

ARTÍCULO RESEÑA

## Aplicaciones biotecnológicas en el diagnóstico de enfermedades veterinarias. Oportunidades y retos

**Siomara Martínez, Belkis Corona, Ivette Espinosa, Evelyn Lobo**

Departamento de Microbiología, Dirección Salud Animal, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, CP 32 700, Mayabeque, Cuba. Correo electrónico: [siomara@censa.edu.cu](mailto:siomara@censa.edu.cu)

**RESUMEN:** La Biotecnología ha impactado en todas las áreas del conocimiento de la Biología. En particular, las biotecnologías aplicadas a la Salud Animal, tienen un amplio abanico de fines diversos que va desde el diagnóstico de enfermedades de animales, el desarrollo de nuevas generaciones de vacunas, la mejora genética de las poblaciones animales para incrementar su resistencia contra determinadas enfermedades; entre otras. La contribución que las biotecnologías agrícolas pueden brindar, para enfrentar los grandes retos de garantizar la seguridad alimentaria sin destruir la base de los recursos del medio ambiente, es un aspecto a considerar. Desde mediados de la década de los años 80, el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), institución científica creada en 1969, comienza a trabajar en la introducción y utilización de herramientas biotecnológicas aplicadas a la salud animal. En la presente revisión se presentan algunos resultados de la aplicación de estas tecnologías en el diagnóstico de enfermedades de interés veterinario en nuestro centro, así como sus oportunidades y retos actuales para nuestro país.

**Palabras clave:** Biotecnología Animal, diagnóstico veterinario.

---

### Biotechnological applications on animal health. Opportunities and challenges

**ABSTRACT:** Biotechnology has had revolutionary impact in all areas of knowledge on Biology. Specifically, biotechnologies applied to animal health can be applied to a wide range of different purposes ranging from the diagnostic of animal diseases, vaccine development and genetic improvement of animal populations, increasing resistance against different diseases, among others. The contribution offered by agricultural biotechnologies to face the challenges of ensuring food safety without destroying the base of environment resources is an aspect to be considered. Since the beginning of the 80s, the National Centre for Animal and Plant Health (CENSA), which is a scientific institution created in 1969, began working on the introduction and use of biotechnological tools in the diagnosis of animal diseases. In this review, some results on the application of these technologies on animal health are presented considering their opportunities and challenges.

**Key words:** Animal Biotechnology, veterinary diagnostic.

---

### INTRODUCCIÓN

Los retos de la agricultura para el siglo XXI son diversos y complejos, por lo que afrontarlos implica efectuar intervenciones de índoles económica, social, ambiental y tecnológica. En el mundo existe cada vez mayor demanda de alimentos por parte de una población creciente, fenómenos de globalización económica con condiciones variables del mercado y una serie de efectos producidos por el cambio climático sobre la producción, por citar solo tres desafíos. (1).

En este contexto, los países en desarrollo se enfrentan a una creciente inseguridad alimentaria, que empeorará las condiciones de vida de millones de personas. La necesidad de aumentar, tanto la inversión en investigación como la productividad agrícola, debe estar en el centro de cualquier estrategia para reducir el hambre y la pobreza (2).

La contribución que las biotecnologías agrícolas pueden brindar, para enfrentar los grandes retos de garantizar la seguridad alimentaria sin destruir la base de los recursos del medio ambiente, es un aspecto a considerar.

Según la FAO (3), el desarrollo y la difusión de nuevas tecnologías son factores importantes que determinarán el futuro de la agricultura. El estudio, examinó tres aspectos de suma importancia: la biotecnología, las tecnologías que favorecen una agricultura sostenible y la dirección de las futuras investigaciones.

Las biotecnologías agrícolas pueden aplicarse a un amplio abanico de fines diversos: la mejora genética de variedades de plantas y poblaciones animales para incrementar su rendimiento o eficacia, la caracterización y conservación de los recursos genéticos agrícolas, pecuarios, forestales y acuáticos; así como, el diagnóstico de enfermedades de animales y plantas, el desarrollo de vacunas y la mejora de piensos (2).

El aporte de la biotecnología resulta imprescindible si consideramos la situación particular a que se enfrenta el mundo desde el punto de vista sanitario, por la emergencia y reemergencia de diferentes enfermedades, tal es el caso de la situación de la reemergencia de la influenza aviar y porcina, los brotes de fiebre aftosa y la multiresistencia del agente causal de la tuberculosis, provocada entre otros factores, por los efectos ya mencionados de la globalización, mercado internacional y los cambios climáticos que devienen en una verdadera crisis ambiental. Se destaca que de las 1415 enfermedades infecciosas conocidas por la medicina moderna, el 60% de sus agentes causales tienen origen en animales, y en el 75% para el caso de las emergentes (4). Simultáneamente, más del 20% de la producción mundial de animales para consumo se pierde por enfermedades infecciosas, lo cual también influye en la salud pública por la sustracción de valiosas fuentes de proteínas de la alimentación humana (5), de ahí la necesidad continua de incrementar los sistemas de diagnóstico y control de las enfermedades.

Por la repercusión que ha tenido en todos los campos de las investigaciones biológicas merece señalarse de manera particular, la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) desarrollada por Mullis y Faalona en 1987 (6).

Cuba, propicia el desarrollo de la Biotecnología. Desde el año 1981, se crea el Frente Biológico, implementando programas de investigación-desarrollo, así, surgen centros para la investigación y el desarrollo de la misma, formando el potencial humano necesario para alcanzar los resultados que hoy se muestran en esta rama. En la actualidad, la Industria Biotecnológica Cubana, cuenta con 1200 patentes internacionales de diferentes productos. En el 2008, las exportaciones de productos biotecnológicos nacionales se incrementaron en el 20% con respecto al 2007

(8) y hoy la Biotecnología constituye el segundo renglón de ingresos por bienes exportables (9,10).

Muchos de los resultados obtenidos con la Biotecnología en nuestro país son generalizados a la actividad productiva, lo que ha conformedo una infraestructura que, junto a los recursos humanos especializados en este campo, posibilita considerarla como una nueva esfera productiva, sentando las bases en el país para desarrollar una fuerte industria biotecnológica; sin embargo, aun resulta necesario incrementar la misma en el sector agropecuario.

En la presente revisión se presentan algunos resultados sobre la utilización de herramientas biotecnológicas en el diagnóstico de enfermedades veterinarias en Cuba, las oportunidades que las mismas brindan, así como los retos a los que nos enfrentamos, enmarcados en el desarrollo de esta plataforma en el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), como una contribución a las investigaciones en Biotecnología, en la esfera animal de nuestro país.

### **Oportunidades de la Biotecnología**

La Biotecnología ha pasado por diferentes etapas de desarrollo con marcados avances en cada uno de ellos; en la actualidad, sigue progresando a ritmo creciente y generando nuevas aplicaciones.

A partir de los años 80, comienza la Biotecnología Moderna o Biotecnología de 3<sup>era</sup> generación, basada en una gran cantidad de descubrimientos técnicos y moleculares; en el año 2000 emergió el término de Ciencias Genómicas para denominar no sólo el manejo y expresión de los genes, sino también el estudio más completo e integral de la información genética (11).

La Biotecnología moderna surge como una nueva rama de la industria, que transforma materias primas en productos finales, utilizando como fábrica las células. En su desarrollo acelerado influye en diferentes ramas del conocimiento como las tecnologías de cultivos celulares a gran escala (fermentaciones), así como con el desarrollo de la capacidad de modificación de los genes: la Ingeniería Genética.

La Biotecnología permite obtener fármacos biológicos con niveles de pureza, reproducibilidad y un escalado, similares a los obtenidos en la síntesis química, de manera que el 80% de la biotecnología a nivel mundial se dirige a las aplicaciones farmacéuticas (12).

Con relación a la salud animal, el desarrollo de la Biotecnología ha contribuido al control y erradicación de las enfermedades a nivel mundial por el surgimiento de métodos cada vez más sensibles y certeros de diag-

nóstico, así como la obtención de vacunas de nuevas generaciones seguras y eficaces.

En los últimos años hemos podido asistir al avance de la Biología Molecular, en un afán de conocer cada vez mejor la patogenia de las enfermedades. En este sentido, los métodos moleculares se aplican cada vez más al diagnóstico de las enfermedades infecciosas. Para que estos métodos se lleguen a utilizar ampliamente necesitan ser fáciles, seguros, sensibles, reproducibles y automatizados para facilitar la evaluación de gran cantidad de muestras (13).

Dentro de las aplicaciones de los métodos moleculares se encuentran la detección de microorganismos no cultivables o de difícil diagnóstico, como es el caso de las especies del género *Mycoplasma*, microorganismos peligrosos (patógenos) o aquellos que están presentes en pocas cantidades en los hospederos (13). En la actualidad, la detección de microorganismos no deseados en productos y líneas celulares como parte de la calidad de los mismos es otro aspecto estudiado a partir de técnicas moleculares (14). Así mismo, la detección a nivel molecular resulta imprescindible en la determinación de sustancias o restos de materiales no permitidos en alimentos, como parte de la vigilancia de determinadas enfermedades (15).

### **Las aplicaciones biotecnológicas en el control de las enfermedades veterinarias**

En Cuba surgieron a partir de los años 80 varias instituciones científicas y productivas que asimilaron la Biotecnología en las diferentes aplicaciones, en este sentido desde mediados de la década de los años 80, el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, comienza a trabajar en la introducción y utilización de Técnicas Moleculares en el diagnóstico de patologías de interés agropecuario, apoderándose de tecnologías como la Hibridación de ácidos nucleicos (HAN) y la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (16,17), los análisis de restricción y Polimorfismo de los fragmentos de restricción (RFLP) (18), y más recientemente el PCR en tiempo real (19).

Posteriormente, los análisis de secuencias de especies de microorganismos permitieron el estudio molecular de diferentes patógenos como base de estudios epidemiológicos (16, 19), a lo que se une la utilización de diferentes sistemas de expresión de genes de diferentes patógenos para la generación de candidatos vacunales (20).

Hoy en día se trabaja en la utilización de técnicas bioinformáticas para el análisis de los genomas y proteomas de microorganismos de interés para el di-

seño de nuevos candidatos vacunales y moléculas terapéuticas (21).

Debe destacarse que para la introducción de la tecnología de PCR en el diagnóstico, el CENSA desarrolló la producción de forma recombinante de la *Taq* DNA Polimerasa (AmpliCEN), principal fuente de costo en el PCR (22). La obtención de un extracto crudo de *Taq* DNA Polimerasa recombinante posibilitó la extensión de la tecnología de PCR a diferentes sistemas de diagnóstico de animales y plantas en el CENSA y en varios hospitales e Institutos de investigaciones que realizan el diagnóstico de importantes enfermedades.

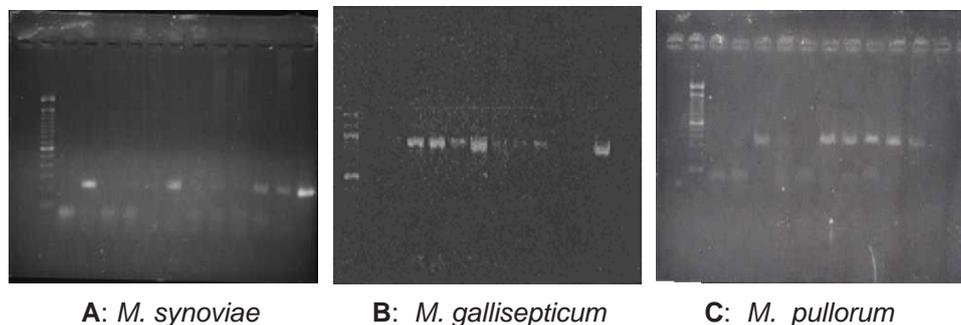
Dentro de las aplicaciones que ha tenido el diagnóstico molecular de enfermedades de interés veterinario en el CENSA se destacan:

### **Diagnóstico del Síndrome Respiratorio Aviar (SRC)**

El SRC es una enfermedad infecto contagiosa de curso crónico considerada como una de las principales causas de muerte por las grandes pérdidas económicas que produce a nivel mundial, cuya etiología es un complejo multifactorial donde intervienen varios agentes y factores, reconociéndose a *Mycoplasma gallisepticum* como el agente etiológico principal, aunque en los últimos años se ha reportado la participación de cepas altamente virulentas de *Mycoplasma synoviae*. En la avicultura esta enfermedad es una de las principales causas de muerte produciendo grandes pérdidas económicas a nivel mundial. Los estudios realizados a partir de la detección por PCR de los agentes causales en las granjas seleccionadas (Fig. 1), evidenciaron la situación de la micoplasmosis aviar en nuestro país, sirviendo como una orientación diagnóstica y un llamado de atención de la necesidad de establecer programas de control de la enfermedad mediante medidas de Bioseguridad donde se incluyan programas de vacunación en nuestra avicultura. Estos resultados constituyeron aportes al estudio de la etiología del SRC en Cuba, con relación a la participación de especies del género *Mycoplasma* ofreciendo un sistema de diagnóstico eficiente para estas especies (23).

### **Detección de restos mamíferos en muestras de harinas y piensos**

Con relación a la detección de restos mamíferos en muestras de harinas y piensos para el consumo animal, fueron abordados por la necesidad de implementar un programa de vigilancia para la Encefalopatía Espongiforme Bovina (BSE), comenzando así, el uso de estas tecnologías moleculares en trabajos relacionados con la seguridad alimentaria en nuestro labora-

A: *M. synoviae*B: *M. gallisepticum*C: *M. pullorum*

**FIGURA 1.** Detección de *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae* y *Mycoplasma pullorum* con la amplificación de una región específica del ARNr 16S mediante PCR./ *Detection of Mycoplasma gallisepticum, Mycoplasma synoviae and Mycoplasma pullorum with the amplification of a specific rRNA16S region by PCR.* (23)

torio. Se trabajó en introducir un método de PCR que permitiera la rápida identificación de los materiales de origen bovino en la alimentación animal, lo cual es esencial para el control efectivo de una fuente potencial de la BSE.

El ensayo de PCR desarrollado permitió la detección del 1% de los materiales de origen bovino presentes en los concentrados comerciales (24), desarrollándose posteriormente otros ensayos destinados a la detección de la presencia de otras especies animales (25). En la actualidad se analizan todas las muestras de harinas y concentrados de importación en el país (Resolución No. 1 del 2004) para la vigilancia de la BSE.

#### **Detección de microorganismos del género *Mycoplasma* como parte del control de la calidad de productos Biotecnológicos**

La detección de microorganismos del género *Mycoplasma* como parte del control de la calidad de productos Biotecnológicos como vacunas, anticuerpos monoclonales y líneas celulares, surge por la necesidad que ha emanado en las últimas décadas de establecer sistemas que garanticen la seguridad de los productos, en cuya obtención se utilizan como materias primas derivados biológicos como cultivos de células, sueros fetales, enzimas, entre otros.

El PCR, fue aprobado por la Farmacopea Europea 5.8 como técnica para la detección de rutina de estos microorganismos en productos biofarmacéuticos. En nuestro Laboratorio de Diagnóstico de Micoplasmas (MYCOLAB), se puso a punto un ensayo de PCR recomendado por la Farmacopea (26), que cumple con los requisitos de estabilidad, sensibilidad y especificidad, que permiten brindar un servicio rápido, confiable y certero, el cual cuenta con estudios de desempeño y validación (27). En la actualidad, se conducen inves-

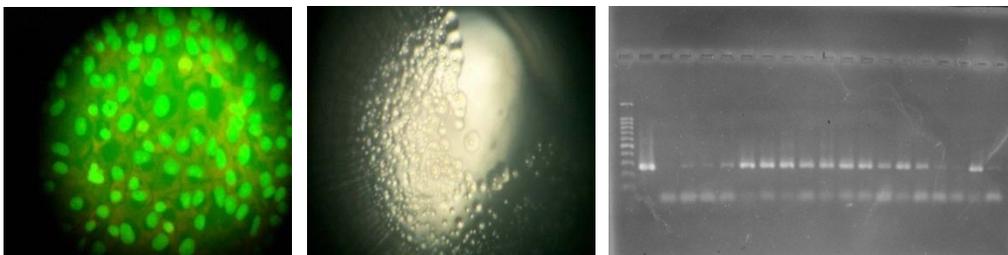
tigaciones para la introducción de un control interno, recomendado por los reguladores, que aumente la confianza de los clientes, brindando la posibilidad de determinar las posibles inhibiciones en la matriz de la muestra de la PCR.

La introducción de las técnicas moleculares para la detección de micoplasmas de cultivos celulares y productos Biotecnológicos, posibilita al país contar con un laboratorio especializado, para la liberación de productos biotecnológicos de aplicación biomédica con gran impacto en nuestro Sistema de Salud Pública, garantizando la calidad de los mismos (Fig. 2). Así, han sido testados entre otros productos:

- Vacuna contra la Hepatitis B,
- Eitropoyetina recombinante,
- Anticuerpos monoclonales utilizados en el diagnóstico de enfermedades hereditarias y en el tratamiento de enfermedades oncológicas,
- Vacunas veterinarias,
- Líneas celulares.

#### **Genotipificación de bacterias de interés veterinario**

Los estudios moleculares emprendidos por nuestro centro se extienden a la aplicación de métodos genotípicos para la identificación de bacterias, lo que resulta de gran utilidad y permiten superar limitaciones de los procedimientos fenotípicos tradicionales, además de poder detectar la presencia de los genotipos de los microorganismos directamente en la muestra clínica o a partir de pequeñas cantidades como una simple colonia, lo cual en cultivos mezclados evita los subcultivos necesarios para la caracterización bioquímica convencional.



**FIGURA 2.** Detección de micoplasmas en cultivos de células, sueros y productos biotecnológicos mediante técnicas moleculares./ *Mycoplasma detection in cell culture, sera and biotechnological products by molecular techniques.* (17)

Particular importancia revierten las investigaciones llevadas a cabo en enfermedades respiratorias del cerdo, una de las primeras causas de mortalidad y morbilidad en la porcicultura cubana.

Con el objetivo de profundizar en el diagnóstico de estas enfermedades del cerdo se ha trabajado en ensayos moleculares para la detección de bacterias y micoplasmas que participan en estas entidades.

Así, se identificó el gen *tox A* en aislamientos cubanos de *Pasteurella multocida* procedentes de cerdos, mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa a partir de una colonia (28).

Los ensayos moleculares, específicamente la PCR, son de gran interés para el monitoreo y vigilancia de la Rinitis Atrófica Porcina (RAP) y la pasteurellosis neumónica mediante la discriminación entre cepas toxigénicas y no toxigénicas (29). Este estudio ha permitido confirmar la presencia de *Pasteurella multocida* por métodos moleculares por primera vez en el país, y demostrar por estos ensayos que las infecciones por *P. multocida* en las unidades estudiadas se deben fundamentalmente a procesos neumónicos atribuidos a cepas no toxigénicas.

A su vez, se trabajó en el diagnóstico de *Streptococcus suis*, bacteria común en el tracto respiratorio de los cerdos; sin embargo, las infecciones causadas por cepas virulentas se consideran un problema en la industria porcina además de constituir una grave zoonosis.

Nuestros estudios abarcaron la detección de *Streptococcus suis*, por vez primera en nuestro país, a partir de un sistema de PCR de colonias para la detección de los genes de patogenicidad de la especie, así como la determinación de los genotipos capsulares como parte del diagnóstico (30). Antes de realizar estas investigaciones no había datos sobre la identificación serológica o molecular de los tipos

capsulares de *S. suis* procedentes de cerdos en Cuba. El objetivo de esta investigación fue la detección de los tipos capsulares *cps2*, *cps7* y *cps9*, y de los tres genes asociados con la virulencia, mediante ensayos de Reacción en Cadena de la Polimerasa. Se pudo conocer que los genotipos presentes en el país se corresponden con el genotipo capsular *cps2*, y 4 con el *cps9*. El genotipo capsular *cps7* no se detectó y 6 aislados no se correspondieron con ninguno de los serotipos analizados. Considerando la presencia de los genes *sly*, *epf* y *mrp*, se identificaron seis genotipos en los aislados *cps2* y *cps9*, y 3 en los aislados cuyo genotipo *cps* no se identificó. Los aislados *cps2* se extrajeron de cerdos 6 a 12 semanas con neumonía y de 14 a 17 semanas con infección sistémica; mientras que los *cps9* estaban asociados exclusivamente con neumonía (31).

En este sentido fue determinado el gen que codifica para la hemolisina denominado suilisina (*syl*), detectándose por PCR en 5 cepas de las cuales 4 procedían de pulmón y una de tonsila. Sin embargo, en los aislamientos procedentes de abscesos y asociados a artritis no se detectó la presencia de este gen, lo cual muestra un comportamiento similar a las cepas presentes en Norte América *syl*-, asociadas a enfermedad invasiva (30).

Los resultados de este trabajo corroboran la heterogeneidad de biotipos y genotipos, específicamente para el gen *syl* presente en las cepas de *S. suis* procedentes de granjas porcinas del país, lo cual ha sido informado en numerosos trabajos (32, 33). La identificación y caracterización de factores de virulencia en *S. suis* por técnicas de avanzada como la amplificación de ácidos nucleicos permite incrementar el conocimiento sobre esta enfermedad en el país, especialmente la virulencia de los aislamientos presentes en las producciones porcinas y contribuir a la aplicación de medidas efectivas en el control de la misma.

### Obtención de proteínas recombinantes para su utilización como antígenos en técnicas serológicas e inmunoquímicas para el diagnóstico

La obtención de antígenos recombinantes constituye uno de los pilares de la Biotecnología, ya que se pueden obtener proteínas biológicamente activas, incluso modificadas a voluntad, en cantidades considerables, con un riesgo menor o casi nulo de contaminación con determinados agentes infecciosos. Así, además de trabajar con moléculas definidas, caracterizadas y de probadas características antigénicas, se abaratan los costos de la obtención de estas moléculas que en ocasiones se encuentran representadas en bajas concentraciones en los patógenos, tal es el caso de *Anaplasma marginale*, enfermedad de gran importancia para los países tropicales.

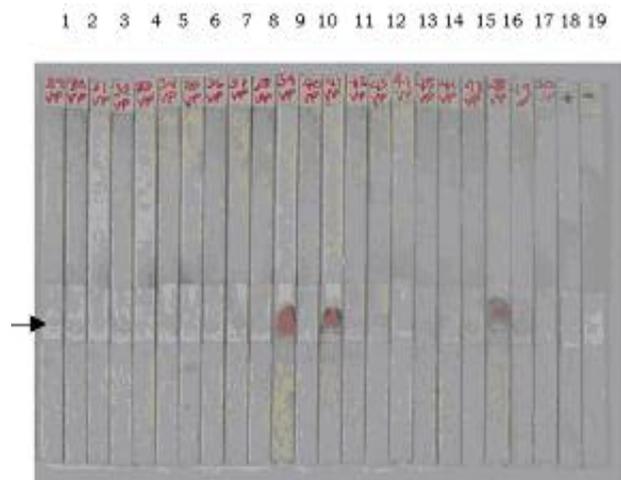
El sistema actual de diagnóstico de las hemoparasitosis en Cuba necesita incluir sistemas de diagnóstico sensibles, específicos y reproducibles (34), si se tiene en cuenta que el diagnóstico serológico es de elección en *A. marginale*, el hecho de contar con un antígeno recombinante resulta de interés.

Por otra parte, el desarrollo de ensayos rápidos para su realización al lado del animal, que brinde resultados en minutos, marca tendencias actuales en el diagnóstico veterinario (35). Cuba cuenta con la tecnología de Tiras reactivas de flujo lateral, por lo que el incremento de su uso en Veterinaria, abrirá nuevos caminos en el diagnóstico para lograr métodos eficaces y de bajo costo, además de ser simples y rápidos para su uso en el campo y laboratorios regionales.

Se obtuvo una proteína recombinante de *Anaplasma marginale*, con ventajas sobre los antígenos nativos, la que ha demostrado la factibilidad de su uso en un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral para la detección de anticuerpos contra *A. marginale*, enfermedad donde el diagnóstico serológico aún hoy es de elección (36) (Fig. 3). Recientemente se reportan buenos resultados con un sistema similar en condiciones de campo para el diagnóstico de *A. marginale* (37).

#### Retos actuales

Estos resultados obtenidos constituyen realidades y expectativas de lo que puede significar la aplicación de la Biotecnología en la Salud Animal en países como el nuestro, donde lograr la seguridad alimentaria; así como, la soberanía en la producción de alimentos es de vital importancia; sin embargo, aun se hace necesario implementar estrategias de investigaciones cien-



**FIGURA 3.** Ensayo cromatográfico de flujo lateral usando como antígeno la proteína recombinante HMSP5 de *Anaplasma marginale*./ Lateral flow chromatographic assay using the recombinant protein HMSP5 of *Anaplasma marginale* as antigen. (36)

tíficas que respondan a las demandas reales de nuestra Medicina veterinaria y que superen algunos retos destacándose:

- La obtención de nuevos y mejores productos como sistemas de diagnósticos validados que combinen sensibilidad y especificidad con simplicidad para su uso extendido en condiciones de campo y bajo costo.
- La determinación de nuevos marcadores de patogenicidad en los microorganismos mediante estudios genómicos que permitan lograr mayor especificidad de sistemas de diagnóstico y de vacunas dirigidas a determinadas dianas.
- Perfeccionamiento de los procesos productivos que conjuguen el impacto de los productos con un escalado a bajo costo de producción.
- Establecimiento de sistemas de gestión de la calidad que permita la robustez de las tecnologías desarrolladas.
- La aplicación de medidas de Bioseguridad, evaluaciones epidemiológicas, evaluaciones económicas y análisis de riesgos integrando los programas de control.
- Ver como parte importante del desarrollo de la Biotecnología, la formación de recursos humanos a todos los niveles.

## CONSIDERACIONES GENERALES

La Biotecnología ha revolucionado la Salud Animal y cada día son más sus aplicaciones.

En los próximos años debemos ver surgir nuevos conocimientos que no solamente aporten nuevas opciones de diagnóstico y control de las enfermedades infecciosas, lo cual devienen en procesos complejos, donde intervienen diferentes factores como diagnóstico preciso, medidas de Bioseguridad, formación especializada donde todos desempeñan un importante papel. Las evaluaciones epidemiológicas, evaluaciones económicas y análisis de riesgos integran, además, estos programas de control. A su vez, el uso de vacunas y sistemas de diagnósticos sensibles y específicos, son componentes claves, siendo a menudo las únicas soluciones disponibles, por lo que la investigación en estas temáticas resulta imprescindible.

Los resultados alcanzados por nuestro país en el área de la Biotecnología constituyen la piedra angular del desarrollo de la aplicación de esta ciencia en el control de enfermedades de interés veterinario dado por el desarrollo de la infraestructura necesaria; así como, una sólida formación de los recursos humanos, de ahí su contribución.

A manera de conclusiones debemos señalar que las tendencias mundiales y los resultados obtenidos corroboran la necesidad de la utilización de la Biotecnología en la Salud Animal encaminados al desarrollo de tecnologías eficientes para aumentar la disponibilidad de alimentos en el país, reducir y sustituir importaciones, contribuir a disminuir los impactos negativos al medio ambiente creando estrategias de adaptación de los sistemas de producción pecuaria; así como, el diagnóstico y control de las enfermedades para adaptarse al cambio climático.

## REFERENCIAS

1. Palmieri V, Alarcón E, Rodríguez D. Situación y desempeño de la agricultura en ALC desde la perspectiva tecnológica. Informe de 2008(2009), San José, Costa Rica.
2. FAO (2010). Agricultura mundial: hacia los años 2015/2030. Informe resumido. Departamento económico social.
3. FAO (2009). Desafíos globales, potenciales y prioridades. (<http://www.fao.org>).
4. Cook RA. Emerging diseases at the interface of people, domestic animal, and wildlife. The role of wildlife in our understanding of highly pathogenic avian influenza. *Yale J Biol Med.* 2005;78:339-349.
5. Vallat B. One World, One Health. Editorials from the Director General. World Organization for Animal Health. Actualizado 21-Jul-2009. Disponible: [http://www.oie.int/eng/edito/en\\_edito\\_apr09.htm](http://www.oie.int/eng/edito/en_edito_apr09.htm).
6. Mullis KB, Faloona FA. Síntesis específica de la DNA in vitro vía una reacción en cadena polimerasa-catalizada. *Métodos en Enzimología.* 1987;155:335-350.
7. Meeusen ENT, Walker J, Peters A, Pastoret PP, Jungersen G. Current Status of Veterinary Vaccine. *Clinical Microbiol Rew.* 2007;20(3):489-510.
8. Lage A. Cuba: industria farmacéutica de clase mundial al servicio del pueblo. Cuba: World Class Pharma that Puts People First Inter Press Service, Roma, Italia. 2009.
9. Triana J. El estado de la economía cubana. Conferencia impartida en CIGB. 2010.
10. Lineamientos del PCC, Cuba. 2011.
11. Quintero R. Situación de la genómica y la Biotecnología en México: Investigación, formación de recursos humanos e industria. Educación, Ciencia, Tecnología y Competitividad. Agenda para el desarrollo. 2007;10:214-217.
12. Lage DA. El espacio de la biotecnología en el control del cáncer: Oportunidades y desafíos en Cuba. *Rev. Cubana Salud Pública.* 2011;37: 66-74.
13. OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 6th Edition. 2009.
14. Reina M. Las contaminaciones. Técnicas de estudio de líneas celulares. *Proc Soc Exp Bio Med.* 2003;122:478.
15. Pascoal A, Prado M, Calo P, Cepeda A, Velásquez JB. Detection of bovine DNA in raw and heat-processed foodstuffs, commercial foods and specific risk materials by a novel specific polymerase chain reaction. *Method. Eur Food Res Techno.* 2005;220:444-450.
16. Díaz de Arce H, Núñez JI, Ganges L, Barrera M, Frías MT, Sobrem F. Molecular Epidemiology of classical swine fever in Cuba. *Virus Research.* 1999;64: 61-67.
17. Lobo E, Vega A, Hernández Y. Desarrollo de un sistema de diagnóstico para la detección de micoplasmas en cultivos celulares, sueros y

- productos biofarmacéuticos. Rev Salud Anim. 2006;28(1):21-30.
18. Corona B, Muñoz ML, Hernández M, Martínez S. Use of random amplified polymorphic DNA markers for the detection of genetic variation in *Anaplasma marginale* isolates. Rev Salud Anim. 2004;26(1):29-34.
  19. Pérez LJ, Díaz de Arce H, Cortey M, Domínguez P, Percedo MI, Perera CL, et al. Phylogenetic networks to study the origin and evolution of porcine circovirus type 2 (PCV2) in Cuba. Vet Microbiol. 2011;151:245-254.
  20. Martínez S, Pedroso M, Corona B. Tendencias en vacunas veterinarias. 2008. Disponible: <http://www.monografias.com>.
  21. Naranjo D, Díaz de Arce H, Pérez E, Valiente PA, Carrasco R, Martínez S. Modelación por homología de la catepsina b de *Fasciola hepatica*. Rev Salud Anim. 2007;29(1):58-64.
  22. Corona B, Martínez S. Taq recombinant polymerase, AmpliCEN, generalization of its use Rev Salud Anim. 2004;26(2):139.
  23. Lobo E, Martínez S. Variability in the expression of *Mycoplasma pullorum* surface antigens Patogenicity markers. Rev Salud Anim. 2004;26(2):142.
  24. Martínez S, Corona B, Carpio Y, Lleonard, R. PCR for the detection of bovine materials in animal feedstuffs Rev Salud Anim. 2004;26(2):216.
  25. Corona B, Lleonard R, Carpio Y, Uffo O, Martínez S. PCR detection control of DNAs of bovine, ovine-caprine and porcine origin in feed as part of bovine spongiform encephalopathy program. Spanish J of Agricultural Research. 2006;5(3):312-317.
  26. Hernández Y, Lobo E, Martínez S, Zamora L. Evaluación de diferentes métodos de extracción de ADN de micoplasmas para su empleo en el diagnóstico por PCR. Rev Salud Anim. 2009;31(2):108-114.
  27. Lobo E, Hernández Y, Vega A, Martínez S. Desarrollo de un sistema de diagnóstico para la detección de micoplasmas en cultivos celulares, sueros y productos biofarmacéuticos. Rev Salud Anim. 2006;28(1).
  28. Espinosa I, Alfonso P, Martínez S. Identificación del gen de la tox en aislamientos cubanos de *Pasteurella multocida* procedentes de cerdos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Rev Salud Anim. 2009;31(3):188-192.
  29. Register KB, Keith DD. Analytical verification of a multiplex PCR for identification of *Bordetella bronchiseptica* and *Pasteurella multocida* from swine. Vet Microbiol. 2006;117:201-210.
  30. Espinosa I, Domínguez P, Lobo E, Alfonso P, Martínez S. Identificación del gen *syl* en aislamientos cubanos de *Streptococcus suis* procedentes de cerdos mediante la reacción en cadena de la Polimerasa (PCR). Rev Salud Anim. 2010;32(1):48-53.
  31. Espinosa I, Báez M, Corona B, Chong D, Lobo E, Martínez S. Molecular typing of *Streptococcus suis* from pigs in Cuba. Biotecnología Aplicada. 2013;30:39-44.
  32. Korawan W, Naoki T, Sumalee P, Achara F, Gottschalk M, Volaluck S, et al. Genetic diversity of *Streptococcus suis* isolated from pigs and humans in Chiang Mai and Lamphun province, Thailand. International Congress Series. 2006; April 1289: 151-154.
  33. Zigong W, Ran L, Anding Z, Hongkui H, Yafeng H, Jing X, et al. Characterization of *Streptococcus suis* isolates from the diseased pigs in China between 2003 and 2007. Vet Microbiol. 2009;137(1-2):196-201.
  34. Taller Nacional de Garrapatas y Hemoparásitos (2008). Universidad Agraria de la Habana.
  35. UE, 2007-Unión Europea (2007). Comunicación de la comisión al consejo, al parlamento Europeo, al comité económico y social europeo y al comité de las regiones. Sobre el informe intermedio relativo a la estrategia en el ámbito de las ciencias de la vida y la biotecnología. SEC (2007) 441. Bruselas.
  36. Corona B. Utilización del gen *msp5* y de la proteína MSP5 recombinante del aislamiento Habana de *Anaplasma marginale* en la detección de la anaplasmosis bovina subclínica. Tribunal de Salud Animal, Cuba. 2004.
  37. Nielsen K, Yu WL, Kelly L, Bermudez R, Rentería T, Dajer A, et al. Development of a lateral flow assay for rapid detection of bovine antibody to *Anaplasma marginale*. J Immunoassay Immunochem. 2008;29(1):10-18.

Recibido: 4-10-2012.  
Aceptado: 23-3-2013.