumento de abundancia de las tres bacterias celulolíticas, lo que está de acuerdo con la mayor abundancia de las bacterias celulolíticas observado en ovinos alimentados con dietas de alto o medio contenido de forraje en comparación con los alimentados con dietas de alto nivel de concentrado (Mosoni *et al.*, 2007). La abundancia de bacterias celulolíticas se relacionó con la proporción de butirato, pero sorprendentemente no se asoció con la proporción de acetato en dicho análisis de componentes principales. Como se ha señalado por Mossoni *et al.*, (2007), la qPCR cuantifica las células viables y no viables y, por tanto, puede no reflejar la actividad real de estas especies en el rumen en el momento del muestreo.

Otro objetivo de este estudio fue comparar la estimación del crecimiento microbiano utilizando como marcador ^{15}N con las concentraciones de ADNr microbiano. Belanche *et al.* (2011) compararon las estimaciones de crecimiento microbiano usando bases púricas como marcador microbiano con secuencias de ADNr (DNA bacteriano y protozoario) en corderos sacrificados a los 45 y 90 días de edad y, tras observar que ambos métodos detectaban diferencias similares entre grupos, concluyeron que las secuencias de ADNr microbiano podrían considerarse como posibles marcadores internos para determinar la síntesis microbiana *in vivo*. Nuestro estudio *in vitro* comparando ^{15}N y secuencias de ADNr confirmó sólo parcialmente sus resultados, ya que ambos marcadores detectaron un mayor crecimiento microbiano en los fermentadores MC que en los fermentadores AC, pero el crecimiento microbiano fue mayor en la fase SOL que en la fase LIQ con ^{15}N , mientras que lo contrario fue detectado mediante el uso de ADNr microbiano. Debe tenerse en cuenta que tanto las secuencias de ADNr como el enriquecimiento de ^{15}N fueron evaluados en las mismas muestras de la fase SOL, pero en diferentes muestras de la fase LIQ: el enriquecimiento de ^{15}N fue determinado en el efluente recogido diariamente, pero las secuencias de ADNr correspondieron a una muestra del contenido líquido de los fermentadores tomada antes de la alimentación diaria. Se precisan, por tanto, estudios que analicen las secuencias de ADNr y el enriquecimiento de ^{15}N en las mismas muestras de la fase LIQ para confirmar la idoneidad de las secuencias de ADNr como marcadores para estimar el crecimiento microbiano *in vitro*.

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que el sistema RUSITEC fue capaz de mantener todas las poblaciones microbianas estudiadas, pero la abundancia de la mayoría de ellas disminuyó durante el período de incubación. Los cambios microbianos difieren de los observados en fermentadores de flujo continuo, lo que ayudaría a explicar las diferencias en los parámetros de fermentación observados previamente entre los dos tipos de fermentadores cuando en ambos se utilizan dietas similares. Las distintas poblaciones microbianas encontradas en las fases sólida y líquida de nuestros fermentadores reflejan la alta compartimentalización que se produce en el sistema RUSITEC. Como cabía esperar, la dieta tuvo también una marcada influencia sobre las poblaciones microbianas, que fue más pronunciada en la digesta sólida que en la fase líquida. Los parámetros de fermentación fueron estables durante el período de muestreo comúnmente utilizado en este tipo de experimentos (días 8 a 14), pero se detectaron algunos cambios

en las poblaciones microbianas, lo que refleja las complejas interacciones entre los microorganismos del ecosistema ruminal.

Conclusiones

- Los efectos de dosis crecientes (20 a 540 mg/L) de aceite de ajo y cinamaldehído sobre la fermentación *in vitro* de dos dietas representativas de las que reciben los rumiantes lecheros y de cebo dependieron de la dosis de aditivo y de la dieta incubada. Se necesitaron dosis más bajas de aceite de ajo para observar efectos sobre las proporciones de ácidos grasos volátiles con la dieta leche que con la dieta de cebo (60 vs. 180 mg/L), mientras que para la producción de metano se observó la situación contraria (60 vs. 20 mg/L). La efectividad de estos dos aditivos para modificar la fermentación ruminal dependió de las características de la dieta suministrada a los animales, lo que indica la importancia de probar los aditivos con diferentes tipos de dieta.
- Al comparar los efectos de dosis crecientes (20 a 540 mg/L) de aceite de ajo y cinamaldehído en la fermentación *in vitro* de dos dietas diferentes se observaron efectos más marcados con el aceite de ajo para la misma dosis. Sin embargo, a la dosis más alta (540 mg/L) el aceite de ajo no tuvo ningún efecto negativo sobre la fermentación ruminal, mientras que el cinamaldehído inhibió la producción de ácidos grasos volátiles con las dos dietas.
- Al comparar la fermentación de diversas dietas en el rumen de ovejas y en cultivos no renovados de microorganismos ruminales se observaron diferencias en la magnitud de la mayoría de los parámetros fermentativos pero, en general, las diferencias entre dietas atribuidas al tipo de forraje observadas *in vitro* fueron similares a las encontradas *in vivo*. Sin embargo, existieron diferencias entre los dos sistemas (*in vivo* e *in vitro*) en la detección de los efectos de la relación de forraje:concentrado en algunos parámetros, como el pH, la degradabilidad de la fibra neutro detergente y la concentración total de ácidos grasos volátiles. La similitud entre las comunidades bacterianas presentes en el fluido ruminal usado como inóculo y en el contenido de los cultivos no renovados de microorganismos ruminales fue mayor del 67% para todas las dietas, pero la menor diversidad bacteriana observada *in vitro* en comparación con el fluido ruminal de las ovejas indica una selección de determinadas bacterias durante el período de incubación.

- Cuando se compararon tres métodos de procesado del contenido ruminal para la obtención de inóculo para incubaciones *in vitro* se observaron diferencias significativas en las poblaciones microbianas presentes en dicho inóculo. Comparado con el filtrado del contenido ruminal a través de cuatro capas de gasa, tomado como método de referencia, el tratamiento con Stomacher[®] incrementó la abundancia de bacterias totales y celulolíticas y disminuyó la abundancia de protozoos sin afectar a las poblaciones de hongos y arqueas metanogénicas. Sin embargo, un segundo filtrado del contenido ruminal a través de una malla de nailon de 100 μm de poro no produjo diferencias en ninguna de las poblaciones microbianas analizadas respecto al método de referencia.
- Cuando el fluido obtenido por tres métodos de procesado del contenido ruminal (filtrado por cuatro capas de gasa, filtrado por nailon de 100 μm de poro o tratado con Stomacher[®]) se usó como inóculo para incubaciones *in vitro* solo se observaron diferencias sutiles en la fermentación de sustratos de diferente composición química a las 8 horas de incubación, pero la mayoría desaparecieron a las 24 horas. Por ello, no se recomienda un tratamiento adicional al filtrado por cuatro capas de gasa, ya que implica un paso más en el proceso y no afecta a los parámetros fermentativos.
- En incubaciones realizadas con fermentadores RUSITEC que recibían dos dietas diferentes (leche y cebo) se observó que las poblaciones de bacterias totales, protozoos, hongos y arqueas metanogénicas presentes en el inóculo se mantuvieron durante 14 días, pero su abundancia disminuyó durante el período de incubación, con la excepción de las bacterias totales que mostraron un aumento. Las poblaciones microbianas de las fases sólida y líquida de los fermentadores fueron diferentes, reflejando la alta compartimentación en el sistema RUSITEC, y la influencia de la dieta incubada fue más marcada en la fase sólida que en la líquida. Los parámetros fermentativos fueron relativamente estables durante el período de muestreo (días 8 a 14), pero se detectaron cambios en las poblaciones microbianas en este período, lo que demuestra las complejas interacciones que se producen entre los microorganismos ruminales.
- El uso de dos procedimientos distintos (¹⁵N como marcador microbiano y secuencias de ADN_r) para estimar la síntesis de proteína microbiana en fermentadores RUSITEC produjo resultados similares al comparar las dos dietas incubadas, pero mostró resultados

opuestos al comparar el crecimiento microbiano en las fases sólida y líquida de la digesta. Estos resultados se atribuyeron al diferente origen de las muestras de la fase líquida usadas en ambos procedimientos: el efluente de los fermentadores para analizar las concentraciones de ^{15}N y el contenido de los fermentadores para las secuencias de ADNr.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aafjes, J.H., Nijhof J.K. 1967. A simple artificial rumen giving good production of volatile fatty acids. *Br. Vet. J.* 123:436–445.
- Abe, M., Iriki, T. 1978. Effects of diet on the protozoa population in permeable continuous cultures of rumen contents. *Br J Nutr.* 39: 255–264.
- Abe, M., Kumeno, F. 1973. *In vitro* simulation of rumen fermentation: apparatus and effects of dilution rate and continuous dialysis on fermentation and protozoal population. *J. Anim. Sci.* 36:941–950.
- Abe, M., Kurihara, Y. 1984. Long-term cultivation of certain rumen protozoa in a continuous fermentation system supplemented with sponge materials. *J. Appl. Bacteriol.* 56:201–203.
- Abecia, L., Toral, P.G., Martín-García, A.I., Martínez, G., Tomkins, N.W., Molina-Alcaide, E., Newbold, C.J., Yáñez-Ruiz, D.R. 2012. Effect of bromochloromethane on methane emission, rumen fermentation pattern, milk yield, and fatty acid profile in lactating dairy goats. *J. Dairy Sci.* 95:2027–36.
- Abecia, L., Soto, E.C., Ramos-Morales, E., Molina-Alcaide, E. 2014. Microbial and chemical composition of liquid-associated bacteria in goats' rumen and fermenters. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 5:1001–1012.
- Adler, J.H., Dye, J.A., Boggs, D.E. y Williams, H.H. 1958. Growth of rumen microorganisms in an *in vitro* continuous-flow system on a protein free diet. *Cornell Vet.* 48:53–66.
- Ammar, H., López, S., González, J.S., Ranilla, M.J. 2004. Chemical composition and *in vitro* digestibility of some Spanish browse plant species. *J. Sci. Food. Agric.* 84:197–204.
- ANKOM, 1998. Procedures for fibre and *in vitro* analysis.

- AOAC, 1999. Official Methods of Analysis en: Assoc. Off. Anal. Chem., Gaithersburg, MD, EEUU.
- Asplund, J.M. 1994. The influence of energy on amino acid supply and utilization in the ruminant, en: Principles of protein nutrition of ruminants. Asplund, J.M., ed. CRC Press, Boca Ratón, Florida, EEUU.
- Baker, F., Harris, S.T. 1947. Microbial digestion in the rumen (and cecum), with special reference to the decomposition of structural cellulose. Nutr. Abstr. Revs. 17:3.
- Beever, D.E., Mould, F.L. 2000. Forage evaluation for efficient ruminant livestock production. In: Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. Givens, D.I., Owen, E., Axford, R.F.E., Omed, H.M. (Eds.). CAB International, Wallingford, Oxford, Reino Unido.
- Belanche, A., de la Fuente, G., Yáñez-Ruiz, D.R., Newbold, C.J., Calleja, L., Balcells, J. 2011. Technical note: The persistence of microbial-specific DNA sequences through gastric digestion in lambs and their potential use as microbial markers. J. Anim. Sci. 89:2812–2816.
- Belanche, A., de la Fuente, G., Newbold, C.J. 2014. Study of methanogen communities associated with different rumen protozoal populations. FEMS Microbiol. Ecol. 90:663–77.
- Benchaar, C., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Beauchemin, K.A., McAllister, T.A. 2007. Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. Can. J. Anim. Sci. 87:413–419.
- Benchaar, C., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Wang, Y., Beauchemin, K.A., McAllister, T.A., 2008. Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation (vol 87, pg 413, 2007). Canadian J. Anim. Sci. 2:341–341.
- Beuvink, J., Spoelstra, S. 1992. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of different carbohydrates by mixed rumen microorganisms *in vitro*. Appl. Environ. Microbiol. 37:505–509.
- Bhatta, R., Tajima, K., Takusari, N., Higuchi, K., Enishi, O., Kurihara, M., 2007. Comparison of *In vivo* and *In vitro* Techniques

for Methane Production from Ruminant Diets. Asian–Austral. J. Anim. Sci. 7:1049–1056.

- Blanchart, G., Vignon, B., 1984. Adaptation d'un fermenteur de type RUSITEC. Bull. Rech. INRA. 9:1–10.
- Blanchart, G., Durand, M., Barry, J.L., Bouillier–Odot, M., Jouany, J.P. 1989. Intérêts et limites des fermenteurs à flux semi-continu de type RUSITEC dans l'étude des fermentations du rumen. Ann. Zoo-tech. 38:285–314.
- Blümmel, M., Bullerdick, P. 1997. The need to complement the *in vitro* gas measurements with residue determination from in sacco degradabilities to improve the prediction of voluntary intake of hays. Anim Sci. 64:71–75.
- Blümmel, M., Makkar, H.P.S., Becker, K. 1997. *In vitro* gas production: A technique revisited. J. Anim. Physiol. 77:24–34.
- Blümmel, M., Ørskov, E.R. 1993. Comparison of *in vitro* gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. Anim. Feed Sci. Technol. 40:109–119.
- Blümmel, M. 2000. Predicting the partitioning of fermentation products by combined *in vitro* gas volume and true substrate degradability measurements: opportunities and limitations. In: Proceedings of the British Society of Animal Science on Gas Production: Fermentation Kinetics for Feed Evaluation and to Assess Microbial Activity, pp. 48–58.
- Bodas, R., Lopez, S., Fernandez, M., Garcia–Gonzalez, R., Rodriguez, A.B., Wallace, R.J., Gonzalez, J.S., 2008. *In vitro* screening of the potential of numerous plant species as antimethanogenic feed additives for ruminants. Anim. Feed Sci. Technol. 1–4:245–258.
- Bowie, W.C. 1962. *In vitro* studies of rumen microorganisms using a continuous–flow system. Am. J. Vet. Res. 23:858–862.
- Brown, V.E., Rymer, C., Agnew, R.E., Givens, D.I. 2002. Relationship between *in vitro* gas production profiles of forages and *in vivo* rumen fermentation patterns in beef steers fed those forages. Anim. Feed Sci. Technol. 98:13–24.
- Bryant, M.P., Robinson, I.M. 1968. Effects of diet, time after feeding and position sampled on numbers of viable bacteria in the bovine rumen. J. Dairy Sci. 51:1950–1955.

- Bryant, M.P. 1973. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. *Fed. Proc.* 32:1809–13.
- Bueno, I.C.S., Cabral Filho, S.L.S., Gobbo, S.P., Louvandini, H., Vitti, D.M.S.S., Abdalla, A.L. 2005. Influence of inoculum source in a gas production method. *Vitr. Gas Prod. Tech. Limitations Opor.* 123–124:95–105.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C., 2004. Effects of different doses of plant extracts on rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 213–213.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Cardozo, P.W., Kamel, C. 2005a. Effects of Cinnamaldehyde and Garlic Oil on Rumen Microbial Fermentation in a Dual Flow Continuous Culture. *J. Dairy Sci.* 88:2508–2516.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Carro, M.D., Kamel, C. 2005b. Effect of Garlic Oil and Four of its Compounds on Rumen Microbial Fermentation. *J. Dairy Sci.* 88:4393–4404.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C. 2006. Plant Extracts Affect *In Vitro* Rumen Microbial Fermentation. *J. Dairy Sci.* 89:761–771.
- Calsamiglia, S., Stern, M.D., Firkins, J.L. 1995. Effects of protein source on nitrogen metabolism in continuous culture and intestinal digestion *in vitro*. *J. Anim. Sci.* 73:1819–1827.
- Calsamiglia, S., Ferret, A., Plaixats, A.J., Devant, M. 1999. Effect of pH and pH fluctuations on microbial fermentation in a continuous culture system. *J. Dairy Sci.* 82:38. (Abstr.)
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L., Ferret, A., 2007. Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 6:2580–2595.
- Carberry, C.A., Kenny, D.A., Han, S., McCabe, M.S., Waters, S. M. 2012. Effect of phenotypic residual feed intake and dietary forage content on the rumen microbial community of beef cattle. *Appl. Environ. Microbiol.* 78:4949–58.
- Cardozo, P.W., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C. 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *J. Anim. Sci.* 83:2572–2579.

- Carro, M.D., Lebzien, P., Rohr, K. 1992. Influence of Yeast Culture on the *In vitro* Fermentation (RUSITEC) of Diets Containing Variable Portions of Concentrates. *Anim. Feed Sci. Technol.* 37:209–220.
- Carro, M.D., Lebzien, P., Rohr, K. 1995. Effects of Pore-Size of Nylon Bags and Dilution Rate on Fermentation Parameters in a Semicontinuous Artificial Rumen. *Small Rumin. Res.* 15:113–119.
- Carro, M.D., Lopez, S., Valdes, C., Ovejero, F.J., 1999. Effect of DL-malate on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (RUSITEC). *Anim. Feed Sci. Technol.* 4:279–288.
- Carro, M.D., Miller, E.L., 1999. Effect of supplementing a fibre basal diet with different nitrogen forms on ruminal fermentation and microbial growth in an *in vitro* semi-continuous culture system (RUSITEC). *Br. J. Nutr.* 02:149.
- Carro, M.D., Valdés, C., Ranilla, M.J., González, J.S. 2000. Effect of forage to concentrate ratio in the diet on ruminal fermentation and digesta flow kinetics in sheep offered food at a fixed and restricted level of intake. *Anim. Sci.* 70:127–134.
- Carro, M.D., Ranilla, M.J., 2003. Effect of the addition of malate on *in vitro* rumen fermentation of cereal grains. *Br. J. Nutr.* 2:181–188.
- Carro, M.D., Ranilla, M.J., Tejido, M.L., 2005. Using an *in vitro* gas production technique to examine feed additives: Effects of correcting values for different blanks. *Anim. Feed Sci. Technol.* 173–184.
- Carro, M.D., Ranilla, M.J., Martín-García, A.I., Molina-Alcaide, E., 2009. Comparison of microbial fermentation of high and low-forage diets in RUSITEC, single-flow continuous-culture fermenters and sheep rumen. *Animal.* 4:527–534.
- Chaudhry, A.S., Khan, M.M.H., 2012. Impacts of different spices on *in vitro* rumen dry matter disappearance, fermentation and methane of wheat or ryegrass hay based substrates. *Livest. Sci.* 1:84–90.
- Chaves, A.V., Stanford, K., Dugan, M.E.R., Gibson, L.L., McAllister, T.A., Van Herk, F., Benchaar, C. 2008. Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation,

blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livest. Sci.* 117:215–224.

- Chaves, A.V., Schei, I., Wang, Y., McAllister, T.A., Benchaar, C. 2009. Effects of carvacrol and cinnamaldehyde on microbial fermentation when added to a barley or corn-based diet in a continuous-culture system. *Canadian J. Anim. Sci.* 1:97–104.
- Chen, X.L., Wang, J.K., Wu, Y.M., Liu, J.X. 2008. Effects of chemical treatments of rice straw on rumen fermentation characteristics, fibrolytic enzyme activities and populations of liquid and solid-associated ruminal microbes *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 141:1–14.
- Cheng, K.J., Forsberg, C.W., Minato, H., Costerton, J.W. 1991. Microbial ecology and physiology of feed degradation within the rumen, en: *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants*. Tsuda, T., Y. Sasaki, R. Kawashima, ed. Academic Press, San Diego, California, EEUU.
- Cheng, K.J., McAllister, T.A., Costerton, J.W. 1995. Biofilms of the ruminant digestive tract. In: H. M. Lappin-Scott y J. W. Costerton, editores. *Microbial Biofilms*. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 221–232.
- Cheng, K., McAllister, T.A., 1997. Compartmentation in the rumen en: P. N. Hobson y C. S. Stewart, eds. Springer, Holanda.
- Chenost, M., Andrieu, J., Aufrère, J., Demarquilly, C. 1997. Some methodological aspects for predicting whole plant maize digestibility from the “gas-test” technique. *Options Méditerranéennes Series A.* 34:137–141.
- Colombatto, D., Beauchemin, K.A. 2003. A proposed methodology to standardize the determination of enzymic activities present in enzyme additives used in ruminant diets. *Can. J. Anim. Sci.* 85:559–568.
- Colucci, P.E., MacLeod, G.K., Growum, W.L., McYillan, I., Barney, D.J. 1990. Digesta kinetics in sheep and cattle fed diets with different forage to concentrate ratios at high and low intakes. *J. Dairy Sci.* 73:2143–2156.
- Cone, J.W., Cline-Theil, W., Malestein, A., Klooster, A. Th. Van. 1989. Degradation of starch by incubation with rumen fluid. A

- comparison of different starch sources. *J. Sci. Food Agric.* 49:173–183.
- Cone, J.W., Gelder, A.H. van, Visscher, G.J.W., Oudshoorn, L. 1996. Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. *Anim. Feed Sci. Technol.* 61:113–128.
 - Cone, J.W., Van Gelder, A.H., Bachmann, H. 2000. Influence of inoculum source, dilution and storage of rumen fluid on gas production profiles. En: *Gas production: fermentation kinetics for feed evaluation and to assess microbial activity*, Proceedings of the EAAP Satellite Symposium on Gas Production. British Society of Animal Science (BSAS), Edimburgo, Reino Unido, pp. 74–75.
 - Craig, W.M., Hong, B.J., Broderick, G.A., Bula, R.J., 1984. *In vitro* Inoculum Enriched with Particle-Associated Microorganisms for Determining Rates of Fiber Digestion and Protein Degradation. *J. Dairy Sci.* 12:2902–2909.
 - Crawford, R.J., Hoover, W.H. y Knowlton, P.H. 1980a. Effects of solids and liquid flows on fermentation in continuous cultures. I. Dry matter and fibre digestion, VFA production and protozoa numbers. *J. Anim. Sci.* 51:975–985.
 - Crawford, R.J., Hoover, W.H., Junkins, L.L. 1980b. Effects of solids and liquid flows on fermentation in continuous cultures. II. Nitrogen partition and efficiency of microbial synthesis. *J. Anim. Sci.* 51:986–995.
 - Czerkawski, J.W., Breckenridge, G. 1969a. The fermentation of sugar-beet pulp and sucrose in an artificial rumen, and the effect of linseed oil fatty acids on the fermentation. *Br. J. Nutr.* 1:51–67.
 - Czerkawski, J.W., Breckenridge, G. 1969b. Fermentation of various soluble carbohydrates by rumen micro-organisms with particular reference to methane production. *Br. J. Nutr.* 4:925–937.
 - Czerkawski, J.W., Breckenridge, G. 1977. Design and development of a long-term rumen simulation technique (RUSITEC). *Br. J. Nutr.* 3:371.

- Czerkawski, J.W., Breckenridge, G. 1977. Design and development of a long-term rumen simulation technique (RUSITEC). *Br. J. Nutr.* 3:371.
- Czerkawski, J.W., Breckenridge, G. 1978. Use of the Rumen Simulation Technique (RUSITEC) to Study the Distribution of Microbial Matter in the Solid and Liquid-Phases of the Reaction Mixture-Sequestration of Microorganisms. *Proceedings of the nutrition society.* 3:A70-A70.
- Czerkawski, J.W., Breckenridge, G. 1979. Experiments with the Long Term Rumen Simulation Technique (RUSITEC) – Response to Supplementation of Basal Rations. *Br. J. Nutr.* 2:217-228.
- Czerkawski, J.W. 1986. *An introduction to rumen studies.* Pergamon Press. Oxford [Oxfordshire]; Nueva York, EEUU.
- Danovaro, R., Luna, G.M., Dell'Anno, A., Pietrangeli, B. 2006. Comparison of two fingerprinting techniques, terminal restriction fragment length polymorphism and automated ribosomal intergenic spacer analysis, for determination of bacterial diversity in aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 9:5982-5989.
- Davey, L.A., Chessemann, G.C., Briggs, C.A.E. 1960. Evaluation of an improved artificial rumen designed for continuous control during prolonged operation. *J. Agr. Sci.* 55:155-163.
- Davies, Z.S., Mason, D., Brooks, A.E., Griffith, G.W., Merry, R.J., Theodorou, M.K. 2000. An automatic system for measuring gas production from forages incubated with 343 rumen fluid and its use in determining the effect of enzymes. *Anim. Feed Sci. Technol.* 83:205-221.
- Denman, S.E., McSweeney, C.S. 2006. Development of a real-time PCR assay for monitoring anaerobic fungal and cellulolytic bacterial populations within the rumen. *FEMS Microbiol. Ecol.* 3:572-582.
- Denman, S.E., Tomkins, N., McSweeney, C.S. 2007. Quantitation and diversity analysis of ruminal methanogenic populations in response to the antimethanogenic compound bromochloromethane. *FEMS Microbiol. Ecol.* 3:313-322.
- Devant, M., Ferret, A., Calsamiglia, S., Casals, R., Gasa, J. 2001. Effect of nitrogen source in high-concentrate, low-protein beef cat-

- tle diets on microbial fermentation studied *in vivo* and *in vitro*, J. Anim. Sci. 7:1944–1953.
- Di Marco, O.N., Ressia, M.A., Arias, S., Aello, M.S., Arzadún, M. 2009. Digestibility of forage silages from grain, sweet and bmr sorghum types: Comparison of *in vivo*, *in situ* and *in vitro* data. Anim. Feed Sci. Technol. 3–4:161–168.
 - Doré, J., Gouet, P.H. 1991. Microbial interactions in the rumen, en: Rumen microbial metabolism and ruminant digestion. Jouany, J.P., ed. INRA Editions, Paris, Francia.
 - Dryhurst, N., Wood, C.D. 1998 The effect of nitrogen source and concentration on *in vitro* gas production using rumen microorganisms. Anim. Feed Sci. Technol. 71:131–143.
 - Eun, J.S., Fellner, V., Gumpertz, M.L., 2004. Methane production by mixed ruminal cultures incubated in dual-flow fermentors. J. Dairy Sci. 1:112–121.
 - Ewart, J.M. 1974. Continuous *in vitro* rumen systems. Proc. Nutr. Soc. 33(2):125–133.
 - Farrelly, V., Rainey, F., Stackebrandt, E. 1995. Effect of genome size and *rrn* gene copy number on PCR amplification of 16S rRNA genes from a mixture of bacterial species. Appl. Environ. Microbiol. 61:2798–2801.
 - Fernandez–Rivera, S. 1997. Relationships between gas release *in vitro* and *in vivo* quality measures of tropical forages. In: *In vitro* techniques for measuring nutrient supply to ruminants. Proceedings of Occasional Meeting of the British Society of Animal Science. University of Reading, Reino Unido.
 - Fisher, M.M., Triplett, E.W. 1999. Automated Approach for Ribosomal Intergenic Spacer Analysis of Microbial Diversity and Its Application to Freshwater Bacterial Communities. Appl. Environ. Microbiol. 10:4630–4636.
 - Fliegerova, K., Tapio, I., Bonin, A., Mrazek, J., Callegari, M.L., Bani, P., Bayat, A., Vilkki, J., Kopečný, J., Shingfield, K.J., Boyer, F., Coissac, E., Taberlet, P., Wallace, R.J. 2014. Effect of DNA extraction and sample preservation method on rumen bacterial population. Anaerobe. 29:80–84.

- Fondevila, M., Pérez–Espés, B. 2008. A new *in vitro* system to study the effect of liquid phase turnover and pH on microbial fermentation of concentrate diets for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 144:196–211.
- Franzolin, R., Dehority, B.A. 1996. Effect of prolonged high–concentrate feeding on ruminal protozoa concentrations. *J. Anim. Sci.* 74:2803–2809.
- Fraser, G.R., Chaves, A.V., Wang, Y., McAllister, T.A., Beauchemin, K.A., Benchaar, C. 2007. Assessment of the Effects of Cinnamon Leaf Oil on Rumen Microbial Fermentation Using Two Continuous Culture Systems. American Dairy Science Association, 05/01 ISBN 0022–0302.
- Fu, C.J., Felton, E.E.D., Lehmkuhler, J.W., Kerley, M.S. 2001. Ruminal peptide concentration required to optimize microbial growth and efficiency. *J. Anim. Sci.* 79:1305–1312.
- Fuchigami, M., Senshu, T., Horiguchi, M. 1989. A simple continuous culture system for rumen microbial digestion study and effects of defaunation and dilution rates. *J. Dairy Sci.* 72:3070–3078.
- Fujisawa, H., Watanabe, K., Suma, K., Origuchi, K., Matsufuji, H., Seki, T., Ariga, T. 2009. Antibacterial Potential of Garlic–Derived Allicin and Its Cancellation by Sulfhydryl Compounds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 9:1948–1955.
- Garcia–Gonzalez, R., Lopez, S., Fernandez, M., Bodas, R., Gonzalez, J.S. 2008. Screening the activity of plants and spices for decreasing ruminal methane production *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1–3:36–52.
- Getachew, G., Blümmel, M., Makkar, H.P.S., Becker, K., 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 3–4:261–281.
- Giraldo, L.A., Ranilla, M.J., Tejido, M.L., Carro, M.D., 2007. Influence of exogenous fibrolytic enzymes and fumarate on methane production, microbial growth and fermentation in RUSITEC fermenters. *Br. J. Nutr.* 4:753–761.
- Giraldo, L.A., Ranilla, M.J., Tejido, M.J., Carro, M.D. 2008. Influence of directfed fibrolytic enzymes on diet digestibility and rumi-

- nal activity in sheep fed a grass hay based diet. *J. Anim. Sci.* 86: 1617–1623.
- Gizzi, G., Zanchi, T., Dciaraffia, F. 1998. Comparison of microbiological and fermentation parameters obtained with an improved rumen *in vitro* technique with those obtained *in vivo*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 73:291–305.
 - Godoy, S., Meschy, F. 2001. Utilization of phytate phosphorous by rumen bacteria in a semi–continuous culture system (RUSITEC) in lactating goats fed on different forage to concentrate ratios. *Reprod. Nutr. Dev.* 41:259–265.
 - Goering, H.K., Van Soest, P.J. 1970. Forage fiber analyses: apparatus, reagents, procedures, and some applications. En: *Agriculture Handbook*. Vol. no. 379. Agricultural Research Service, U.S. Dept. of Agriculture, Washintong, DC, EEUU.
 - Gómez, J.A., Tejido, M.L., Carro, M.D. 2005. Influence of disodium malate on microbial growth and fermentation in RUSITEC fermenters receiving medium and high concentrate diets. *Br. J. Nutr.* 93:479–484.
 - Grant, R.J., Mertens, D.R. 1992. Impact of *in vitro* fermentation techniques upon kinetics of fiber digestion. *J. Dairy Sci.* 75:1263–1272.
 - Gray, F.V., Wefler, R.A., Pilgrim, A.F., Jones, G.B. 1962. A stringent test for the artificial rumen. *Austr. J. Agr. Res.* 13:343–350.
 - Griswold, K.E., Apgar, G.A., Bouton, J., Firkins, J.L. 2003. Effects of urea infusion and ruminal degradable protein concentration on microbial growth, digestibility, and fermentation in continuous culture. *J. Anim. Sci.* 81:329–336.
 - Hannah, S.M., Stern, M.D., Ehle, F.R. 1986. Evaluation of a dual flow continuous culture system for estimating bacterial fermentation *in vivo* of mixed diets containing various soya bean products. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1:51–62.
 - Harbers, L.H., Tiflman, A.D. 1962. Continuous liquid culture of rumen microorganisms. *J. Anim. Sci.* 21:575–582.
 - Hatew, B., Cone, J.W., Pellikaan, W.F., Podesta, S.C., Bannink, A., Hendriks, W.H., Dijkstra, J. 2015. Relationship between *in vitro* and *in vivo* methane production measured simultaneously with dif-

- ferent dietary starch sources and starch levels in dairy cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.* 20–31.
- Henderson, G., Cox, F., Kittelmann, S., Miri, V.H., Zethof, M., Noel, S.J., Waghorn, G.C., Janssen, P.H. 2013. Effect of DNA extraction methods and sampling techniques on the apparent structure of cow and sheep rumen microbial communities. *PloS one*, n. 9, pp. e74787.
 - Hervás, G., Frutos, P., Giráldez, F.J., Mora, M.J., Fernández, B., Mantecón, Á.R. 2005. Effect of preservation on fermentative activity of rumen fluid inoculum for *in vitro* gas production techniques. *Anim. Feed Sci. Technol.* 107–118.
 - Hillman, K., Williams A.G., Lloyd, D. 1991. Evaluation of matrices in the rumen simulation technique (RUSITEC) for the maintenance of ciliate protozoa. *Lett. Appl. Microbiol.* 12:129–132.
 - Hindle, V.A., Vuuren van, A.M., Klop, A., Mathijssen–Kamman, A.A., Van Gelder, A.H., Cone, J.W. 2005. Site and extent of starch degradation in the dairy cow? a comparison between *in vivo*, *in situ* and *in vitro* measurements. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 3–6:158–165.
 - Hino, T., Sugiyama, M., Okumura, K. 1993. Maintenance of protozoa and methanogens, and fiber digestion in rumen–simulating continuous culture. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 39:35–45.
 - Hobson, P.N. 1965. Continuous culture of some anaerobes and facultative anaerobic rumen bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 38:167–173.
 - Holland, P.M., Abramson, R.D., Watson, R., Gelfand, D.H. 1991. Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'–3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *PNAS.* 88:7276–7280.
 - Hoover, W.H., Crooker, B.A., Sniffen, C.J. 1976a. Effects of differential solid–liquid removal rates on protozoa numbers in continuous cultures of rumen contents. *J. Anim. Sci.* 43:528–534.
 - Hoover, W.H., Knowlton, P.H., Stern, M.D., Sniffen, C.J. 1976b. Effects of differential solid–liquid removal rates on fermentation parameters in continuous cultures of rumen contents. *J. Anim. Sci.* 43:535–542.

- Hoover, W.H., Crawford, R.J.Jr., Stern, M.D. 1982. Effects of solids and liquid flows on fermentation in continuous cultures. III. Solids retention time. *J. Anim. Sci.* 54:849–854.
- Hoover, W.H., Kincaid, C.R., Varga, G.A., Thayne, W.V., Junkins L.L.Jr. 1984. Effects of solids and liquid flows on fermentation in continuous cultures. IV. pH and dilution rate. *J. Anim. Sci.* 58:692–699.
- Hungate, R.E. 1950. The anaerobic mesophilic cellulolytic bacteria. *Bacteriol. Reviews*, 1:1–49.
- Hungate, R.E., Fletcher, D.W., Dougherty, R.W., Barrentine, B.F. 1955. Microbial Activity in the Bovine Rumen: Its Measurement and Relation to Bloat. *Appl. Microbiol.* 3:161–173.
- Hungate, R.E. 1966. The rumen and its microbes. Academic Press. Nueva York, Londres.
- Isaacson, H.R., Hinds, F.C., Bryant, M.P., Owens, F.N. 1975. Efficiency of energy utilization by mixed rumen bacteria in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 58:1645–1659.
- Jalc, D., Potkanski, A., Szumacher–Strabel, M., Kowalczyk, J., Cieslak, A. 2006. The effect of a forage diet and different fat sources on rumen fermentation *in vitro*. *J. Anim. Feed Sci.* 15:129–132.
- Johnson, R.R. 1963. Symposium on microbial digestion in ruminants: *in vitro* fermentation techniques. *J. Anim. Sci.* 22:792–800.
- Kamel, C., Greathead, H.M.R., Tejido, M.L., Ranilla, M.J., Carro, M.D. 2008. Effects of allicin and diallyl disulfide on *in vitro* rumen fermentation of a mixed diet. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:351–363.
- Kennedy, P.M., Lowry, J.B., Conlan, L.L. 2000. Phosphate rather than surfactant accounts for the main contribution to enhanced fibre digestibility resulting from treatment with boiling neutral detergent, *Anim. Feed Sci. Technol.* 86:177–190.
- Klevenhusen, F., Duval, S., Zeitz, J.O., Kreuzer, M., Soliva, C.R. 2011a. Diallyl disulphide and lovastatin: effects on energy and pro-

tein utilisation in, as well as methane emission from, sheep. Arch. Anim. Nutr. 65:255–266.

- Klevenhusen, F., Zeitz, J.O., Duval, S., Kreuzer, M., Soliva, C.R. 2011b. Garlic oil and its principal component diallyl disulfide fail to mitigate methane, but improve digestibility in sheep. Greenh. Gases Anim. Agric. Find. a Balanc. between Food Emiss. 166–167:356–363.
- Kocherginskaya, S.A., Aminov, R.I., White, B.A. 2001. Analysis of the Rumen Bacterial Diversity under two Different Diet Conditions using Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, Random Sequencing, and Statistical Ecology Approaches. Anaerobe. 7:119–134.
- Koike, S., Kobayashi, Y. 2001. Development and use of competitive PCR assays for the rumen cellulolytic bacteria: Fibrobacter succinogenes, Ruminococcus albus and Ruminococcus flavefaciens. FEMS Microbiol. Lett. 2:361–366.
- Komarek, R.J. 1981. Rumen and abomasal cannulation of sheep with specially designed cannulas and a cannula insertion instrument. J. Anim. Sci. 3:790–795.
- Kongmun, P., Wanapat, M., Pakdee, P., Navanukraw, C. 2010. Effect of coconut oil and garlic powder on *in vitro* fermentation using gas production technique. Livest. Sci. 127:38–44.
- Kongmun, P., Wanapat, M., Pakdee, P., Navanukraw, C., Yu, Z. 2011. Manipulation of rumen fermentation and ecology of swamp buffalo by coconut oil and garlic powder supplementation. Livest. Sci. 135:84–92.
- Kostyukovsky, V., Inamoto, T., Ando, T., Nakai, Y., Ogimoto, K. 1995. Degradation of hay by rumen fungi in artificial rumen (RUSITEC). J. Gen. Appl. Microbiol. 41:83–86.
- Larue, R., Yu, Z., Parisi, V.A., Egan, A.R., Morrison, M. 2005. Novel microbial diversity adherent to plant biomass in the herbivore gastrointestinal tract, as revealed by ribosomal intergenic spacer analysis and rrs gene sequencing. Environ. Microbiol. 7:530–43.
- Lee, S.S., Chang, M.B., Ha, J.K. 2004. Effects of Bacterial Fraction and Proportion of Silage and Concentrate on Rumen Fermentation

and Gas Production Profile. Asian Australas. J. Anim. Sci. 17:643–647.

- Leedle, J.A.Z., Bryant, M.P., Hespell, R.B. 1982. Diurnal variations in bacterial numbers and fluid parameters in ruminal contents of animals fed low or high-forage diets. Appl. Environ. Microbiol. 44:402–412.
- Livak, K.J., Flood, S.J., Marmaro, J., Giusti, W., Deetz, K. 1995. Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization. Genome Res. 4:357–362.
- Lowman, R.S., Theodorou, M.K., Cuddeford, D. 2002. The effect of sample processing on gas production profiles obtained using the pressure transducer technique. Anim. Feed Sci. Technol. 3–4:221–237.
- Macheboeuf, D., Jestin, M., Andrieu, M., Martin-Rosset, J.W. 1997. Prediction of the organic matter digestibility of forages in horses by the gas test method. Proceedings of the symposium on *in vitro* techniques for measuring nutrient supply to ruminants Brit. Soc. Anim. Sci.
- Macheboeuf, D., Ranilla, M.J., Carro, M.D., Morgavi, D.P. 2006. Dose response effect of diallyl disulfide on ruminal fermentation and methane production *in vitro*. Proc. Fifth Jt. RRI-INRA Gastrointest. Tract Microbiol. Symp. 46.
- Macheboeuf, D., Morgavi, D.P., Papon, Y., Mousset, J., Arturo-Schaan, M., 2008. Dose–response effects of essential oils on *in vitro* fermentation activity of the rumen microbial population. Anim. Feed Sci. Technol. 1–4:335–350.
- Mackie, R.I., Gilchrist, F.M.C., Robberts, A.M., Hannah, P.E., Schwartz, H.M. 1978. Microbiological and chemical changes in the rumen during the stepwise adaptation of sheep to high concentrate diets. J. Agric. Sci. 90:241–254.
- Mackie, R.I., Theiron, J.J., Gilchrist, F.M.C., Ndhiovu, M. 1983. Processing ruminal ingesta to release bacteria attached to feed particles. S. Afr. J. Anim. Sci. 90:241–254.

- Mambrini, M., Peyraud, J.L. 1997. Retention time of feed particles and liquids in the stomachs and intestines of dairy cows. Direct measurement and calculations based on faecal collection. *Reprod. Nutr. Dev.* 37:427–442.
- Mansfield, H.R., Endres, M.I., Stern, M.D. 1995. Comparison of microbial fermentation in the rumen of dairy cows and dual flow continuous culture. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1–2:47–66.
- Marston, H.R. 1948. The fermentation of cellulose *in vitro* by organisms from the rumen of sheep. *Bioch. J.* 4:564–574.
- Martínez, M.E., Ranilla, M.J., Ramos, S., Tejido, M.L., Saro, C., Carro, M.D. 2009a. Evaluation of procedures for detaching particle-associated microbes from forage and concentrate incubated in RUSITEC fermenters: efficiency of recovery and representativeness of microbial isolates. *J. Anim. Sci.* 87:2064–2072.
- Martínez, M.E., Ranilla, M.J., Ramos, S., Tejido, M.L., Carro, M. D., 2009b. Effects of dilution rate and retention time of concentrate on efficiency of microbial growth, methane production, and ruminal fermentation in RUSITEC fermenters. *J. Dairy Sci.* 8:3930–3938.
- Martínez, M.E., Ranilla, M.J., Tejido, M.L., Ramos, S., Carro, M.D. 2010a. Comparison of fermentation of diets of variable composition and microbial populations in the rumen of sheep and RUSITEC fermenters. I. Digestibility, fermentation parameters, and microbial growth. *J. Dairy Sci.* 93:3684–3698.
- Martínez, M.E., Ranilla, M.J., Tejido, M.L., Saro, C., Carro, M.D. 2010b. The effect of the diet fed to donor sheep on *in vitro* methane production and ruminal fermentation of diets of variable composition. *Anim. Feed Sci. Technol.* 158:126–135.
- Martínez, M.E., Ranilla, M.J., Tejido, M.L., Saro, C., Carro, M.D. 2010c. Comparison of fermentation of diets of variable composition and microbial populations in the rumen of sheep and RUSITEC fermenters. II. Protozoa population and diversity of bacterial communities. *J. Dairy Sci.* 93:3699–3712.
- Martínez, M.E., Ranilla, M.J., Ramos, S., Tejido, M.L., Carro, M.D. 2011a. Protozoa evolution in RUSITEC fermenters fed diets differ-

ing in forage:concentrate ratio and forage type. Options Méditerranéennes Series A. 99:97–102.

- Martínez, M.E., Ranilla, M.J., Ramos, S., Tejido, M.L., Carro, M. D. 2011b. Evolution of fermentation parameters in RUSITEC fermenters operated at different dilution rates and concentrate retention times. Options Méditerranéennes, 99:121–126.
- Martínez–Fernandez, G., Abecia, L., Martín–García, A.I., Ramos–Morales, E., Denman, S.E., Newbold, C.J., Molina–Alcaide, E., Yáñez–Ruiz, D.R., 2015. Response of the rumen archaeal and bacterial populations to anti–methanogenic organosulphur compounds in continuous–culture fermenters. FEMS Microbiol. Ecol. 91(8): fiv079.
- Mateos, I., Ranilla, M.J., Tejido, M.L., Saro, C., Kamel, C., Carro, M.D. 2013. The influence of diet type (dairy versus intensive fattening) on the effectiveness of garlic oil and cinnamaldehyde to manipulate *in vitro* ruminal fermentation and methane production. Anim. Prod. Sci. 53:299–307.
- Mateos, I., Ranilla, M.J., Saro, C., Carro, M.D. 2015. Comparison of fermentation characteristics and bacterial diversity in the rumen of sheep and in batch cultures of rumen microorganisms. J. Agric. Sci. 153:1097–1106.
- Mauricio, R.M., Mould, F.L., Dhanoa, M.S., Owen, E., Channa, K.S., Theodorou, M.K. 1999. A semi–automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. Anim. Feed Sci. Technol. 79:321–330.
- McBee, R.H. 1953. A Manometric Method for the Evaluation of the Microbial Activity of the Rumen with an Application to the Utilization of Cellulose and Hemicelluloses. Appl. Microbiol. 2:106–110.
- Mcdougall, E.I. 1948. Studies on ruminant saliva 1. the composition and output of sheeps saliva. Biochem. J. 1:99–109.
- Mehrez, A.Z., Orskov, E.R. 1977. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. J. Agric. Sci. 88:645–650.
- Meng, Q., Kerely, M.S., Ludden, P.A., Belyea, R.L. 1999. Fermentation substrate and dilution rate interact to affect microbial growth and efficiency. J. Anim. Sci. 77:206–214.

- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy of ruminant feedingstuff from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *J. Agric. Sci.* 93:217–222.
- Menke, K.H., Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28:7–55.
- Merry, R.J., McAllan, A.B., Smith, R.H. 1990. *In vitro* continuous culture studies on the effect of nitrogen source on rumen microbial growth and fibre digestion. *Anim. Feed Sci. Technol.* 31:55–64.
- Michalet–Doreau, B., Fernandez, I., Peyron, C., Millet, L., Fonty, G. 2001. Fibrolytic activities and cellulolytic bacterial community structure in the solid and liquid phases of rumen contents. *Reprod. Nutr. Dev.* 41:87–94.
- Min, B., Barry, T., Attwood, G., McNabb, W. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1–4:3–19.
- Morgavi, D.P., Kelly, W.J., Janssen, P.H., Attwood, G.T. 2013. Rumen microbial (meta) genomics and its application to ruminant production. *Animal*, S1:184–201.
- Mosoni, P., Chaucheyras–Durand, F., Béra–Maillet, C., Forano, E. 2007. Quantification by real–time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: effect of a yeast additive. *J. Appl. Microbiol.* 103:2676–85.
- Mould, F.L., Kliem, K.E., Morgan, R., Mauricio, R.M. 2005. *In vitro* microbial inoculum: A review of its function and properties. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123–124:31–50.
- Moumen, A., Yáñez–Rúiz, D.R., Carro, M.D., Molina–Alcaide, E. 2007. Protozoa evolution in single–flow continuous culture fermenters and RUSITEC fermenters fed highforage diets. *Options méditerranéennes, Series A.*, pp. 303–308.

- Muetzel, S., Lawrence, P., Hoffmann, E.M., Becker, K. 2009. Evaluation of a stratified continuous rumen incubation system. *Anim. Feed Sci. Technol.* 151:32–43.
- Muyzer, G. 1999. DGGE/TGGE. A method for identifying genes from natural ecosystems. *Curr. Opin. Microbiol.* 2:317–322.
- Nakamura, F., Kurihara, Y. 1978. Maintenance of a certain rumen protozoal population in a continuous *in vitro* fermentation system. *Appl. Environ. Microbiol.* 35:500–506.
- Norman, H.C., Revell, D.K., Mayberry, D.E., Rintoul, A.J., Wilmot, M.G., Masters, D.G. 2010. Comparison of *in vivo* organic matter digestion of native Australian shrubs by sheep to *in vitro* and in sacco predictions. *Small Rumin. Res.* 1:69–80.
- Omed, H.M., Faza, A., Axford, R.F.E., Dewi, I. Ap., Givens, D.I. 1998. A low tech *in vitro* procedure using faecal liquor for the estimation of digestibility of forages, *Proc. Br. Soc. Anim. Sci.*, n. 59.
- Opatpatanakit, Y., Kellawya, R., Clean, I.J., Annison, G., Kirby, A. 1994. Microbial fermentation of cereal grains *in vitro*. *Austr. J. Agric. Res.* 45:1247–1263.
- Ørskov, E.R., Ryle, M. 1990. Energy nutrition in ruminants. Elsevier Applied Sci., Londres y Nueva York.
- Patra, A.K., Kamra, D.N., Agarwal, N. 2010. Effects of extracts of spices on rumen methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feeds *in vitro*. *J. Sci. Food Agric.* 90:511–520.
- Patra, A.K., Kamra, D.N., Bhar, R., Kumar, R., Agarwal, N. 2011. Effect of *Terminalia chebula* and *Allium sativum* on *in vivo* methane emission by sheep. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 95:187–191.
- Payne, J.S., Hamersley, A.R., Milligan, J.C., Huntington, J.A. 2002. The effect of rumen fluid collection time on its fermentative capacity and the stability of rumen conditions in sheep fed a constant diet. *Proc. Br. Soc. Anim. Sci.*, n. 165.
- Pearson, R.M., Smith J.A.B. 1943. The utilization of urea in the bovine rumen. III. Synthesis and breakdown of protein in rumen ingesta. *Biochem. J.* 37:153–164.

- Pell, A.N., Schofield, P. 1993. Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. J. Dairy Sci. 76: 1063–1073.
- Pell, A.N., Pitt, R.E., Doane, P.H., Schofield, P. 1998. The development, use and application of the gas production technique at Cornell University, USA. In: *In vitro* techniques for measuring nutrient supply to ruminants. British Society of Animal Science. Occasional Publication 22. British Society of Animal Science, Edimburgo, Reino Unido.
- Pell, A.N., Woolston, T.K., Nelson, K.E., Schofield, P. 2000. Tannins: biological activity and bacterial tolerance. In: Tannins in Livestock and Human Nutrition. Brooker, J.D. (Ed.). ACIAR, Adelaide, Australia.
- Pelve, M.E., Olsson, I., Spörndly, E., Eriksson, T. 2012. *In vivo* and *in vitro* digestibility, nitrogen balance and methane production in non-lactating cows and heifers fed forage harvested from heterogeneous semi-natural pastures. Livest. Sci. 1–2:48–56.
- Pfaffl, M.W. 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nuclei Acids Res. 9:e15–e45.
- Piao, H., Lachman, M., Malfatti, S., Sczyrba, A., Knierim, B., Auer, M., Tringe, S.G., Mackie, R.I., Yeoman, C.J., Hess, M. 2014. Temporal dynamics of fibrolytic and methanogenic rumen microorganisms during *in situ* incubation of switchgrass determined by 16S rRNA gene profiling. Front. Microbiol. 5:307.
- Prates, A., de Oliveira, J.A., Abecia, L., Fondevila, M. 2010. Effects of preservation procedures of rumen inoculum on *in vitro* microbial diversity and fermentation. Anim. Feed Sci. Technol. 155: 186–193.
- Prevot, S., Senaud, J., Boathier, J., Prensier, G. 1994. Variation in the composition of the ruminal bacterial microflora during the adaptation phase in an artificial fermenter (RUSITEC). Zool. Sci. 11: 871–878.
- Qiu, X., Eastridge, M.L., Griswold, K.E., Firkins, J.L. 2004. Effects of substrate, passage rate, and pH in continuous culture on flows of

- conjugated linoleic acid and trans C18:1. *J. Dairy Sci.* 87:3473–3479.
- Quin, J.I. 1943. Studies on the alimentary tract of Merino sheep in South Africa VII. Fermentation in the forestomachs of sheep. *Onderstepoort. J. Vet. Sci.* 18:91.
 - Ramos, S., Tejido, M.L., Ranilla, M.J., Martínez, M.E., Saro, C., Carro, M.D. 2009. Influence of detachment procedure and diet on recovery of solid-associated bacteria from sheep ruminal digesta and representativeness of bacterial isolates as assessed by automated ribosomal intergenic spacer analysis–polymerase chain reaction. *J. Dairy Sci.* 11:5659–5668.
 - Ranilla, M.J., López, S., Giráldez, F.J., Valdés, C., Carro, M.D. 1998. Comparative digestibility and digesta flow kinetics in two breeds of sheep. *Anim. Sci.* 66:389–396.
 - Ranilla, M.J., Carro, M.D. 2003. Diet and procedures used to detach particle-associated microbes from ruminal digesta influence chemical composition of microbes and estimation of microbial growth in RUSITEC fermenters. *J. Anim. Sci.* 2:537–544.
 - Ranjard, L., Poly, F., Lata, J., Mougél, C., Thioulouse, J., Nazaret, S. 2001. Characterization of Bacterial and Fungal Soil Communities by Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis Fingerprints: Biological and Methodological Variability. *Appl. Environ. Microbiol.* 10:4479–4487.
 - Raskin, L., Capman, W.C., Sharp, R., Poulson, L.K., Stahl, D.A. 1997. Molecular ecology of gastrointestinal systems, en: *Gastrointestinal microbiology*. Mackie, R. I., B. A. White, R. Isaacson, ed. Chapman and Hall, Nueva York, EEUU.
 - Richards, C.J., Pedersen, J.F., Britton, R.A., Stock, R.A., Krehbiel, C.R. 1995. *In vitro* starch disappearance procedure modifications. *Anim. Feed Sci. Technol.* 55:35–45.
 - Robinson, P.H., Campbell–Mathews, M., Fadel, J.G. 1999. Influence of storage time and temperature on *in vitro* digestion of neutral detergent fibre at 48 h, and comparison to 48 h in sacco neutral detergent fibre digestion. *Anim. Feed Sci. Technol.* 80:257–266.
 - Romero–Perez, A., Okine, E.K., McGinn, S.M., Guan, L.L., Oba, M., Duval, S.M., Kindermann, M., Beauchemin, K.A. 2014. The

- potential of 3 nitrooxypropanol to lower enteric methane emissions from beef cattle. *J. Anim. Sci.* 92:4682–93.
- Russell, J.B., Wilson, D.B. 1996. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? *J. Dairy Sci.* 79:1503–9.
 - Rymer, C., Huntington, J.A., Givens, D.I. 1999. Effects of inoculum preparation method and concentration, method of inoculation and pre-soaking the substrate on the gas production profile of high temperature dried grass. *Anim. Feed Sci. Technol.* 78:199–213.
 - Rymer, C., Givens, D.I. 2002. Relationships between patterns of rumen fermentation measured in sheep and *in situ* degradability and the *in vitro* gas production profile of the diet. *Anim. Feed Sci. Technol.* 101:31–44.
 - Rymer, C., Huntington, J.A., Williams, B.A., Givens, D.I. 2005. *In vitro* cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. *Anim. Feed Sci. Technol.* 0:9–30.
 - Sadet, S., Martin, C., Meunier, B., Morgavi, D.P. 2007. PCR–DGGE analysis reveals a distinct diversity in the bacterial population attached to the rumen epithelium. *Animal*, 1:939–944.
 - Sampath, K.T., Wood, C.D., Prasad, C.S. 1995. Effect of urea and by products on the *in-vitro* fermentation of untreated and urea treated finger millet (*Eleusine coracana*) straw. *J. Sci. Food Agric.* 3:323–328.
 - Saro, C., Ranilla, M.J., Carro, M.D. 2012. Postprandial changes of fiber-degrading microbes in the rumen of sheep fed diets varying in type of forage as monitored by real-time PCR and automated ribosomal intergenic spacer analysis. *J. Anim. Sci.* 12:4487–4494.
 - Saro, C., Ranilla, M.J., Cifuentes, A., Rossello–Mora, R., Carro, M.D. 2014a. Technical note: Comparison of automated ribosomal intergenic spacer analysis and denaturing gradient gel electrophoresis to assess bacterial diversity in the rumen of sheep. *J. Anim. Sci.* 92:1083–1088.
 - Saro, C., Ranilla, M.J., Tejido, M.L., Carro, M.D. 2014b. Influence of forage type in the diet of sheep on rumen microbiota and fermentation characteristics. *Livest. Sci.* 160:52–59.

- Schadt, I., Hoover, W.H., Miller–Webster, T.K., Thayne, W.V., Licitra, G. 1999. Degradation of two protein sources at three solids retention times in continuous culture. *J. Anim. Sci.* 77:485–491.
- Schofield, P. 2000. Gas production methods. In: *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. CAB International, Wallingford, Oxford, Reino Unido.
- Senshu, T., Nakamura, K., Sawa, A., Miura, H., Matsumoto, T. 1980. Inoculum for *In Vitro* Rumen Fermentation and Composition of Volatile Fatty Acids. *J. Dairy Sci.* 63:305–312.
- Shannon, C.E., Weaver, W. 1949. *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press. Urbana, Illinois, EEUU.
- Shriver, B.J., Hoover, W.H., Sargent, J.P., Crawford, R.J.Jr., Thayne, W.V. 1986. Fermentation of a high concentrate diet as affected by ruminal pH and digesta flow. *J. Dairy Sci.* 69:413–419.
- Slyter, L.L., Nelson, W.O., Wolin, M.J. 1964. Modifications of a Device for Maintenance of the Rumen Microbial Population in Continuous Culture. *Appl. Microbiol.* 4:374–377.
- Slyter, L.L., Putnam, P.A. 1967. *In vivo* vs. *in vitro* continuous culture of ruminal microbial populations. *J. Anim. Sci.* 26:1421–1427.
- Smith, C.J., Osborn, A.M. 2009. Advantages and limitations of quantitative PCR (QPCR) based approaches in microbial ecology. *FEMS Microbiol. Ecol.* 67:6–20.
- Soliva, C.R., Amelchanka, S.L., Duval, S.M., Kreuzer, M. 2011. Ruminant methane inhibition potential of various pure compounds in comparison with garlic oil as determined with a rumen simulation technique (RUSITEC). *Br. J. Nutr.* 106:114–122.
- Soto, E.C., Yáñez–Ruiz, D.R., Cantalapiedra–Hijar, G., Vivas, A., Molina–Alcaide, E. 2012. Changes in ruminal microbiota due to rumen content processing and incubation in single–flow continuous–culture fermenters. *Anim. Prod. Sci.* 52:813–822.
- Soto, E.C., Molina–Alcaide, E., Khelil, H., Yáñez–Ruiz, D.R. 2013. Ruminant microbiota developing in different *in vitro* simulation systems inoculated with goats’ rumen liquor. *Anim. Feed Sci. Technol.* 185:9–18.

- Spiegelman, D., Whissell, G., Greer, C.W. 2005. A survey of the methods for the characterization of microbial consortia and communities. *Can. J. Microbiol.* 51:355–386.
- Staerfl, S.M., Kreuzer, M., Soliva, C.R. 2010. *In vitro* screening of unconventional feeds and various natural supplements for their ruminal methane mitigation potential when included in a maize–silage based diet. *J. Anim. Feed Sci.* 19.
- Staerfl, S.M., Zeitz, J.O., Kreuzer, M., Soliva, C.R. 2012. Methane conversion rate of bulls fattened on grass or maize silage as compared with the IPCC default values, and the long–term methane mitigation efficiency of adding acacia tannin, garlic, maca and lupine. *Agric. Ecosyst. Environ.* 148:111–120.
- Stalker, L.A., Lorenz, B.G., Ahern, N.A., Klopfenstein, T.J. 2013. Inclusion of forage standards with known *in vivo* digestibility in *in vitro* procedures. *Livest. Sci.* 2–3:198–202.
- Steingass, H., Menke, K. 1986. Schätzung des energetischen Futterwertes aus der *in vitro* mit Pansensaft bestimmten Gasbildung und der chemischen Analyse. 1. Untersuchungen zur Methode. *Tierernährung*, 14:251–270.
- Stern, M.D., Hoover, W.H. 1979. Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: a review. *J. Anim. Sci.* 49:1590–1603.
- Stern, M.D., Bach, A., Calsamiglia, S. 2006. New concepts in protein nutrition of ruminants. In: Proc. 21st Annual Southwest Nutrition and Management Conf., Tempe, AZ. Universidad de Arizona, AZ, EEUU.
- Stevenson, A., Buchanan, C.J., Abia, R., Eastwood, M.A. 1997. A simple *in vitro* fermentation system for polysaccharides: the effects of fermenter fluid surface area/fluid volume ratio and amount of substrate. *J. Sci. Food Agric.* 73:101–105.
- Strobel, E., Seeling, K., Tebbe, C.C. 2008. Diversity responses of rumen microbial communities to *Fusarium*–contaminated feed, evaluated with rumen simulating technology. *Environ. Microbiol.* 2:483–496.

- Sylvester, J., Karnati, S., Yu, Z., Morrison, M., Firkins, J. 2004. Development of an assay to quantify rumen ciliate protozoal biomass in cows using real-time PCR. *J. Nutr.* 12:3378-3384.
- Tafaj, M., Zebeli, Q., Junck, B., Steingass, H., Drochner, W. 2005. Effects of particle size of a total mixed ration on *in vivo* ruminal fermentation patterns and inocula characteristics used for *in vitro* gas production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 139–154.
- Tagliapietra, F., Cattani, M., Guadagnin, M., Haddi, M.L., Sulas, L., Muresu, R., Squartini, A., Schiavon, S., Bailoni, L. 2014. Associative effects of poor-quality forages combined with food industry byproducts determined *in vitro* with an automated gas-production system. *Anim. prod. sci.*
- Tahir, M.N., Hetta, M., Larsen, M., Lund, P., Huhtanen, P. 2013. *In vitro* estimations of the rate and extent of ruminal digestion of starch-rich feed fractions compared to *in vivo* data. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1–4:36–45.
- Tappeiner, G. 1882. Vergleichende untersuchung der darmgase. *Zeitschrift für Physiologische Chemie.* 6:432–479.
- Taylor, K.C.C. 1996. A simple colorimetric assay for muramic acid and lactic acid. *Appl biochem biotech.* 1:49–58.
- Teather, R.M., Sauer, F.D. 1988. A naturally compartmented rumen simulation system for the continuous culture of rumen bacteria and protozoa. *J. Dairy Sci.* 71:666–673.
- Tejido, M.L., Ranilla, M.J., Garcia-Martínez, R., Carro, M.D. 2005. *In vitro* microbial growth and rumen fermentation of different substrates as affected by the addition of disodium malate. *Anim. Sci.* 81:31–38.
- Tekippe, J.A., Hristov, A.N., Heyler, K.S., Zheljzkov, V.D., Ferreira, J.F.S., Cantrell, C.L., Varga, G.A. 2012. Effects of plants and essential oils on ruminal *in vitro* batch culture methane production and fermentation. *Canadian J. Anim. Sci.* 3:395–408.
- Thauer, R.K., Kaster, A.K., Seedorf, H., Buckel, W., Hedderich, R. 2008. Methanogenic archaea: ecologically relevant differences in energy conservation. *Nat. Rev. Microbiol.* 6:579–91.

- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., Meallan, A.B., France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Sci. Technol.* 48:185–197.
- Tholen, A., Pester, M., Brune, A. 2007. Simultaneous methanogenesis and oxygen reduction by *Methanobrevibacter cuticularis* at low oxygen fluxes. *FEMS Microbiol. Ecol.* 62:303–12.
- Trei, J.E., Singh, Y.K., Scott, G.C. 1970. Effect of methane inhibitors on rumen metabolism. *J. Anim. Sci.* 31: 256. Van Soest, P. J., 1994. *Nutritional ecology of the ruminant* / Peter J. Van Soest. Ithaca: Comstock Pub.
- Van Kessel, J.A.S., Russell, J.B. 1996. The effect of pH on ruminal methanogenesis. *FEMS Microbiol. Ecol.* 20:205–210.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 10:3583–3597.
- Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. Cornell University Press, Ithaca, Nueva York, EEUU.
- Van Zijderveld, S.M., Dijkstra, J., Perdok, H.B., Newbold, J.R., Gerrits, W.J.J. 2011. Dietary inclusion of diallyl disulfide, yucca powder, calcium fumarate, an extruded linseed product, or medium-chain fatty acids does not affect methane production in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94:3094–3104.
- Von Wintzingerode, F., Göbel, U.B., Stackebrandt, E. 1997. Determination of microbial diversity in environmental samples: pitfalls of PCR-based rRNA analysis. *FEMS Microbiol. Rev.* 21:213–229.
- Warner, A.C.I. 1956. Criteria for establishing the validity of *in vitro* studies with rumen micro-organisms in so-called artificial rumen systems. *J. Gen. Microbiol.* 14:733–748.
- Warner, A.C.I. 1966a. Diurnal changes in the concentrations of micro-organisms in the rumens of sheep fed limited diets once daily. *J. Gen. Microbiol.* 45:213–235.
- Warner, A.C.I. 1966b. Periodic changes in the concentrations of microorganisms in the rumen of sheep fed limited diets every three hours. *J. Gen. Microbiol.* 45:237–242.

- Weatherburn, M.W. 1967. Phenol–hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chem.* 8:971–974.
- Wegner, M.I., Booth, A.N., Bohstedt, G., Hart, E.B. 1940. The *in vitro* conversion of inorganic nitrogen to protein by microorganisms from cow's rumen. *J. Dairy Sci.* 23:1123–1129.
- Weller, R., Pilgrim, A.F. 1974. Passage of protozoa and volatile fatty acids from the rumen of the sheep and from a continuous *in vitro* fermentation system. *Br. J. Nutr.* 32:341–351.
- Wilkins, J.R. 1974. Pressure transducer method for measuring gas production by microorganisms. *Appl. Microbiol.* 27:135–140.
- Williams, B.A. 2000. Cumulative gas–production techniques for forage evaluation. In: *Forage evaluation in ruminant nutrition*. Givens, D. I., Owen, E., Axford, R. F. E., Omed, H. M. (Eds.). CAB International, Wallingford, Oxford, Reino Unido.
- Williams, B.A., Tamminga, S., Verstegen, M.W.A. 2000. Fermentation kinetics to assess microbial activity of gastro–intestinal microflora. In: *Proceedings of an EAAP Satellite Symposium. Gas Production: Fermentation Kinetics for Feed Evaluation and to Assess Microbial Activity*. British Society of Animal Science.
- Wittwer, C.T., Herrmann, M.G., Moss A.A., Rasmussen, R.P. 1997. Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification. *BioTechniques*, 22:130–138.
- Wolin, M.J. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *J. Dairy Sci.* 43:1452–1459.
- Wood, T.M., Bhat, K.M. 1988. Methods for measuring cellulose activities. *Methods Enzymol.* 160:87–112.
- Woodman, H.E., Evans, R.E. 1938. The mechanism of cellulose digestion in the ruminant organism. IV. Further observations from *in vitro* studies of the behavior of rumen bacteria and their bearing on the problem of the nutritive value of cellulose. *J. Agr. Sci.* 28: 43–63.
- Yang, W.Z., Ametaj, B.N., Benchaar, C., Beauchemin, K.A. 2010. Dose response to cinnamaldehyde supplementation in growing beef heifers: Ruminal and intestinal digestion. *J. Anim. Sci.* 88:680–688.
- Yáñez–Ruiz, D.R., Bannink, A., Dijkstra, J., Kebreab, E., Morgavi, D.P., ÓKiely, P., Reynolds, C.K., Schwarm, A., Shingfield, K.J.,

- Yu, Z., Hristov, A.N. 2016. Design, implementation and interpretation of *in vitro* batch culture experiments to assess enteric methane mitigation in ruminants – a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 216: 1–18.
- Yu, Z., Morrison, M. 2004. Improved extraction of PCR-quality community DNA from digesta and fecal samples. *BioTechniques*, 5:808–812.
 - Ziemer, C.J., Sharp, R., Stern, M.D., Cotta, M.A., Whitehead, T.R., Stahl, D.A. 2000. Comparison of microbial populations in model and natural rumens using 16S ribosomal RNA-targeted probes. *Environ. Microbiol.* 2:632–643.

GANADORES PREMIOS RACVE 2016

II PREMIO CÁRNICAS TELLO

LAS CARNES Y PRODUCTOS DEL CERDO BLANCO: EXCELENCIA GASTRONÓMICA

D. GONZALO ALFONSO SOL DE LIAÑO

INTRODUCCIÓN

Realmente no parece necesario exaltar hoy las importantes excelencias sensoriales -gastronómicas- del Cerdo Blanco, pues están claramente afirmadas ante el hecho de que sus carnes son hoy con creces la más pretendida por el mundo entero, como demuestra el hecho de que, según la FAO, en 2014 se consumieron 120 millones toneladas producidas por 18 países de Europa, EEUU y Asia. Pero las confirma quizá más aún el hecho de que las carnes del *Sus Scrofa Domesticus* son las carnes más consumidas por el ser humano -por cierto con las de gallináceas- desde hace quizá más de 15.000 años, cuando aún estábamos en la etapa del *Homo Sapiens*.

Por tanto, no me parece solidario con el Cerdo Blanco exaltar ahora sólo sus excelencias gastronómicas, y no lo sería tampoco, ni con él ni con nuestro pasado, olvidar ahora las preferencias manifestadas por el ser humano desde esos miles de años. Intentaré por tanto señalar los porqués de las preferencias surgidas en aquellos primerísimos inicios, así como su paulatina evolución; pienso que ello puede explicar algo que generalmente no es considerado pese a su enorme y significativa trascendencia: el cerdo -y, como veremos, no sólo sus car-

nes- facilitó la última etapa de nuestra larga e interesante evolución, desde el *Homo Sapiens Sapiens*, o sea el *Neanderthalis*.

LAS CARNES Y PRODUCTOS DEL CERDO BLANCO: EXCELENCIA GASTRONÓMICA

Buena parte de las sensaciones que percibimos mediante los sentidos, pueden a veces resultar modificadas más o menos conscientemente, porque el camino sensorial emprendido es subconscientemente invadido por determinadas interferencias de otras sensaciones, algunas a veces incluso lejanos recuerdos, cuya huella penetra de alguna manera en el proceso sensorial, mezclándose entre aquellas que en determinado momento estamos buscando o recibiendo. En el área gastronómica tal suele ocurrir, por ejemplo, ante un plato que cuando niños disfrutábamos en la mesa familiar con singular placer (el universal concepto llamado de “*la Cocina de la abuela*”), o también cuando en el proceso sensorial pretendido en la mesa, súbitamente se nos introducen preguntas o circunstancias remotas, como, por ejemplo, acerca de lo que nuestros más viejos ancestros podían sentir y experimentar durante su proceso alimentario, e incluso la formas con las que lo realizaban. Tal me ha ocurrido a mí a veces, por ejemplo cuando catando vinos en las bellas y oportunas copas actuales, me asalta la imagen del *Homo Erectus* “abrevando” en la orilla de un río, lo que me lleva a recordar que, mediando el S.XX, cierta revista expuso que un pequeño grupo de australianos aborígenes del mismísimo corazón de su inmensa isla, aún no habían descubierto la posibilidad de acercarse el agua de río sacándola con sus dos manos a modo de vasija.

Tan peculiar invasión me está afectando precisamente ahora, empezando estas líneas acerca del cerdo, pues me viene a la mente - intento descubrir- los lentos pasos de aquella larga y trascendente domesticación de este útil animal, probablemente iniciada por el Cromañón entre los 15.000 y 10.000 años aC. La domesticación animal constituye a mí entender uno de los pasos más decisivos hacia nuestra hominización, en cierto modo quizá más fecundo que la propia agricultura. Empezó con el perro, nuestro más antiguo socio animal, lo que parece haber ocurrido poco antes de aquellas fechas, y fue fundamental para lograr los precarios pastoreos de aquellos inicios.

Acabando la última glaciación, la Tierra se fue cuajando de amables circunstancias climáticas que fomentaron -casi definieron-, los caminos definitivos hacia el *Homo Sapiens Sapiens* que fueron nuestros padres y nuestros abuelos antes de llegar al *Homo Informáticus* que son

hoy nuestros hijos; caminos esos entre los que destaca sin duda la búsqueda de sistemas que pudieran evitaran el enorme y peligroso esfuerzo de la caza. Fue durante aquel pastoreo cuando comenzamos a “domesticar” a varios animales, entre los cuales el *Muflón* salvaje, que convertimos en *Oveja*, y el *Sus Scrofa* -Jabalí-, que logramos transformar en el *Sus Scrofa Domesticus*, es decir en el *Cerdo*, que nos facilitó alimentación en forma trascendental.

Tras estas primeras líneas, se puede llegar a confirmar que el cerdo fue de alguna manera un elemento fundamental en nuestro viaje hacia en *Homo Sapiens Sapiens*, lo cual, si aceptado fuera por el lector, puede permitir deducir que el Cerdo nos -me- interesa hoy por razones que histórica y socialmente tienen superior trascendencia que las excelencias meramente gastronómicas que hoy ofrece y conocemos, gracias a las cuales, por cierto, ha conseguido otro avance notable: en este S.XXI el cerdo es causa de la más importante industria alimentaria del planeta, pues Europa, América y Asia proporcionan unas 250.000 Kt. de tan sabroso animal; además, según la FAO, la producción mundial de carnes, especialmente impulsada por la de cerdo y de aves de corral, desde hace años viene teniendo incrementos del orden del 1,75%,... semejante, por cierto, al crecimiento poblacional de la Tierra, cuya demanda pudo así atender.

Como he venido sugiriendo, tal empezó cuando logramos llevar el Cerdo al corral. La palabra “*domesticar*” deriva de la voz latina “*domus*” (casa), y expresa el gran éxito del *Sapiens Sapiens*, al rematar el largo proceso que probablemente pudo haber empezado atrayendo a ciertos animales hacia su entorno inmediato, probablemente facilitándoles de vez en vez algún alimento que les provocara merodear su *domus*. Tal situación facilitó su captura, consiguiendo disminuir así el enorme esfuerzo que la caza había venido suponiendo durante más de 15.000 siglos (no años:... siglos),... es decir, desde cuando el “*Homo*” era simplemente “*Habilis*”. En efecto, la caza supuso realmente un enorme, peligroso y permanente esfuerzo, que fue decididamente eficiente en nuestra evolución, ya que tan largo recorrido fue proporcionando grandes frutos sin duda inesperados, como consecuencia de que para lograr el derribo de animales aquellos *Habilis*,... “enseguida” ya *Erectus*, supieron agruparse, camuflarse y organizarse mejor siglo a siglo, intentando que sus cacerías fueran cada vez más eficaces gracias, tanto al paulatino mejoramiento de su anatomía y del grupo, como a sucesivas nuevas herramientas que supieron ir consiguiendo para disminuir el

esfuerzo: con un dedo pulgar prensil cada vez mejor utilizado, lograron tallar maderas, incluso piedras luego, no sólo gracias a otras evoluciones de su cuerpo, cada vez más eficiente, sino muy especialmente, gracias al paulatino desarrollo físico y funcional de su cerebro, que fue determinando claramente su aproximación al *Erectus Pitecantropus*, (hace entre 1.000.000 y 700.000 años), como consecuencia, precisamente, de una mejor dieta habitual con más proteínas,... pues se sabe que ya comían el tuétano de sus presas así como más grasas, lo que facilitó que su aparato digestivo fuera teniendo menor consumo calórico, en beneficio de un mayor desarrollo de su cerebro.

En efecto, aquel cerebro, ya con unos 800 ó 1.000 cm³, condujo a una más eficiente relación entre los miembros del grupo, pues facilitó una comunicación mediante sonidos cada vez más expresivos por ser menos guturales,... síntomas ya de una evidente aproximación tanto al *Homo Antecesor* (el de Atapuerca, con un aparato fonador bastante avanzado ya), como luego al *Homo Sapiens Neanderthalis*, de hace “sólo” 80 ó 100.000 años, cuya mayor capacidad craneana, del orden 1.500 cm³, probablemente le facilitó un lenguaje prácticamente ya articulado.

Llegamos así al *Homo Sapiens Cromañón* que hace 30 ó 40.000 años sobrevivió al último periodo glacial y que, ya terminado éste, dio comienzo a una definitiva domesticación del animal que nos atañe, pues alcanzó al *Sus Scrofa* -jabalí- logrando transformarlo en cerdo -*Sus Scrofa Domesticus*-, por lo que, ya cerca de la sedentarización, enseguida construyó un “corral” anexo al “domus”, mejorando notablemente, no solo la alimentación sino, enseguida, la organización del grupo, en forma que pronto alcanzaría al primer órgano social que el ser humano estuvo ya en circunstancias de poder crear, la familia, con la que su largo camino inició una nueva etapa cuajada de trascendencias.

Un muy largo camino, en fin, hasta alcanzar aquella sociedad ya con cuerpo y mente realmente eficaces que cambiaron nuestra vida hasta el punto de encontrarnos con un “tiempo libre” que el cerebro pudo utilizar para “pensar” en cosas ajenas a la mera lucha por la subsistencia, aprovechando e incrementando notablemente las capacidades de *anticipación, imaginación y memoria* que ya tuvo el *Homo Erectus*,... con clara diferencia respecto a sus ancestros, según explica el *Profesor Felipe Fernández-Armesto* en una de sus últimas obras: “*Un pie en el río*”.

Hablando de ríos: en los diferentes destinos que el *Homo Erectus* fue buscando desde su origen africano, ese trascendente encuentro con la posibilidad de pensar pudo haber ocurrido en el Asia próxima, y fue causa de la creación de ideas que enseguida condujeron a lo que podríamos llamar religiones primitivas, y luego inicios de la filosofía. Tal ocurrió especialmente por Mesopotamia, fértil comarca bañada por el Eúfrates y el Tigris, por lo que ha sido señalada como área de neolitización. De tal manera, la ganadería prosperó allá más eficientemente, por lo que parece que los animales citados fueron domesticados más hábilmente y mejor, y donde el cultivo de ciertas plantas representó claros inicios de una agricultura productiva.

Según *Isaac Asimov* señala en su “*Cronología del Mundo*” fue allá, en Mesopotamia, donde el hecho de poder pensar permitió crear entre otras cosas la alfarería,... cuya superficie redonda permitió inventar la rueda, y donde fue utilizada la primera vela, que luego ayudó a extender su cultura por el Mediterráneo todo, incluida su sabrosa cocina, que nos ha llegado en una receta de pajaritos... -quizás elaborada igualmente con pollo- escrita en unas tablas babilónicas que, con unos 3.800 años de antigüedad, conserva la Universidad de Yale.

Por entonces eran ya más habituales los animales del corral, afirmando así la convivencia de las tres especies fundamentales: una para vigilancia, colaboración y amistad, el perro, y otras dos para su alimentación sobre todo: el cerdo protagonista de estas líneas, y los *Gallus allus Domesticus*, o sea, gallinas y pollos,... dos animales que ciertos antecesores de los sumerios enseñaron a convivir sin sospechar que 8 ó 10.000 años más tarde, sus viandas seguirían siendo preferidas,... tanto por sus caracteres sensoriales, como por su muy generosa y sencilla reproducción.

Y es que, ya con *domus* y *corral* más perfeccionados, fue probablemente entonces cuando aquellas gentes lograron dominar realmente el fuego, que antes tuvo usos sólo circunstanciales para toscos asados, que sin duda empezaron a mejorar,... probablemente con aquellos cochinitillos que decidían no perder un tiempo en criar. Dieron así claro inicio a una etapa de preparación alimentaria que nos acercó definitivamente al *Homo Sapiens Sapiens*, según explica nuestro gran biólogo *Faustino Cordón* en su libro “*Cocinar hizo al hombre*”; la cocina, opina él, condujo a un vocabulario más explícito y a una mayor habilidad manual. La cocina en y para la familia, permitió alcanzar además, lo que al parecer de muchos antropólogos fue el primer acto de solidaridad

continúa entre los humanos, “*La Mesa*”, que fue -y es- lugar y gesto donde mejoran las relaciones entre sus miembros, facilitando tanto su unión como la expresión e intercambio de ideas,...es decir, la culturización inicial de los menores, mientras compartían amable y amigablemente los alimentos que el corral les proporcionaba para olvidar aquellas épocas de alimentos logrados y compartidos en forma salvaje e individualista. Una “*Mesa Familiar*” de muy larga duración histórica, cuya merma finalizando el S.XX quizá sea una de las causas de no pocos de los problemas sociales que hoy nos atañen.

Algunos miles de años más tarde, aquellos viejos corrales pasaron a ser corrales más organizados y generosos, cuyas modificaciones finales hemos podido ver muchos de nosotros por toda la Europa rural, hasta los balbuceos de su desaparición mediado el S.XX; tal no fue por causa de una menor demanda de sus productos, sino precisamente por lo contrario: por la aparición de una industria cárnica que, creciendo en volumen, en sanidad y técnicas, ha podido ir atendiendo en cantidad y calidad, tanto el creciente incremento poblacional como la exigente demanda de sus carnes.

Durante el casi medio siglo que llevo observando el amplio hecho gastronómico desde sus orígenes antropológicos hasta las cocinas de hoy, siempre sospeché que, muy especialmente en España, el Cerdo Blanco, más o menos desde la mitad del S.XX, y quizás como consecuencia de la invasión de la Peste Porcina Africana, es a veces objeto de un injustificado menosprecio que de manera errónea alcanza incluso a lo nutricional, diciendo por ejemplo que sus carnes tienen excesiva y perjudicial grasa,... atribuyéndole además erróneamente un carácter gastronómico escasamente ponderable.

Hay quien opina que si en España hay quienes ignoran la conveniencia nutricional del cerdo blanco, incluso alcanzando a veces algún menosprecio, quizá sea porque durante más de 700 años convivimos con las culturas musulmana y judía. En tal sentido, sin embargo, conviene recordar que en Al Andalus se cultivó el viñedo, se bebió vino y, acerca del vino, por cierto, en Al Andalus y sus Taifas, durante los Ss. X al XIII fue escrita la más hermosa poesía jamás dedicada al vino ni siquiera en la Europa vitivinícola, que fue seleccionada y recogida por nuestro gran arabista *Emilio García Gomez* en su obra “*Poemas arabigondaluces*”.

Recordando lo dicho sobre el corral, no es gratuito que el nombre del cerdo sea *Sus Domesticus*,... lo cual hace recordar que, además

del amable corral, el cerdo creó por doquier una ancestral costumbre festiva,... más o menos generalizada por buena parte de Europa; me refiero a La Matanza, es decir,... esa gran fiesta popular que muestra y celebra las muchas virtudes del cerdo así como sus placeres gastronómicos y sociales... presentes y futuros, origen de las conocidas frases “*Del cerdo gustan hasta sus andares*”, y “*Del cerdo, lo único que puede disgustar son a veces sus gruñidos*”. Pero es que además, ese cerdo doméstico es simpático gregario, pues a partir de los treinta ó treinta y pico días de edad juega haciéndose carantoñas con sus hermanos pues, listos como son, están ya tranquilos al saber, que pasadas esas primeras semanas de vida, ya no serán llevados al horno.

Como consecuencia de todo lo anterior, siempre me han parecido muy significativamente destacables las “cuatro ESES” atribuibles al cerdo: Sano, Seguro, Sabroso y Sencillo; pero yo añadiría una ESE más, pues siempre fue Social, ya que puede aceptar y atender el nombre que le sea asignado, como demostró George Clooney a los no animalistas, pues en su casa alternaba con su simpático cerdo: “Max”.

Respecto al consumo y prestigio del cerdo por toda Europa, me parece oportuno -curioso- recordar que cuando la Guerra de los Ducados entre el Imperio austriaco y Prusia contra Dinamarca a mediados de XIX, los daneses tuvieron que soportar la prohibición de su amada bandera, pero hallaron una orgullosa solución criando y exhibiendo cerdos de color rosado, que pintaron con una cruz blanca, es decir, repitiendo los colores de su bandera.

Además de haber venido proporcionando una importante nutrición, el cerdo viene siendo desde siempre un orgullo ganadero, y nos viene ofreciendo auténticas excelencias, como puede significar el hecho de que en el auge del Renacimiento, uno de cuyos grandes personajes, Leonardo de Vinci, cocinaba en el S.XV un sabroso *Rabo de Cerdo con Polenta* y unas *Orejas de Cerdo* que gustaron tanto a la clientela de su restaurante “*Las Tres Ranas*”, que abrió en sociedad con *Bottizelli*, como gustó igualmente a Leonardo Sforza, su mecenas. El cerdo era tan importante en la Italia del XVI, que el Cardenal Alejandro Farnesio, nieto del Papa Pablo III -gran sibarita que incluso tuvo sumiller-, de quien el Cardenal heredó tales aficiones para sus banquetes, tuvo como ayudante a Vincenzo Cervio, quien en el capítulo 31 de su libro “*Il Trinciante*” (1581), explica largamente “*Como se corta el cigoto*”, es decir, la pata trasera del cerdo, aún no llamada jamón. Ya más cerca, *Grimod de la Reynière*, rico escritor culinario muy glotón que a comienzos de XIX creó la sociedad llamada “*El Almanaque de los golosos*”, falleció

como consecuencia de un brutal exceso de foiegras que devoró en una cena; del cerdo dijo: “*Es el animal con el imperio más universal y con cualidades menos contestadas*”. En la actualidad es de citar alguna receta de Paul Bocuse en su obra “*La Cocina de Mercado*” (*Chuletas de Cerdo a la Provenzal*); Pedro Subijana tiene una exquisita receta de “*Secreto con zumo de pimiento rojo al vacío*”, y hace además unas deliciosas patatas soufflés... ¡con forma de cerdo!. Todo, naturalmente, sin olvidar ... -y con interés de rescatar-, nuestras sabrosas cocinas populares de toda España, de las que recuerdo muy especialmente su *Lomo de Cerdo mechado con higos secos y almendras* que me hacía mi abuela catalana.

En cuanto a los aspectos nutricionales que nos proporciona el cerdo blanco en sus diferentes carnes y cortes, *VETERINDUSTRIA* (*Asociación Empresarial Española de la Industria de Sanidad y Nutrición Animal*), tiene por objeto buscar y mejorar la calidad nutricional de los alimentos que se le dan al cerdo para su sanidad animal, y con el fin de garantizar que sus productos alcancen los mejores niveles alimentarios que los consumidores necesitamos. Esta importante asociación está además asesorada por importantes centros de investigación alimentaria, así como mediante trabajos con Universidades, y siempre con el objeto de obtener conclusiones acerca de los valores nutritivos que el cerdo blanco ofrece. Pero es que además, lo mejor de nuestra industria porcina está desde hace años en la permanente localización de asesoramientos e inspecciones de nuevas tecnologías; de tal manera, en la misma suele estar presente el internacional *Lgai Technological Center*, especializado en inspecciones y asesoramientos tecnológicos, así como en controles de calidad; sin olvidar además *INTERPORC*, una importante organización interprofesional española de carácter privado y sin ánimo de lucro, reconocida por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, que estudia concretamente la agroalimentaria del cerdo de capa blanca, colaborando además tanto en su comercialización interna como en la exterior; colabora con *Veterindustria*, tanto en los procesos de sanidad y bienestar animal, como en la investigación nutricional humana, organizado trascendentes Congresos sobre estos temas y divulgando los últimos estudios de importantes nutriólogos; en lo que se refiere a estudios nutricionales, *SEDCA* (*Sociedad Española de Dietética y Ciencias de la Alimentación*), revalúa las propiedades nutricionales de la carne de cerdo, demostrando su importancia para una alimentación sana.

Gracias a la complejidad de los resultados científicos así pretendidos, parece haber quedado demostrado que, contra ciertas ideas con-

trarias, las grasas del cerdo blanco, es decir, lo más criticado de sus carnes, no suelen sobrepasar los 6 g. cada 100 -excepto en el caso de la panceta, naturalmente-, con porcentajes muy inferiores en piezas magras como el lomo, que en su promedio tienen menores grasas que, por ejemplo, carnes de ternera semigrasa. El cerdo blanco tiene además unos 18 ó 20 g. de proteínas por cada 100 g. de carne, así como más o menos carbohidratos según las partes, y ofrece además interesantes minerales como fósforo, potasio y zinc, y las vitaminas B1, B3, B6 y B12. Por otro lado, algo de gran importancia, por lo que actualmente muy tenido en cuenta para beneficio de sanidad animal, pero que redundará igualmente en beneficio de la alimentación que nos suministra: los cerdos blancos tienen hoy una muy superior calidad de vida, ya que su alimentación, su descanso, desarrollo, transporte y sacrificio, se llevan a cabo en las mejores condiciones jamás antes pensadas; respecto a su alimentación en concreto, resulta que cada vez es más frecuente facilitársela en tres fases, lo que parece estar dando lugar a carnes y despieces más magros, en comparación con los sistemas de dieta única o múltiple, antes tradicionales.

Tan notables actuaciones de los sectores ganadero y veterinario acerca del cerdo blanco, así como las calidades logradas por la importante industria porcina -la cría rural no ofrece mejores resultados y hoy es muy improbable-, revierten también muy positivamente en nuestra economía nacional pues este sector representa nada menos que el 12,4% de la producción final agroalimentaria. Por lo tanto, además de satisfacer nuestro placer y nuestra salud, proporciona también importantes beneficios para nuestro mercado exterior, como indica su gran aceptación por todas artes, ya que somos el 3er país productor del mundo y, exportando ya a 130 países, ocupamos el 4º puesto internacional... ¿Un probable futuro?: parece que será muy positivo, teniendo en cuenta además el notable incremento -record- de las exportaciones habidas durante los primeros nueve meses de éste 2016.

En fin, contra lo que muchos suelen pensar, resulta que el cerdo blanco es una fuente de magníficos nutrientes, hasta el punto de que la *OMS (Organización Mundial de la Salud)* considera que la carne de cerdo, dado su bajo contenido en grasa, es nutricionalmente comparable a una carne blanca, y que no es ajena a la Dieta Mediterránea, respecto a la cual quizás convenga recordar que ese famoso y saludable régimen alimentario fue reconocido y localizado por el epidemiólogo *Allbaugh* en la isla griega de Creta mediando el S.XX, cuando, todavía en la 2ª Gran Guerra, comparó la salud poblacional de EEUU,... especialmente

la de sus soldados que, fornidos, manifestaban sin embargo una peor salud que los humildes jóvenes la de aquella isla. Pues bien: resulta que desde los años 3.000 ó 4.000 aC., en Creta se consumía aceite de oliva (el olivar no era muy anterior), así como varias verduras y pescados de roca, pero también carne de cerdo, animal que allí abundaba junto con ovejas y cabras. Resulta que en los años 1948-50, cuando los estudios de *Allbaugh*, los cretenses tenían dos platos muy tradicionales, frecuentes todavía hoy en pleno auge de su vieja y sana dieta cretense: el *Syglino* y el *Apaki*, basados ambos en buenas carnes de cerdo.

Sin indicios acerca de cuáles eran las partes del cerdo entonces diariamente elegidas en esa bella isla, y, naturalmente, con igual o más profunda ignorancia respecto a las del largo recorrido histórico por el que hemos paseado acompañados por este sabroso y simpático animal, y dado que hoy si son conocidas las preferencias del consumidor actual, con el fin de acercarnos ya al mercado, terminaré con la mención de varias de sus partes o cortes más importantes, varias de las cuales no fueron distinguidas, separadas ni cocinadas hasta hace relativamente poco; entre otras, la *carrillera* y la *pluma*.

Las piezas que “en crudo” son las más clásicas del cerdo parecen ser el *lomo* y el *solomillo* y, por otra parte, en un menor nivel, las *chuletas*, la *pluma*, la *presa*, la *aguja*, *raño*, *papada*, la *carrillera*, la *panceta*, la *cachola* -la cabeza-, el *codillo*, las *manitas*, etc., etc.; también el jamón y paletilla pero, como es sabido, no suelen ser comercializados crudos sino ya curados, al igual que el lomo, por lo que son sobre todo *chacinas*. Dada la literatura existente al respecto, amplia y documentada, y teniendo en cuenta además, que España tiene culturas populares muy diversificada, cada una de las cuales con a veces muy distintas expresiones culinarias y chacineras, me parece más útil describir aquí sólo una breve selección de tales partes, empezando con esas piezas “nuevas” antes mencionadas, pues parece no haber sido localizadas, identificadas, cortadas ni demandadas hasta hace unos 30 ó 50 años; hoy en día, sin embargo, están en la cúspide gastronómica, por lo que muy en boga: tiene extraordinarias texturas muy distintas, y aportan deliciosos aromas y sabores tampoco frecuentes; me refiero a:

- ***Carrillera***: una pieza de entre 200 y 250 g., prácticamente cilíndrica, que se extrae de la mandíbula inferior. Su deliciosa textura proporciona magníficos sabores. Gustan estofadas al vino tinto.
- ***Secreto***: se trata de un músculo aplanado con formas que recuerdan a un abanico; también de unos 200 a 300 g., es muy tierno, y prácti-

camente oculto por una grasa -el “*Tocino de lomo*”-, ofrece una muy agradable textura.

- ***Presa de paletilla***: se obtiene del cabecero del lomo grande, pesa alrededor de 1 kg., y tiene una forma ovalada que también puede recordar al abanico; se puede cocinar entera al horno, a la brasa, en ragout con setas y en otros guisos; también es fácil cortarlo en filetes que ofrecen excelente sabor y textura. Sorpresa: su nombre quizás derive de la sorpresa que seguramente proporcionó cuando fue aprovechada sacándola de los huecos temporales de cráneo; es pequeña, pues apenas alcanza los 80 ó 90 g., por lo que, entre otras elaboraciones, se pueden hervir junto a algunas verduras, para,... sacándolas para dorarlas rápidamente a fuego fuerte en sartén, acompañarlas en el plato con un arroz “blanco” hecho en el caldo de la cocción ya colado.
- ***Castañuelas***: son las amígdalas del cerdo; muy pequeñas -no más de 70 g.- salen cubiertas con una ligera capa grasa, lo que las hace estupendas a la parrilla, quizás previamente adobadas al gusto con unas u otras hierbas.

Las piezas más clásicas,... llamadas “nobles” son:

- ***Jamón y Paleta o Paletilla***: no parece necesario hacer hoy, especialmente en España, una descripción del jamón, sobre todo ya curado, que es sin duda la parte más famosa del cerdo: una excelencia y un prestigio que España ha llevado al mundo entero. No parece comentar tampoco qué y cómo es y sabe, pues todo español y no pocos extranjeros lo conoce por propia experiencia. Aunque parece posible que en los primeros tiempos históricos antes tratados, las patas traseras del cerdo -jamones- y delanteras -*paletillas*- fueran ya consideradas como partes muy diferentes del resto de los despieces que entonces se hicieren,... y no sólo por su evidencia anatómica. No está suficientemente clara la aparición de sus primeras curaciones, cuyo objeto inicial fue sin duda más conservero que placentero. En nuestra cultura mediterránea -al respecto no parece haber constancia de otras- los primeros datos pueden venir de Fenicia y Cartago, pero con más precisión, del Imperio Romano, en el que se llegaron a acuñar monedas con forma de jamón. Antes de eso, cuando los romanos llegaron a la península Ibérica, se encontraron con jamones que probablemente ya preparaban las culturas anteriores, pero parece que no fue hasta el Renacimiento, y pretendiendo ya ofrecer las altas calidades que exigía la demanda de la aristocracia, con

la ayuda del bienhacer de la cultura monacal, cuando el jamón empezó a adquirir una personalidad fue aproximándose a la que conocieron nuestros bisabuelos y abuelos, pues fue por entonces cuando empezó la carrera de perfección a la que hoy llegamos, con jamones y paletillas elaborados con salazones y maduraciones francamente diferentes a aquellas primitivas: los **Jamones** y las **Paletillas** alcanzaron de tal manera el alto rango de **Chacinas**, es decir carnes de cerdo secas previa salazón, y maduradas durante más o menos tiempo según el microclima y las pretensiones. Si del cerdo vivo se dice que gustan hasta sus andares, su Jamón curado ha alcanzado una óptima significación, puesto que tal nombre se convirtió en un adjetivo calificativo para las calidades indiscutiblemente máximas.

Otras partes nobles:

- **Lomo**: cilíndrico y alargado, como su nombre sugiere, está situado en la parte superior de la columna vertebral; puede pesar más de 3,5 kg., y es origen de muchísimas magníficas preparaciones propias de todas las cocinas de Europa. También se ofrece curado, con unas sorprendentes sensaciones aromáticas en boca.
- **Pluma**: se despieza de la parte anterior del lomo; pesa unos 200 gr. y tiene una forma triangular que puede recordar un ala de ave. De muy agradable textura y sabor intenso, hay quienes opinan que es la pieza más sabrosa; estupenda en guisos de salsa espesa y aromatizada.
- **Solomillo**: al igual que el lomo, se trata también de un cilindro alargado pero, como indica su diminutivo, mucho más pequeño -unos 600 g.-; su textura es firme pero delicada y sabrosa, con muchas posibilidades al horno, estofado, en salsa, etc.

Pero es que, además, la imaginación aplicada al cerdo nos llevó a unas elaboraciones de gran calidad utilizando sus carnes enteras o picadas, generalmente envueltas o introducidas -es decir, embuchadas- en sus propias tripas para conserva dentro sus grasas propias y sus aromas; naturalmente, me refiero a los **embutidos** que, por razones antes ya dichas, prefiero describir los más notables y sus caracteres más generales, eludiendo la rica variedad que, desde hace siglos, imprimen casi cada pueblo de España:

- **Lomo**: ya visto como “carne fresca”, para convertirlo en chacina es ligeramente salado, adobado con pimentón y embuchado con su

propia grasa en la tripa del cerdo, adquiriendo así unos aromas tan deliciosos como intensos.

- **Chorizo:** es en España la chacina más abundante y popular. Se prepara con una mezcla de diversas carnes de cerdo que en la matanza convienen, la mayor parte de las cuales son picadas no muy finas, con una determinada proporción de otras, picadas estas muy finamente junto con tocino; para curarlo, es adobado con pimentón, luego se embucha, y se guarda el tiempo que esa mezcla y el clima local sugieran.

- **Salchichón:** tanto desde un punto gramatical como sensorial, *salchichón* es el merecido aumentativo de la *salchicha*, otra rica chacina que en España perdió prestigio, quizás por causa de la competencia de las salchichas importadas, sobre todo alemanas. Esta “gran” salchicha se prepara con carnes de muy superiores despieces, siempre entreveradas, que se pican finamente para adobar al gusto sin faltar algo de sal y pimienta negra en granos enteros; tras un breve amasado y una cierta maceración, se embuchar en tripa natural y se mantiene luego dos o tres meses en un ambiente propicio. Tan sabrosas son que, ya en la mesa, duran apenas un ratito de charla compartida con unas copas de buen tinto, Morcilla: no se acaba de entender la auténtica razón de la despectiva y cortante frase “*Que te den morcilla*”,... pidiendo que nos den un embutido muy sabroso que en España tiene la notabilísima variedad que ofrecen las gentes, costumbres y climas de unas u otras comarcas. Elaboradas todas ellas con sangre de cerdo a la que se añade una mezcla de distinto ricos ingredientes -manteca, cebolla, arroz, calabaza, miga de pan, pimentón, piñones, pimienta molida, etc.-, por causa de cuya elección y cantidad poco tienen que ver -frecuentemente nada- la de Jaén con la de Burgos, por ejemplo; ésta, quizás la más famosa, está preparada con manteca, orégano pimentón, pimienta sal, cebolla y arroz que, por cierto, fue incorporado en los Ss. XVII o XVIII, sustituyendo a la miga de pan, muy frecuente antes por casi toda España. Tales elementos son mezclados en diferentes proporciones según la tradición comarcal o las del propio elaborador, lo que origina la diferente personalidad de unas y otras. Todas son magníficas y distintas: la de Jaén, por ejemplo, lleva piñones, en tanto que la canaria es ligeramente dulzona; la gallega es también dulzona gracias al azúcar y a unas pasas; la asturiana es parte fundamental del sabroso compango de su fabada; la extremeña o “patatera”,... y la alicantina, francamente picante. Un solo factor común: una vez embu-

chadas la mezcla, con el objeto de que la sangre consolide, todas ellas se ponen a cocer durante unos 15 ó 20 minutos en agua abundante.

BIBLIOGRAFÍA

- Felipe Fernández-Armesto:
 - Historia de la Comida.
 - Un pie en el río.
 - Breve Historia de la humanidad.
- Robert Ardrey:
 - La evolución del hombre: la hipótesis del cazador.
- Faustino Cordón:
 - Cocinar hizo al hombre.
- Isaac Asimov:
 - Cronología del Mundo.
- Emilio García Gómez:
 - Poemas arabigoandaluces.
- MAGRAMA, FAO, VETERINDUSTRIA, SEDCA e INTERPORC (por Internet):
 - Estadísticas y otros datos.

MEMORIA ACTIVIDADES ACADÉMICAS CURSO 2016

ACTIVIDADES PÚBLICAS

El día 18 de enero de 2016, tuvo lugar la inauguración del Curso Académico 2016 bajo la presidencia del Excmo. Sr. Dr. D. Arturo Ramón Anadón Navarro que pronunció unas breves palabras y cedió a continuación la palabra al Excmo. Sr. Dr. D. Salvio Jiménez Pérez, Secretario General, para que hiciera una breve exposición de las actividades de la Real Academia durante el curso académico 2015.

Durante el curso académico se ha cumplido el programa previsto de conferencias, mesas redondas, sesiones *in memoriam* y otras actividades.

Así mismo, se han celebrado reuniones periódicas y extraordinarias de las cinco Secciones que constituyen esta Real Academia para tratar diferentes asuntos relacionados con las competencias de la Corporación.

A continuación, dio lectura al discurso de apertura del curso 2016 el Excmo. Sr. Dr. D. Eduardo Respaldiza Cardeñosa, Académico de Número de la RACVE, a quién le correspondía por antigüedad y que versó sobre “El libreo de la caça de las aves de Don Pero López de Ayala”.

El 25 de enero 2016 tuvo lugar la entrega de premios de la RA-CVE. Recayeron en los siguientes:

- **X Premio de la Asociación Nacional de Veterinarios Jubilados**, a D.^a María José Martínez-Aleson Sanz: *“La serología avícola y su interpretación. Estudio serológico de anticuerpos de micoplasma en poblaciones avícolas desde 2011 a 2015”*.
- **IX Premio Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de Madrid**, a D.^a Lilia Abigail Pérez Mojica: *“Los colores de caballo en calendarios de la imaginaria mexicana”*.
- **III Premio Andrés Pintaluba, S.A. “Carlos Luis de Cuenca y Esteban”**, a D. Pablo Gutiérrez Toral: *“Uso de microalgas marinas en la alimentación de ovejas y síndrome de baja grasa en la leche”*.
- **II Premio Laboratorios Ovejero**, a D. Alberto Muñoz Prieto: *“Seguimiento ecocardiográfico de la cardiomiopatía inducida por antraciclinas en el conejo”*.
- **V Premio Instituto Tomás Pascual Sanz**, a D. Alex Bach: *“La sostenibilidad de las explotaciones de vacuno”*.
- **II Premio Laboratorios Boehringer Ingelheim a la Divulgación Científica**, a D. José Alberto Montoya Alonso: *“Actualización en hipertensión pulmonar arterial en perros”*.
- **Accesit II Premio Laboratorios Boehringer Ingelheim a la Divulgación Científica**, a D.^a Beatriz García Morante: *“La importancia de las cepas de Mycoplasma Hyopneumoniae”*.
- **II Premio Fundación de la Confederación Española de Fabricantes de Alimentos Compuestos (CESFAC)**, a D. Francisco González Vega: *“Influencia del sistema de cria en la adaptación nutricional de los lechones ibéricos al destete”*.
- **I Premio Cárnicas Tello**, a D. Daniel de Miguel de Santos: *“La internalización del sector porcino español y principales mercados emergentes para la carne y elaborados”*.
- **I Premio Superfeed S.L. “Mariano Illera Martín”**, a D.^a Sara Cáceres Ramos: *“IPC-366”*.

El 8 de febrero 2016 pronunció una conferencia sobre “Comentando algunos aspectos medioambientales de la encíclica *LAUDATO*”

SP. Sobre el cuidado de la casa común” el Excmo. Sr. Dr. D. José Manuel Etxániz Makazaga, Académico de Número de la RACVE.

El 29 de febrero 2016 se celebró una Mesa Redonda sobre “Reconocimiento científico al descubrimiento de la ivermectina y su contribución terapéutica”. La presentación corrió a cargo del Excmo. Sr. Dr. D. Arturo Ramón Anadón Navarro, Académico de Número y Presidente de la RACVE e intervinieron el Dr. D. Jaime Méndez Vigo, Avian & Ruminants Business Unit Manager, Merck Sharp & Dohme Animal Health, España con la conferencia “El desarrollo industrial y comercial de las avermectinas en medicina veterinaria”; el Excmo. Sr. Dr. D. Antonio Ramón Martínez Fernández, Académico de Número y Presidente de la Sección IV de la RACVE con la conferencia “Laudatio de William C. Campbell, Premio Nobel de Medicina 2015” y el Excmo. Sr. Dr. D. Francisco Antonio Rojo Vázquez, Académico de Número y Vicepresidente de la RACVE con la conferencia “Usos clínicos e implicaciones sobre la sanidad animal de las lactonas macrocíclicas”.

El 7 de marzo de 2016 intervino el Excmo. Sr. Dr. D. Elías Fernando Rodríguez Ferri, Académico de Número de la RACVE y Presidente de la Academia de Ciencias Veterinarias de Castilla y León que pronunció la conferencia titulada “Desarrollos en Vacunología Veterinaria”.

El 14 de marzo de 2016 tuvo lugar la conferencia “Desarrollo de nuevos alimentos: Mi experiencia en productos pesqueros” impartida por el Dr. D. Antonio Javier Borderías Juárez, Investigador del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN), Madrid.

El 4 de abril de 2016 ingresó como Académico de Honor el Excmo. Sr. Dr. D. Felipe Vilas Herranz y pronunció su discurso de ingreso titulado “Veterinaria en España. Visión Global de la Profesión”. Su presentación corrió a cargo del Excmo. Sr. Dr. D. Arturo Ramón Anadón Navarro, Académico de Número y Presidente de la RACVE.

El 11 de abril de 2016 se celebró la Mesa Redonda sobre “La Farmacovigilancia como herramienta de mejora para la sanidad animal”. Fue coordinada por el Excmo. Sr. Dr. D. Arturo Ramón Anadón Navarro, Académico de Número y Presidente de la RACVE e intervinieron D. Ramiro Casimiro Elena, Consejero Técnico del Departamento de Medicamentos Veterinarios de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios con la conferencia “¿En qué consiste la Far-

macovigilancia y qué enseñanzas podemos sacar de ella?”, la Sra. D.^a Isabel Marzo Lázaro, Directora de ADIPREM (Federación Española Empresarial de Aditivos y Premezclas para la Salud y Nutrición Animal), con la conferencia “El papel de la industria en la Farmacovigilancia”, D. Luis Miguel Jiménez Galán, Director Técnico de SERVET Talavera, S.L., con la conferencia “La Farmacovigilancia en la clínica de animales de producción” y D. Alfredo Fernández Álvarez, Director de la Clínica Veterinaria Peñagrande, con la conferencia “La Farmacovigilancia en la clínica de animales de compañía”.

El 18 de abril de 2016 tuvo lugar la Mesa Redonda sobre “Los retos de la investigación en Ciencias Veterinarias”. La presentación la efectuó el Excmo. Sr. Dr. D. Arturo Ramón Anadón Navarro, Académico de Número y Presidente de la RACVE e intervinieron el Excmo. Sr. Dr. D. Juan María Vázquez Rojas, Diputado del Congreso por el Grupo Popular, Académico de Número de la Academia de Veterinaria de la Región de Murcia y Catedrático de Medicina y Cirugía Animal de la Universidad de Murcia, con la conferencia “La investigación Veterinaria en Horizonte 2020” y el Excmo. Sr. Dr. D. José Julián Garde López-Brea, Académico de Número de la RACVE y Vicerrector de Investigación y Política Científica de la Universidad de Castilla – La Mancha, con la conferencia “La investigación veterinaria en las estrategias de especialización inteligente de las regiones”.

El 25 de abril de 2016 pronunció la conferencia titulada “Artemisinina” el Excmo. Sr. Dr. D. Antonio Ramón Martínez Fernández, Académico de Número de la RACVE y Presidente de la Sección IV.

El 9 de mayo de 2016, D.^a Ligia María Guerra Bone, Licenciada en Bioquímica y Master en Biotecnología por la Universidad Autónoma de Madrid, Grupo Merck, Biotecnología, Tres Cantos (Madrid), pronunció la conferencia “Alimentos modificados genéticamente. La Biotecnología en la Industria Alimentaria”.

El 23 de mayo de 2016 ingresó como Académico de Honor el Excmo. Sr. Dr. D. Juan José Badiola Díez y pronunció su discurso de ingreso titulado “Riesgos biológicos emergentes para la Sanidad Animal, Salud Pública y Seguridad de los alimentos”. La presentación corrió a cargo del Excmo. Sr. Dr. D. Arturo Anadón Navarro, Académico de Número y Presidente de la RACVE.

El 30 de mayo de 2016 la Prof.^a Dra. D.^a María del Carmen Cuéllar del Hoyo, Catedrático de Parasitología del Departamento de Parasi-

tología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, dio lectura a la conferencia “Anisakis y alergia”. Corrió la presentación a cargo del Dr. Antonio Ramón Martínez Fernández, Académico de Número y Presidente de la Sección IV.

El 6 de junio de 2016 tuvo lugar la primera conferencia de Academias de Ciencias Veterinarias cuyo programa fue:

- 9.30 horas. Recepción de los participantes en la sede de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España, Maestro Ripoll nº 8, 28006 Madrid.
- 10.00 horas. Reunión de las Juntas de las Academias de Ciencias Veterinarias.
- 11.30 horas. Pausa para el café.
- 12.00 horas. Conferencia del Dr. Josep Llupià, Presidente de la Acadèmia de Ciències Veterinàries de Catalunya sobre “Como mejorar las actividades de las academias de ciencias veterinarias”.
- 12.30 horas. Conferencia del Dr. Arturo Anadón, Presidente de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España sobre “Función social de las Academias de Ciencias Veterinarias”.
- 13. 15 horas. Coloquio.
- 13.45 horas. Clausura de la Conferencia
- 14.00- 14.30 horas. Comida
- **Programa Social Acompañantes**
 - 9.30-10.00 horas. Se iniciará la visita guiada al Museo del Prado.

El 20 de junio de 2016 tuvo lugar la conferencia “Biotecnología aplicada a los verracos de los centros de inseminación artificial para potenciar su capacidad reproductiva” y fue impartida por el Ilmo. Sr. Dr. D. Raúl Sánchez Sánchez, Académico Correspondiente de la RACVE.

El 27 de junio de 2016 el Excmo. Sr. Dr. D. Amalio de Juana Sardón, Académico de Número de la RACVE, dio lectura a la conferencia “Algunos aspectos históricos menos conocidos de las enseñanzas y titulaciones zootécnicas en España”.

El 26 de septiembre de 2016 ingresó como Académico Correspondiente Extranjero el Dr. James M. Reuben, Profesor de la División de Patología del Departamento de Hematopatología, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas (Estados Unidos) quien dio lectura a su discurso de ingreso titulado “Células tumorales circulantes como biomarcador predictivo y subrogado para enfermedad mínima residual en cáncer de pecho”. La presentación corrió a cargo del Excmo. Sr. Dr. D. Juan Carlos Illera del Portal, Académico de Número de la RACVE.

El 10 de octubre de 2016 el Académico de Número y Presidente de la Sección V, Excmo. Sr. Dr. D. Luis Ángel Moreno Fernández-Caparrós, dio lectura a la conferencia titulada «Primer “Corpus lexicográfico” de términos históricos de la albeitería española».

El 17 de octubre de 2016 intervino la Prof.^a Dra. D.^a Belén Orgaz Martín, Profesora Contratada Doctor, Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos en la Facultad de Veterinaria – Universidad Complutense de Madrid, con la conferencia “El control de los biofilms: un reto para la ciencia y la industria alimentaria”.

El 24 de octubre de 2016 tuvo lugar la conferencia “El síndrome del despoblamiento de las colmenas: hipótesis y evidencias” impartida por la Prof.^a Dra. D.^a María Aránzazu Meana Mañes.

El 7 de noviembre de 2016 el Prof. Dr. D. José Antonio Escario García-Trevijano, Catedrático del Departamento de Parasitología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, expuso la conferencia “NUEVOS METODOS IN SILICO Y CLASICOS DE SELECCIÓN DE MOLECULAS FARMACOLOGICAMENTE ACTIVAS”. La presentación corrió a cargo del Excmo. Sr. Dr. Arturo Ramon Anadón Navarro, Académico de Número y Presidente de la RACVE.

El 14 de noviembre de 2016 tuvo lugar la conferencia “Sedes madrileñas de la Escuela de Veterinaria: arquitectura y profesión (Recoletos, San Francisco, Curtidores, Embajadores)”, impartida por el Dr. D. Ángel Salvador Velasco, Doctor en Farmacia por la Universidad Complutense de Madrid y Doctor en Veterinaria por la Universidad de Extremadura, y por D.^a Laura R. Salvador González, Licenciada en Arquitectura por la Universidad Politécnica de Madrid.

El 21 de noviembre de 2016 el Excmo. Sr. Dr. D. Salvador Gutiérrez Ordoñez, Catedrático de Lingüística General del Departamento de Filología Hispánica y Clásica de la Facultad de Filosofía y Letras de la Universidad de León y Académico de Número de la Real Academia Española, impartió la conferencia “Animales Cervantinos”. La presentación corrió a cargo del Excmo. Sr. Dr. D. Francisco Rojo Vázquez, Académico de Número y Vicepresidente de la RACVE.

El 28 de noviembre intervino la Sra. Dra. D.^a M.^a Elvira López Caballero, Doctora en Veterinaria por la Universidad Complutense de Madrid, que expuso la conferencia “Recubrimientos comestibles”. La presentación corrió a cargo del Excmo. Sr. Dr. D. Juan Antonio Ordoñez Pereda, Académico de Número de la RACVE.

El 12 de diciembre de 2016 tuvo lugar la Mesa Redonda sobre “El imaginario animal en el Quijote”. La presentación corrió a cargo del Excmo. Sr. Dr. D. Arturo Ramón Anadón Navarro, Académico de Número y Presidente de la RACVE; el coordinador fue el Excmo. Sr. Dr. D. Luis Ángel Moreno Fernández-Caparrós, Académico de Número y Presidente de la Sección 5^a de la RACVE e intervinieron el Excmo. Sr. Dr. D. Miguel Ángel Vives Vallés, Académico de Número de la RACVE; el Excmo. Sr. Dr. D. Luis Mardones Sevilla, Académico de Número de la RACVE; el Excmo. Sr. Dr. D. Miguel Ángel Aparicio Tovar, Académico de Número de la RACVE y el Excmo. Sr. Dr. D. José Manuel Pérez García, Académico de Número de la RACVE.

El 19 de diciembre el Académico de Número, Excmo. Sr. Dr. D. Quintiliano Pérez Bonilla, impartió la conferencia “Situación del sector porcino español, su comercio exterior y sus riesgos sanitarios”.

RECONOCIMIENTOS Y DISTINCIONES

La Real Academia de Ciencias Veterinarias de España recibió el día 22 de junio de 2016 la Medalla de la Confederación Española de Fabricantes de Alimentos Compuestos para Animales (CESFAC) por su contribución a la difusión del mejor conocimiento disponible en nutrición animal.

CURSOS Y CONGRESOS

El Sr. Presidente de la RACVE ha participado en el XXV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias (PANVET_2016) en la Ciudad de Panamá entre los días 2 al 7 de octubre de 2016. Como es

tradicional el congreso de PANVET es sede de la reunión de la Asociación Iberoamericana de Academias de Ciencias Veterinarias (AIACIVET) y de la organización de una sesión académica de la AIACIVET en la que participaron académicos de las academias de México, Colombia, Uruguay, Cuba y España. El Dr. Arturo Anadón, Secretario General de la AIACIVET intervino en la sesión académica con la ponencia “Homologación de los Estudios de Veterinarias en la Unión Europea”. También intervino en otra sesión con la ponencia “Medicamentos Veterinarios Antimicrobianos y Salud Pública”. En la reunión de la Asociación Iberoamericana de Academias de Ciencias Veterinarias (AIACIVET) se acordó admitir como academia asociada la Academia Mexicana de Cirugía Veterinaria y que en el próximo PANVET-2018 a celebrar en Uruguay se proponga una sesión científica de interés para todas las académicas integradas en la AIACIVET y que los académicos pertenecientes a las diferentes academias de ciencias veterinarias iberoamericanas, participen en las sesiones con las que tienen mejor afinidad científico-técnica. También se discutió de la posibilidad de participar las academias asociadas a la AIACIVET en el próximo *34th World Veterinary Congress* que se celebrara en Barcelona los días 5-8 de mayo de 2018.

JUNTA DE GOBIERNO

La Junta de Gobierno celebró a lo largo del curso un total de **7 sesiones**, con los asuntos que quedan reflejados en las Actas correspondientes.

JUNTAS PLENARIAS

La Junta Plenaria de la Real Academia de Ciencias Veterinarias celebró a lo largo del curso **3 sesiones**, con los asuntos que quedan reflejados en las Actas correspondientes.

SECCIONES

Se han realizado reuniones de las Secciones 1^a, 2^a, 3^a, 4^a y 5^a, con los asuntos que quedan reflejados en las Actas Correspondientes.

FINANCIACIÓN

Se continúa con la financiación del Ministerio de Educación, Cultura y Deportes que fue aprobada en la Ley de Presupuestos del Estado.

FALLECIMIENTOS

Durante el curso 2016 han fallecido los Sres. Académicos:

- Excmo. Sr. Dr. D. Julio Boza López, Académico de Honor, el 25 de febrero de 2016.
- Excmo. Sr. Dr. D. Carlos Barros Santos, Académico de Número, el 5 de septiembre de 2016.
- Excmo. Sr. Dr. D. Julio Olías Pleite, Académico de Número, el 6 de octubre de 2016.

Madrid, 20 de diciembre de 2016

