

# QUIBIOUAS

Revista de Ciencias Químico Biológicas



Enero - Junio 2025

Núm. 3

U N I V E R S I D A D A U T Ó N O M A D E S I N A L O A

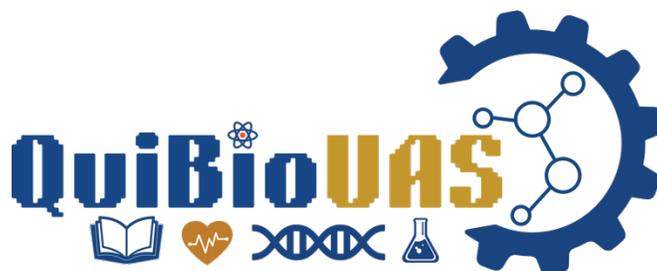


ISSN (en trámite)

# QUIBIOUAS

Número III, 2025. ISSN (en trámite)

<https://revistas.uas.edu.mx/index.php/QBU/index>



# **DIRECTORIO INSTITUCIONAL**

DR. JESÚS MADUEÑA MOLINA

Rector

DRA. NIDIA YUNIBA BRUNN CORONA

Secretaria General

DR. VÍCTOR HUGO AGUILAR GAXIOLA

Director General de Servicio Social

M.C. SERGIO MARIO ARREDONDO SALAS

Secretario Académico Universitario

DRA. MARCELA DE JESÚS VERGARA JIMÉNEZ

Director General de Investigación y Posgrado

DR. EUSIEL RUBIO CASTRO

Director de la FCQB

DRA. MARTHA EDITH LÓPEZ LÓPEZ

Editora en Jefe de la Revista QUIBIOUAS

## COMITÉ EDITORIAL

**DRA. MARTHA EDITH LÓPEZ LÓPEZ**

Profesor Investigador FCQB, SNII Nivel 1  
Editora en Jefe

**DR. CARLOS IVÁN DELGADO NIEBLA**

Profesor Investigador FCQB, SNII Nivel 1  
Editor de Sección y Soporte Técnico

**DRA. MARÍA DE JESÚS NAVARRO ARIAS**

Profesor Investigador FCQB, SNII Nivel 1  
Editor de Sección

**DR. CRISTIAN ALARID GARCÍA**

Profesor Investigador FCQB, SNII Nivel 1  
Editor de Sección

**DRA. LIDIA ELENA AYÓN REYNA**

Profesor Investigador FCQB, SNII Nivel 1  
Corrector de Estilo

**DRA. EVANGELINA GARCÍA ARMENTA**

Profesor Investigador FCQB, SNII Nivel 1  
Corrector de Estilo

**DRA. MARCELA MARTÍNEZ VALENZUELA**

Profesor Investigador FCQB, SNII Candidato  
Corrector de Estilo

**LIC. JUAN ANTONIO ZAMORA LÓPEZ**

Diseño Gráfico-Maquetador

**LIC. HÉCTOR CARLOS LEAL LÓPEZ**

Coordinador General de Soporte Técnico

## COMITÉ CIENTÍFICO

**DR. ROBERTO GUTIÉRREZ DORADO**

Profesor Investigador FCQB, SNI Nivel 1  
<https://orcid.org/0000-0002-3192-1588>

**DRA. PERLA ROSA FITCH VARGAS**

Profesor Investigador Facultad de Ciencias del Mar,  
SNII Nivel 1  
<https://orcid.org/0000-0003-4097-4726>

**DR. JORDI GERARDO LÓPEZ VELÁZQUEZ**

Profesor Investigador en Universidad Tecnológica de  
Culiacán, SNII Nivel 1  
<https://orcid.org/0000-0002-0901-5984>

El Comité Editorial de QUIBIOUAS Revista de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, agradece la colaboración realizada como pares evaluadores doble ciego, a los autores, revisores, así como a los correctores de estilo, editores, maquetador y soporte técnico. Todo el proceso editorial mantuvo siempre la integridad del proceso de evaluación, cuidando la calidad de la revista QUIBIOUAS en su Número 3, enero-junio 2025. El acceso es libre, permitiendo que cualquier persona interesada pueda leer y descargar los artículos sin costo alguno

# CINTILLO LEGAL

QUIBIOUAS No. 3, enero-junio 2025, es una publicación semestral, editada por la Universidad Autónoma de Sinaloa, a través de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas Calzada de las Américas Nte 2771, Cd Universitaria, Burócrata, Culiacán Rosales, Sinaloa. CP. 80013, teléfono 6677520460, página de internet <https://revistas.uas.edu.mx/index.php/QBU/index>, y correo electrónico [editor.quibiouas@uas.edu.mx](mailto:editor.quibiouas@uas.edu.mx). Editora responsable: Dra. Martha Edith López López, Profesora Investigadora Titular C y SNII Nivel 1. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. (en trámite), ISSN: (en trámite en el Instituto Nacional de Derechos de Autor). Responsable de actualizar la publicación: Dra. Martha Edith López López en enero de 2025.

Las opiniones expresadas por los/las/autores/as no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación. Se permite la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación siempre y cuando se cite la fuente original de forma detallada. Cada manuscrito está bajo la licencia Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional.

# CONTENIDO

---

## EDITORIAL

Carta de la Editora en Jefe  
Dra. Martha Edith López López

---

## AVANCES DE INVESTIGACIÓN

---

### **Método analítico multivariable basado en espectroscopía NIR y herramientas quimiométricas para diferenciar entre tequila blanco '100% agave' y 'mixto'**

Multivariable analytical method based on NIR spectroscopy and chemometric tools to differentiate between '100% agave' and 'mixed' white tequila **8-17**  
Pérez-Beltrán C.H.<sup>1\*</sup>, López-León L.<sup>1,2</sup>, Jiménez-Carvelo A.M.<sup>3</sup>, Pérez-Caballero G.<sup>4</sup>, Olmos-Espejel J.J.<sup>5</sup>, Cuevas-Rodríguez E.O.<sup>1,2</sup>

---

### **Prevalencia de lesiones citológicas en derechohabientes del IMSS, 2018-2022**

Prevalence of cytologic lesions in IMSS beneficiaries, 2018-2022 **18-29**  
Capire-Castañeda A.M.<sup>1&</sup>, Rendón-Maldonado J.G.<sup>2&</sup>, Martínez-Salazar M.<sup>3</sup>, Juárez-González K.<sup>4</sup>, Vasquez-Lima C.<sup>5</sup>, Méndez-Martínez R.S.<sup>6\*</sup>, Paredes-Cervantes V.<sup>7</sup>, Payares-Florez S.D.<sup>8</sup>, Valdespino-Vázquez R.<sup>9</sup>, Vázquez-Vega S.<sup>10\*</sup>

---

### **Frecuencia de anticuerpos irregulares en pacientes de un hospital de segundo nivel en la Huasteca Potosina**

Frequency of irregular antibodies in patients from a second-level hospital in the Huasteca Potosina **30-38**  
Rodríguez-García, D.<sup>1,2</sup> y Pérez-García, L.A.<sup>2\*</sup>

---

### **Diseño in silico de una vacuna de ADN contra Toxoplasma gondii basada en los epítomos del antígeno ROP35 específicos para linfocitos B y T CD4+ murinos**

In silico design of a DNA vaccine against Toxoplasma gondii based on ROP35 antigen epitopes specific for murine B and CD4+ T lymphocytes **39-47**  
Velázquez-Escobar, F.M.<sup>1</sup>, Beltrán-López, E.<sup>1</sup>, Vega-Castillo, U.<sup>1</sup>, López-Moreno, H.S.<sup>1\*</sup>

---

### **Evaluación de la cinética de crecimiento y determinación de clorofila de un consorcio del género Scenedesmus empleando diferentes medios de cultivo.**

Growth kinetics evaluation and chlorophyll determination of a Scenedesmus consortium using different culture media **48-59**  
Camacho-Barraza, T.J.<sup>1</sup>, Domínguez-López, A.V.<sup>2</sup>, Ramírez-Medina, J.A.<sup>3</sup>, Luna-Avelar, K.D.<sup>4</sup>, Santos-Ballardo, D.U.<sup>4,5</sup>, Gárate-Osuna, A.J.<sup>6\*</sup>

---

# **CARTA DEL EDITOR**

## **Estimada comunidad de la Química**

Con gran entusiasmo, presentamos la tercera edición de QUIBIOUAS, una revista científica dedicada a la difusión de investigaciones de vanguardia y al fomento del conocimiento en diversas áreas del saber. Desde su fundación, QUIBIOUAS ha buscado ser un puente entre la ciencia y la sociedad, promoviendo un diálogo accesible y enriquecedor entre investigadores, académicos y lectores curiosos de todo el mundo.

En esta edición, reunimos una colección de artículos que exploran temas actuales y relevantes. Cada contribución ha sido rigurosamente revisada por pares, garantizando la calidad y la fiabilidad de la información que presentamos.

Agradecemos a todos los autores y revisores que han dedicado su tiempo y esfuerzo para hacer posible esta edición. Su compromiso con la excelencia académica y su pasión por el conocimiento son la esencia de QUIBIOUAS. También expresamos nuestra gratitud a nuestros lectores, cuya curiosidad y sed de saber nos inspiran a seguir creciendo y mejorando con cada número.

Esperamos que disfruten de esta nueva edición y que los artículos aquí presentados sean una fuente de inspiración y aprendizaje. Que cada página les invite a explorar, cuestionar y descubrir, contribuyendo así al enriquecimiento de nuestro vasto y maravilloso mundo del conocimiento.

**Atentamente**

**Dra. Martha Edith López López**

**Editora en Jefe**

**QUIBIOUAS Revista de Ciencias Químico Biológicas**

# Método analítico multivariable basado en espectroscopía NIR y herramientas quimiométricas para diferenciar entre Tequila Blanco '100% agave' y 'mixto'

Multivariable analytical method based on NIR spectroscopy and chemometric tools to differentiate between '100% agave' and 'mixed' white tequila

Pérez-Beltrán, C.H.<sup>1\*</sup>, León-Lopez, L.<sup>1,2</sup>, Jiménez-Carvelo, A.M.<sup>3</sup>, Pérez-Caballero, G.<sup>4</sup>, Olmos-Espejel, J.J.<sup>5</sup>, Cuevas-Rodríguez, E.O.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Nutracéuticos, Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Calzada de las Américas, Nte. 2771, Ciudad Universitaria, Burócrata, 80030, Culiacán Rosales, Sinaloa, México. <sup>2</sup>Programa de Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos, y Programa de Posgrado Integral en Biotecnología, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, México, CP 80000. <sup>3</sup>Department of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, University of Granada, C/ Fuentenueva, s/n, E-18071 Granada, Spain. <sup>4</sup>Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, campo 4, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlán Izcalli, (México). <sup>5</sup>Laboratorio de Análisis Instrumental y Química Analítica Verde, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

## RESUMEN

El tequila, una de las bebidas espirituosas más representativas de México, ve amenazada su autenticidad por prácticas de adulteración y falsificación, que afectan tanto a los consumidores como a la industria. La distinción entre las categorías de tequila blanco '100% agave' y 'mixto' resulta crucial para garantizar su calidad, valor cultural y comercial. En este estudio se propone un método analítico multivariable basado en espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR) y herramientas quimiométricas para abordar este problema, mediante el uso de modelos matemáticos avanzados, incluyendo análisis de componentes principales (PCA), regresión de mínimos cuadrados parciales (PLSR), k-vecinos cercanos (kNN), análisis discriminante mediante regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS-DA), modelado flexible e independiente por analogía de clases (SIMCA) y sistema de aprendizaje automático mediante vectores soporte (SVM). Los resultados muestran que los modelos SVM y PLS-DA lograron clasificaciones perfectas (sensibilidad, especificidad y precisión = 1), evidenciando su eficacia en la autenticación de las categorías de Tequila. Adicionalmente, el modelo de regresión SVMR demostró un desempeño sobresaliente en la predicción del contenido alcohólico, con un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 1.0. Este enfoque ofrece una alternativa eficiente, rápida y no destructiva frente a los métodos tradicionales de control de calidad, como la cromatografía. Su implementación en la industria tequilera y laboratorios de rutina puede mejorar significativamente la detección de fraudes y garantizar la autenticidad de los productos. Este estudio destaca el potencial de la espectroscopía NIR y la quimiometría como herramientas clave para fortalecer el control de calidad en la industria de bebidas espirituosas.

**Palabras Claves:** Control de calidad, Autenticación, Fraude alimentario, Quimiometría, Espectroscopía infrarrojo cercano.

## ABSTRACT

Tequila, one of Mexico's most representative spirits, is threatened by adulteration and counterfeiting practices that affect both consumers and the industry. The distinction between the categories of '100% agave' and 'mixed' white Tequila is crucial to guarantee its quality, cultural and commercial value. In this study, a multivariate analytical method based on near infrared spectroscopy (NIR) and chemometric tools is proposed to address this problem, using advanced mathematical models, including principal component analysis (PCA), partial least squares regression (PLSR), k-nearest neighbors (kNN), partial least squares regression discriminant analysis (PLS-DA), soft independent modeling of class analogy (SIMCA) and support vector machine learning (SVM). Results show that the SVM and PLS-DA models achieved perfect classifications (sensitivity, specificity and precision = 1), evidencing their effectiveness in the authentication of Tequila categories. Additionally, the SVMR regression model demonstrated outstanding performance in predicting alcohol content, with a coefficient of determination ( $R^2$ ) of 1.0. This approach offers an efficient, fast and non-destructive alternative to traditional quality control methods such as chromatography. Its implementation in the tequila industry and routine laboratories can significantly improve fraud detection and guarantee product authenticity. This study highlights the potential of NIR spectroscopy and chemometrics as key tools to strengthen quality control in the spirits industry.

**Keywords:** Quality control, Authentication, Food fraud, Chemometrics, Near infrared spectroscopy

\*Autor de correspondencia: Christian Hazael Pérez Beltrán

E-mail: [chperez@uas.edu.mx](mailto:chperez@uas.edu.mx)

ORCID ID: [0000-0003-0957-2542](https://orcid.org/0000-0003-0957-2542)

Registro ORCID Autores: LL: [0000-0003-4973-2096](https://orcid.org/0000-0003-4973-2096); JC: [0000-0002-9061-1686](https://orcid.org/0000-0002-9061-1686); OE: [0000-0001-6074-9361](https://orcid.org/0000-0001-6074-9361);

CR: [0000-0001-6648-7323](https://orcid.org/0000-0001-6648-7323); PC: [0000-0003-4567-4634](https://orcid.org/0000-0003-4567-4634)

Enviado: Diciembre 2024

Aceptado: Enero 2025

## INTRODUCCIÓN

El tequila, una de las bebidas espirituosas más emblemáticas de México, es reconocido mundialmente por su calidad, autenticidad y profundo vínculo cultural con el país. Esta bebida se produce a partir de la fermentación y destilación del jugo extraído del agave azul (Agave tequilana Weber var. azul), de acuerdo con estrictas regulaciones que garantizan su autenticidad, tales como la Norma Oficial Mexicana NOM-006-SCFI-2012, vigilada por el Consejo Regulador del Tequila (CRT). Este reglamento especifica los requisitos para etiquetar un producto como "100% agave", en comparación con los tequilas mixtos, que contienen hasta un 49% de azúcares de otras fuentes (CRT, 2016). A pesar de estos controles, la adulteración y falsificación de tequila han aumentado, afectando tanto a la industria como a los consumidores. Por ello, es crucial implementar metodologías analíticas avanzadas que complementen los métodos tradicionales y faciliten una detección rápida y confiable de posibles fraudes (Warren-Vega *et al.*, 2023).

Los métodos analíticos oficiales de control de calidad alimentaria suelen estar basados en técnicas analíticas tradicionales, tales como la cromatografía de gases; usada para la determinación del contenido permitido de aldehídos, metanol y alcoholes superiores en tequilas (NMX-V-005-NORMEX-2018), o la cromatografía de líquidos; utilizada para la determinación de los niveles máximos de furfural en tequilas (NMX-V-004-NORMEX-2018).

La mayoría de las técnicas analíticas tradicionales aplican un enfoque dirigido y requieren ser llevadas a cabo en instalaciones especializadas de manera off-line con un tiempo prolongado de análisis, son de alta complejidad y, a menudo, requieren de un exhaustivo pretratamiento de la muestra. Una alternativa para disminuir estos inconvenientes y aumentar la eficiencia de los análisis de control de calidad alimentario es aplicar un enfoque no dirigido para desarrollar métodos analíticos multivariable (MAM), basados en el uso de técnicas espectroscópicas no invasivas y herramientas quimiométricas, que sean rápidos, confiables, sencillos y que el tratamiento de la muestra sea poco o nulo, para que puedan ser usados como métodos de análisis de cribado (métodos analíticos de vanguardia) para una detección más temprana de posibles fraudes alimentarios (Valcárcel y Cárdenas, 2005).

De esta manera, el uso de técnicas espectroscópicas propicia el desarrollo de estos métodos analíticos de vanguardia que permiten agilizar los análisis de control y aseguramiento de calidad de una mayor cantidad de muestras, dejando las técnicas analíticas tradicionales para el desarrollo de métodos analíticos de retaguardia (Valcárcel y Cárdenas,

2005; Jiménez-Carvelo *et al.*, 2021), como lo son los métodos cromatográficos, utilizados para confirmar ciertos resultados sospechosos de adulteración o falsificación provistos por los métodos de vanguardia.

Entre las técnicas espectroscópicas más exploradas para el control de calidad en la industria alimentaria se encuentran la espectroscopía de infrarrojo medio con transformada de Fourier (FTIR), de infrarrojo cercano (NIR) y/o Raman (Arendse *et al.*, 2021; Tirado-Kulieva *et al.*, 2022), cuyos espectros son habitualmente utilizados para desarrollar de manera individual métodos analíticos multivariable.

En este contexto, la quimiometría ha emergido como una herramienta esencial en el análisis de alimentos y bebidas, permitiendo interpretar grandes volúmenes de datos generados por técnicas instrumentales modernas. Definida como la ciencia que aplica métodos matemáticos y estadísticos para maximizar la extracción de información química (Hibbert, 2016), la quimiometría combina modelos supervisados y no supervisados para clasificar, predecir y evaluar patrones químicos. Su integración con técnicas espectroscópicas, como la espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR), representa una solución innovadora para superar las limitaciones de los métodos analíticos tradicionales, al proporcionar análisis rápidos, no destructivos y más económicos (Arendse *et al.*, 2021).

La espectroscopía NIR se ha consolidado como una técnica versátil en la industria alimentaria y de bebidas, utilizada para evaluar parámetros de calidad, autenticidad y composición química (Pontes *et al.*, 2006; Keong Tan *et al.*, 2023). En ese sentido, también se han empleado diversas técnicas espectroscópicas en la industria tequilera, tales como la ultravioleta visible (UV-Vis) (Contreras *et al.*, 2010), espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) (Pérez-Beltrán *et al.*, 2021) o espectroscopía Raman compensada espacialmente (Pérez-Beltrán *et al.*, 2022).

Cuando se combina con herramientas quimiométricas, como regresión de mínimos cuadrados parciales (PLSR), análisis discriminante mediante regresión PLS (PLS-DA) o máquinas de soporte vectorial (SVM), es posible diferenciar entre productos auténticos y adulterados con una alta precisión (Kolomiets *et al.*, 2010; Fernández-Lozano *et al.*, 2019; Warren-Vega *et al.*, 2023).

El presente trabajo se enfoca en desarrollar y validar un método analítico multivariable basado en espectroscopía NIR y quimiometría para diferenciar entre tequila blanco '100% agave' y 'mixto', así como para predecir su contenido alcohólico. Este enfoque busca proporcionar una

herramienta robusta y eficiente para el control de calidad en la industria tequilera, contribuyendo a la preservación de la autenticidad y calidad de esta bebida icónica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### MUESTRAS

Un total de 55 muestras de Tequila Blanco de distintas marcas fueron empleadas en este estudio, de las cuales 30 pertenecían a la categoría '100% agave' (TB - Tequila Blanco) y 25 a la categoría 'mixto' (TBM - Tequila Blanco Mixto). Dichas muestras fueron otorgadas por el Consejo Regulador del Tequila de México (CRT, 2016).

### Instrumentación

Se utilizó un espectrómetro Frontier IR Dual-Range System, PerkinElmer, equipado con una esfera de integración NIR IntegratIRTM de 50.8 mm (2") de diámetro, PIKE Technologies. Se analizaron 2 mL de cada muestra de Tequila Blanco, sin ningún tipo de tratamiento, los cuales se vertieron en una celda de cuarzo y fueron cubiertos con un émbolo de oro de 1.0 mm de paso óptico para evitar la dispersión de la radiación electromagnética. Las huellas instrumentales NIR se obtuvieron en el rango 10000-4000  $\text{cm}^{-1}$ , usando 16 escaneos, con una resolución nominal de 4  $\text{cm}^{-1}$  y correcciones de fondo entre el análisis de una muestra y otra. Las huellas instrumentales obtenidas fueron transformadas de transmitancia a absorbancia y corregidas manualmente en su línea base en los puntos 10000, 9400.67, 8868.69, 7784.51, 6006.13, 5461.28 y 4000  $\text{cm}^{-1}$ , mediante el software SpectrumTM 10 STD, PerkinElmer. Finalmente, se digitalizaron y exportaron en formato ASC (Action Script).

### ANÁLISIS DE DATOS MULTIVARIABLE

Las huellas instrumentales originales NIR, formadas por 6000 variables cada una (1 dato por  $\text{cm}^{-1}$ ), fueron exportadas a formato MATLAB (Mathworks, Massachusetts, USA, v. R2017b). El conjunto de datos fue dividido en un subconjunto de entrenamiento conformado por 42 muestras (24 TB / 18 TBM) y un subconjunto de validación externa formado por 11 muestras (6 TB / 5 TBM). Dicha selección de muestras se realizó de manera aleatorizada en una proporción 80-20% para cada uno de los subconjuntos previamente mencionados.

Los análisis de datos multivariable fueron llevados a cabo con el software PLS\_Toolbox (v. 8.6.1, 2019, Eigenvector Research In., Manson, WA, USA).

Las herramientas quimiométricas empleadas para el análisis exploratorio fueron análisis de componentes principales (PCA, Principal Component Analysis) y regresión parcial lineal mediante mínimos cuadrados (PLSR, Partial Least Square Regression), mientras que para los estudios de clasificación se emplearon k-vecinos cercanos (kNN, k-Nearest Neighbor), modelado flexible e independiente por analogía de clases (SIMCA, Soft Independent Modeling of Class Analogy), análisis discriminante mediante regresión parcial de mínimos cuadrados (PLS-DA, PLS-Discriminant Analysis) y sistema de aprendizaje automático mediante vectores soporte (SVMs, Support Vector Machines). Para la predicción del contenido alcohólico se utilizó PLSR y regresión mediante SVMR. Asimismo, para los análisis exploratorios se aplicaron conjuntamente los siguientes pre-procesados: filtro Whitaker y 1ª derivada; para los estudios de clasificación se seleccionó el rango 6000-4000  $\text{cm}^{-1}$ , se normalizó (área = 1) y se realizó un centrado en la media; mientras que para la predicción del contenido alcohólico se utilizaron las 6000 variables a las cuales se les aplicó el filtro Whitaker y 1ª derivada como pre-procesado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Tequila contiene una gran variedad de compuestos volátiles (Soto-Romero *et al.*, 2016), como alcoholes superiores, aldehídos, ácidos grasos, ésteres, compuestos azufrados, algunos compuestos fenólicos y hasta antioxidantes, los cuales le otorgan su aroma y sabor, éstos han sido identificados a través de cromatografía de gases (Vallejo-Córdoba *et al.*, 2004; Peña-Alvares *et al.*, 2006) y de líquidos (Bukovsky-Reyes *et al.*, 2018), entre otros métodos analíticos (Warren-Vega *et al.*, 2023). No obstante, el Tequila está constituido mayoritariamente por agua y etanol en proporciones aproximadas de 60% y 40% (NOM-006-SCFI-2012), respectivamente.

La presencia de ambos componentes mayoritarios se puede corroborar en la Figura 1, donde se muestran las vibraciones características de agua y etanol de dos huellas instrumentales de Tequila Blanco, categorías TB (espectro color rojo) y TBM (espectro color verde), obtenidas mediante espectroscopía NIR.

Las intensas bandas alrededor de 7000  $\text{cm}^{-1}$  y 5200  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyen a las bandas características de combinación de  $\nu_1 + \nu_3$  y  $\nu_1 + \nu_3$ , respectivamente, del agua, las cuales están superpuestas con las bandas de combinación del etanol  $2\nu(\text{OH})$  y  $\nu(\text{OH}) + \delta(\text{OH})$ ; mientras que las regiones 6000-5500  $\text{cm}^{-1}$  e inferior a 4500  $\text{cm}^{-1}$  a las vibraciones

$2\times\nu(\text{CH})$  y  $\nu(\text{CH}) + \delta(\text{CH})$  del etanol (Livermore *et al.*, 2003; Pontes *et al.*, 2006; Kolomiets *et al.*, 2010).

Tal como se puede apreciar en la Figura 1, las señales instrumentales de ambas categorías de tequila son muy similares, lo que imposibilita su diferenciación y autentificación a simple vista. Es por ello, que se requiere la aplicación de herramientas quimiométricas que permitan extraer información relevante de dichas señales para lograr su adecuada autentificación, tal como se detalla en los siguientes subapartados.

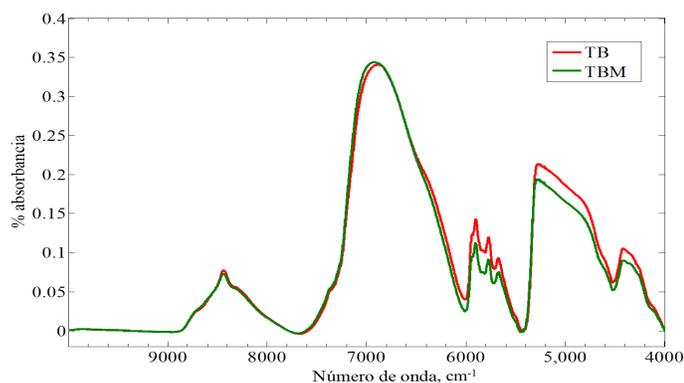


Figura 1. Espectros NIR de Tequila Blanco. TB: '100% agave' y TBM: 'mixto'.

### ANÁLISIS EXPLORATORIO

El análisis exploratorio se llevó a cabo para estudiar el agrupamiento y/o comportamiento natural de este conjunto de datos obtenido de muestras de Tequila Blanco de categorías '100% agave' y 'mixto', y para detectar posibles muestras anómalas. Se realizaron diversos pre-procesados, encontrando que los mejores resultados para estos análisis exploratorios eran obtenidos al aplicar conjuntamente el filtro Whitaker y 1ª derivada.

El primer análisis exploratorio fue llevado a cabo mediante PCA, el cual se construyó con 6 componentes principales (PCs, principal components), mismas que explicaban el 99.2% de la varianza total. Al realizar el análisis de la PC1 vs PC2 y graficar sus puntuaciones (véase Material Suplementario [Figura 1 \(a\)](#)), se observó que las muestras se ordenaban en el plano según su contenido alcohólico, siendo las de menor graduación alcohólica las situadas en la parte inferior y las de mayor graduación alcohólica las situadas en la parte superior. Asimismo, dicha gráfica de puntuaciones propició la detección de dos muestras anómalas (círculos marcados en magenta), las cuales presentaban una señal instrumental distinta en el intervalo 6000-5500  $\text{cm}^{-1}$  ([Figura 1 \(b\)](#)),

debido a que el análisis espectroscópico de dichas muestras se realizó con una cantidad inferior a la requerida, por lo que dichas señales instrumentales fueron excluidas de los siguientes análisis de datos multivariable. La utilización de la herramienta quimiométrica de PCA también fue utilizada por Contreras *et al.* (2010) para desarrollar un modelo con 2 PCs (99.99% de la varianza total), con el cual se obtuvo una clara agrupación de Tequilas Blanco y Tequilas Reposado, lo cual se debió a las características inherentes del proceso de añejamiento sucedido en las barricas de madera, facilitando así dichas agrupaciones. Posteriormente, se realizó un segundo análisis exploratorio mediante PLSR, el cual fue construido con 6 variables latentes (LVs, latent variables), que explicaban el 99.1% y 92.7% de la varianza total en los bloques X e Y, respectivamente, y cuyo gráfico de puntuaciones (LV1 vs LV2) se observa en la Figura 2. En este caso y a diferencia del gráfico de puntuaciones del PCA, se pueden distinguir claramente las agrupaciones de las muestras pertenecientes a ambas categorías de tequila, lo cual demuestra la ventaja del PLSR sobre el PCA debido a su capacidad para capturar tanto la varianza y correlación entre los datos (Wise *et al.*, 2006).

Una vez finalizado el análisis exploratorio, dichos datos fueron empleados en los siguientes análisis de datos multivariable. Dichos resultados son consistentes con otras investigaciones realizadas previamente, aún cuando la técnica espectroscópica fue diferente; por un lado, se utilizó espectroscopía FTIR con fusión de datos (Pérez-Beltrán *et al.*, 2021) y, por el otro, espectroscopía Raman compensada espacialmente (SORS, Spatially Offset Raman Spectroscopy) (Pérez-Beltrán *et al.*, 2022). En ambos estudios la herramienta quimiométrica que mejores agrupaciones mostró fue la de PLS, evidenciando tendencias claras para las categorías de "100% agave" y "mixto" de las muestras de Tequila Blanco.

### ANÁLISIS DE CLASIFICACIÓN

Para la realización de este tipo análisis se emplearon distintas herramientas quimiométricas de análisis supervisado, en las cuales se consideró a la categoría '100% agave' (TB) como clase diana, debido a que es la categoría con mayor valor económico y, por tanto, más propensa a sufrir adulteraciones y/o falsificaciones. Después de un estudio exhaustivo de distintos pre-procesados, se seleccionaron únicamente 2000 variables (6000-4000  $\text{cm}^{-1}$ ) de las 6000 variables originales para eliminar la mayor cantidad posible de interferencia debida a las características bandas de combinación ( $\nu_1 + \nu_3$ ) del agua.

Seguidamente, dichos datos fueron normalizados (área = 1) y centrados en la media. A continuación, se describen los resultados obtenidos para cada uno de los modelos matemáticos.

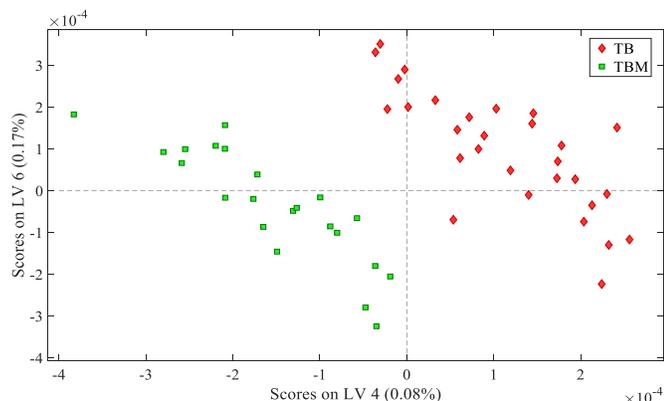


Figura 2. Gráfico de puntuaciones (LV4 vs LV6) de análisis exploratorio mediante PLSR a conjunto de datos de Tequila Blanco '100% agave' (TB) y Tequila Blanco 'Mixto' (TBM).

### SVM

Para la elaboración de este modelo matemático se utilizó la función Kernel de 'base radial' con valores 'gama' y 'costo' comprendidos entre los rangos  $10^{-6}$ - $10$  y  $10^{-3}$ - $10^2$ , respectivamente; así como una compresión adicional mediante PLS con 16 LVs. Se estableció un valor de 0.5 como límite de decisión para la clasificación de las muestras, donde un valor  $> 0.5$  correspondía a las muestras pertenecientes a la clase TB, mientras que valores  $< 0.5$  a muestras pertenecientes a la clase TBM. La gráfica de clasificación, representada por la Figura 3 (a), muestra los resultados de los conjuntos de entrenamiento y validación externa en donde todas las muestras fueron correctamente diferenciadas en sus clases correspondientes. Los resultados de este conjunto de validación se ponen de manifiesto en la tabla de contingencias de validación, expuesta a través de la Figura 3 (b). A diferencia de esta investigación, Contreras *et al.* (2010) utilizaron espectroscopía UV-Vis en conjunto con SVM y PCA para diferenciar entre Tequilas Blancos y Tequilas reposados, obteniendo una clasificación 100% correcta. Por su parte, en el estudio desarrollado por Pérez-Beltrán *et al.* (2022), se utilizó espectroscopía Raman compensada espacialmente y SVM, en donde la diferenciación de las categorías "100% agave" y "mixto" de Tequila Blanco fue 100% correcta, logrando resultados consistentes con esta investigación.

### PLS-DA

El modelo PLS-DA fue construido utilizando 18 LVs, las cuales explicaban el 100% y 98.3% de la varianza acumulada en los bloques X e Y, respectivamente, con un error promedio de clasificación de validación cruzada (RMSECV, Root Mean Square Error for Cross Validation) de 0.604. Al igual que en el modelo SVM, se estableció un límite de 0.5 como criterio de decisión, asociando los valores  $> 0.5$  a muestras de la clase TB y valores  $< 0.5$  a muestras de la clase TBM, tal como se muestra en su gráfica de clasificación, representada por la Figura 4 (a). Asimismo, en ella se aprecia la correcta clasificación de todas las muestras de los conjuntos de entrenamiento y validación externa, cuyos resultados de validación se recopilan en su correspondiente tabla de contingencias en la Figura 4 (b). Dichos resultados, coinciden con los obtenidos por Pérez-Beltrán *et al.* (2021, 2022) en donde el modelo de clasificación de PLS-DA fue capaz de diferenciar correctamente todas las muestras pertenecientes a las dos categorías diferente de Tequila Blanco, evidenciando el potencial que tiene esta herramienta para obtener resultados consistentes independientemente de la técnica espectroscópica utilizada.

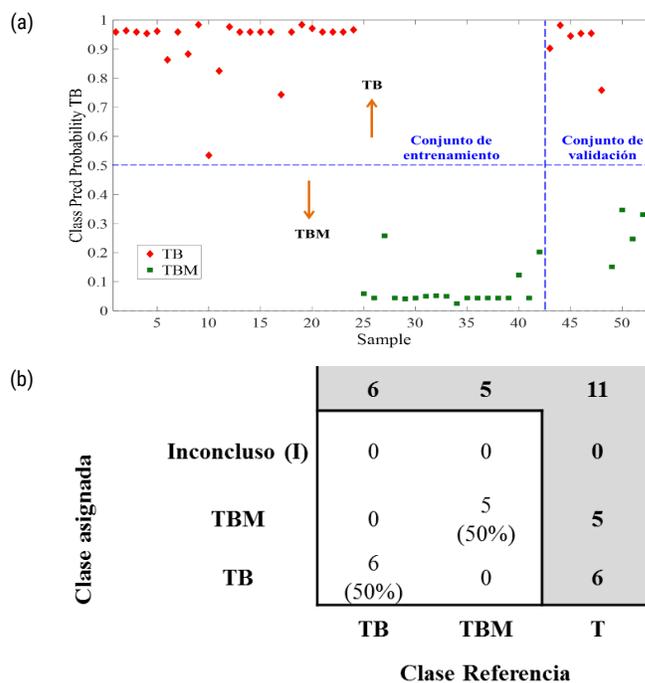


Figura 3. (a) Gráfica de clasificación y (b) tabla de contingencias de validación para el modelo de clasificación SVM. Clase diana: TB-Tequila Blanco '100% agave'; Clase alternativa: TBM-Tequila Blanco 'Mixto'.

### kNN

Para la construcción de este modelo matemático se consideró como número óptimo de vecino un valor de 8 ( $k = 8$ ), con el cual fue posible encontrar una pequeña diferenciación entre ambas clases bajo estudio. El límite de decisión se mantuvo igual que en los modelos SVM y PLS-DA, siendo los valores  $> 0.5$  asociados a las muestras de la clase TB y valores  $< 0.5$  a la clase TBM, tal como se muestra en la gráfica de clasificación del Material Suplementario [Figura 2 \(a\)](#).

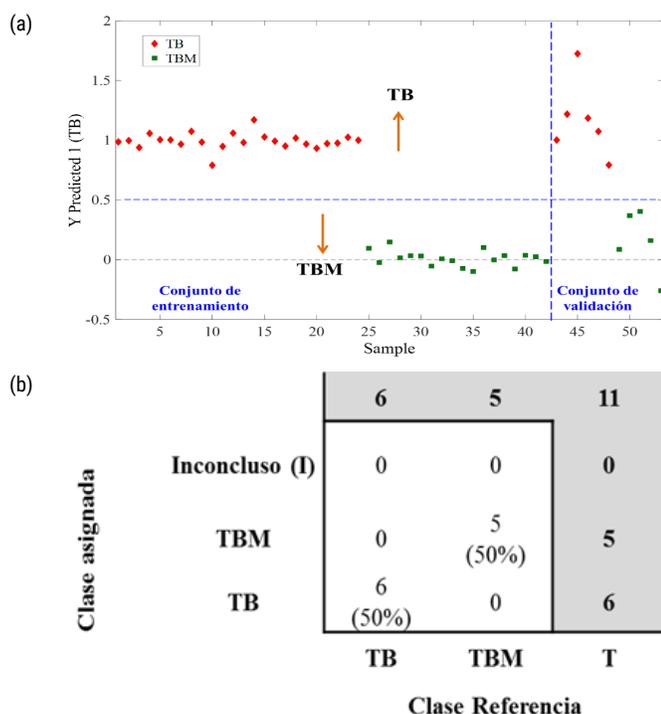


Figura 4. (a) Gráfica de clasificación y (b) tabla de contingencias de validación para el modelo de clasificación PLS-DA. Clase diána: TB-Tequila Blanco ‘100% agave’; Clase alternativa: TBM-Tequila Blanco ‘Mixto’.

En este caso, el modelo matemático presentó dificultades para diferenciar las muestras del conjunto de entrenamiento, lo cual se vio reflejado en la validación del modelo con 3 muestras mal clasificadas (círculos marcados en color magenta). Los resultados que pueden apreciarse en la tabla de contingencias de validación en el [Material Suplementario](#).

### SIMCA

Para encontrar los mejores resultados se estudiaron dos estrategias en la construcción del modelo matemático SIMCA: (i) modelo de

clasificación con dos clases de entrada (2iC-SIMCA), en el cual se utilizaron tanto la clase diána (TB) y la clase alternativa (TBM) para entrenar el modelo, y (ii) modelo de clasificación con una clase de entrada (1iC-SIMCA), en el cual sólo la clase diána fue utilizada para la etapa de entrenamiento del modelo.

A pesar del gran potencial de esta herramienta quimiométrica y de las dos estrategias estudiadas, no fue posible obtener una clara diferenciación de ambas clases de tequila, tal como se aprecia en la gráfica de clasificación del Material Suplementario [Figura 3 \(a\)](#), en donde se muestran los estadísticos  $T^2$  de Hotelling y Q para la clase diána con un nivel de confianza del 95%. Las muestras con valores de  $T^2$  y Q  $< 1$  son asociadas a la clase TB, mientras que las muestras con valores de  $T^2$  y Q  $> 1$  a la clase TBM. Los resultados para el conjunto de validación se pueden apreciar en la tabla de contingencias en el [Material Suplementario](#).

De manera complementaria, se calcularon las cuatro 4 principales métricas de calidad en el desempeño de cada uno de los modelos de clasificación mencionados –sensibilidad (SENS), especificidad (ESPEC), valor predictivo positivo o precisión (PREC) y el valor predictivo negativo (VPN) (Cuadros-Rodríguez *et al.*, 2016) – las cuales se muestran en la Tabla 1. Los mejores resultados, con valores = 1, se obtuvieron con los modelos matemáticos SVM y PLS-DA, seguidos del modelo kNN y por último 1iC-SIMCA.

Tabla 1. Principales métricas de calidad en el desempeño para los modelos de clasificación SVM, PLS-DA, kNN y 1iC-SIMCA.

Métricas	SVM	PLS-DA	kNN	1iC-SIMCA
	Clase diána (TB, Tequila Blanco 100% agave)			
Sensibilidad (SENS)	1.00	1.00	0.83	0.17
Especificidad (ESPEC)	1.00	1.00	0.60	0.40
Valor predictivo positivo o precisión (PREC)	1.00	1.00	0.83	0.33
Valor predictivo negativo (VPN)	1.00	1.00	1.00	0.33

En este sentido, los modelos SVM y PLS-DA son capaces de clasificar correctamente todas las muestras TB y TBM, lo cual se demuestra a través de las métricas SENS y ESPEC = 1, respectivamente. Asimismo, ambos modelos poseen una excelente precisión (PREC = 1), lo cual indica la proporción de muestras TB bien clasificadas con relación a todas las muestras totales asignadas a la clase TB; así como también un excelente VPN = 1, lo cual indica la habilidad de ambos modelos para proveer la proporción de muestras TBM bien clasificadas con relación a las muestras totales asignadas a la clase TBM.

Cabe mencionar que, a pesar de que el modelo kNN clasificó mal solamente una muestra de TB, obteniendo buenos resultados de SENS y

PREC = 0.83 en ambas métricas de calidad, sus resultados de ESPEC = 0.60 indican su falta de habilidad para clasificar muestras de la clase TBM. Por tanto, los modelos matemáticos SVM y PLS-DA arrojan mayor seguridad en los resultados y, por tanto, para su implementación en análisis de rutina y cribado para el control de calidad del Tequila Blanco, ya que son capaces de clasificar ambas categorías correctamente y de "aprender" de los datos que se van incluyendo para aumentar el conjunto de entrenamiento, por lo que la clasificación de nuevas muestras desconocidas será cada vez más confiable. Del mismo modo, se puede concluir que estas dos herramientas quimiométricas son altamente eficaces para la diferenciación de las dos categorías de Tequila Blanco ("100% agave" y "mixto"), lo cual resulta más complicado debido a que las diferencias químicas entre sí son más sutiles, debiéndose solamente al tipo de azúcar utilizado en la fermentación para su elaboración.

Predicción del contenido alcohólico.

de regresión PLSR y SVMR para predecir su contenido alcohólico. El primero de ellos se construyó con 6 LVs, las cuales explicaban el 99.24% y 96.90% de la varianza acumulada en los bloques X e Y, respectivamente, con un RMSEC de 1.481 y  $R^2 = 0.969$  (Figura 5 (a)). El segundo modelo de regresión, SVMR, fue construido utilizando 22 vectores soporte (SVs, support vectors), función Kernel de base radial, y valores óptimos de gama y costo de 0.00032 y 100, respectivamente. Dicho modelo matemático proporcionó un RMSEC de 0.091 y un  $R^2 = 1.0$  (Figura 5 (b)). Además de las métricas de calidad en el desempeño de la predicción del contenido alcohólico comentadas anteriormente, se calcularon otras 5 métricas, sugeridas en las prácticas estandarizadas para la validación de calibraciones multivariable realizadas empíricamente (ASTM E2617, 2017).

Como se puede observar a partir de las métricas de calidad de la Tabla 2, el modelo de regresión SVMR obtuvo mejores resultados que el modelo PLSR en cuanto a los errores que estos modelos pueden presentar al momento de realizar las predicciones. No obstante, el porcentaje de la desviación estándar de los residuos de validación (SDV, Standard Deviation of Validation residuals), el cual hace referencia a la concordancia entre el valor predicho y el valor de referencia, de ambos modelos es muy similar, indicando que las predicciones del contenido alcohólico de ambos modelos son muy próximas entre sí.

Tabla 2. Métricas de calidad en el desempeño de la predicción del contenido alcohólico de muestras de Tequila Blanco mediante SVMR y PLSR.

Métricas	PLSR	SVMR
	Valor (%)	
Coefficiente de determinación ( $R^2$ )	0.969	1.00
Error cuadrático medio (RMSE)	7.21	6.22
Error absoluto medio (MAE)	5.17	3.79
Error absoluto de la mediana (MdAE)	6.16	5.02
Error estándar de validación (SEV)	6.86	6.47
Desviación estándar de los residuos de validación (SDV)	6.47	6.21

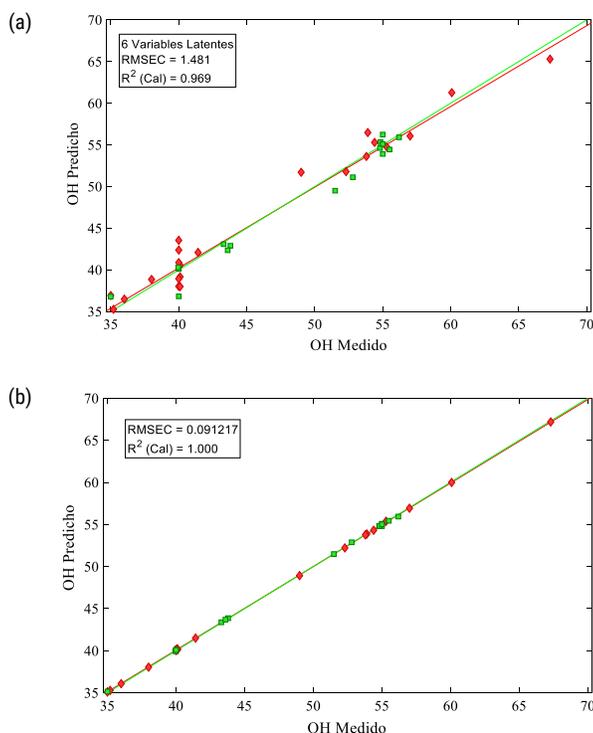


Figura 5. Curvas de calibración para la cuantificación del contenido alcohólico de muestras de Tequila Blanco mediante los modelos matemáticos (a) PLSR y (b) SVMR

El conjunto de entrenamiento estuvo conformado por 38 muestras (22 TB / 16 TBM) y el conjunto de validación externa por 9 muestras (6 TB / 3 TBM), los cuales se utilizaron para construir los modelos matemáticos

### CONCLUSIONES

La adulteración y falsificación de bebidas alcohólicas espirituosas, como el tequila, ha ido en aumento a través de los años, con lo cual se requieren de métodos analíticos auxiliares para agilizar y maximizar la detección de dichas bebidas apócrifas. En este trabajo, se ha desarrollado un método analítico multivariable basado en la espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR) y herramientas quimiométricas para el control de calidad de las categorías '100% agave' y 'mixto' del Tequila Blanco. Las

herramientas quimiométricas con las cuales fue posible obtener información de relevancia de las huellas instrumentales y, por tanto, mejor desempeño fueron SVM y PLS-DA, con las cuales ha sido posible diferenciar entre ambas categorías de Tequila Blanco, logrando una sensibilidad, especificidad, precisión y valor predictivo negativo = 1. Del mismo modo, se desarrolló un modelo matemático para predecir el contenido alcohólico de las muestras, con el cual fue posible obtener un  $R^2 = 1.0$  al utilizar regresión mediante SVMR.

Dichos métodos analíticos multivariados podrían ser implementados en laboratorios analíticos de rutina para agilizar el análisis de muestras y aumentar la detección de bebidas alcohólicas adulteradas o falsificadas, así como también podría ser utilizado en la industria tequilera bajo condiciones reales de producción para agilizar el control de calidad de los productos elaborados en sus instalaciones, ayudando a garantizar su aplicabilidad práctica y confiabilidad en escenarios cotidianos. Este enfoque puede extenderse a la autenticación y control de calidad de otras bebidas alcohólicas, como mezcal, sotol y whisky, enfrentando desafíos similares de adulteración y falsificación, lo cual impacta de manera simultánea en la actualización de normativas nacionales e internacionales, promoviendo estándares modernos de autenticación que incluyan técnicas rápidas, no invasivas y ambientalmente sostenibles.

#### AGRADECIMIENTOS

A.M.J.C. agradece la beca (RYC2021-031993-I) otorgada por MCIN/AEI/501100011033 y "European Union NextGenerationEU/PRTR".

#### DECLARACIÓN DE CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores de este trabajo declaran no tener conflictos de intereses.

#### REFERENCIAS

Arendse, E., Nieuwoudt, H., Magwaza, L. S., Nturambirwe, J. F. I., Fawole, O. A. and Opara, U. L. (2021). Recent advancements on vibrational spectroscopic techniques for the detection of authenticity and adulteration in horticultural products with specific focus on oils, juices and powders. *Food and Bioprocess Technology* 14, 1-22. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02505-x>

ASTM E2617-17. (2017). Standard practice for validation of empirically derived multivariate calibrations. ASTM International.

Bukovsky-Reyes, S. E. R., Lowe, L. E., Brandon, W. M. and Owens, J. E. (2018). Measurement of antioxidants in distilled spirits by a silver nanoparticle assay. *Journal of the Institute of Brewing* 124, 291-299. <https://doi.org/10.1002/jib.496>

Consejo Regulador del Tequila, CRT. (2016). Disponible en: <https://crt.org.mx/>. Acceso: Diciembre 12, 2024.

Contreras, U., Barbosa-García, O., Pichardo-Molina, J. L., Ramos-Ortiz, G., Maldonado, J. L., Meneses-Nava, M. A., Ornelas-Soto, N. E., López-de-Alba, P. L. (2010). Screening method for identification of adulterate and fake tequilas by using UV-VIS spectroscopy and chemometrics. *Food Research International* 43, 2356-2362. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.001>

Cuadros-Rodríguez, L., Pérez Castaño, E. and Ruiz Samblás, C. (2016). Quality performance metrics in multivariate classification methods for qualitative analysis. *Trends in Analytical Chemistry* 80, 612-624. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.04.02>

Fernández-Lozano, C., Gestal-Pose, M., Pérez-Caballero, G., Revilla-Vázquez, A. L., and Andrade-Garda, J. M. (2019). Multivariate classification techniques to authenticate Mexican commercial spirits. In: *Quality control in the beverage industry*, (A. M. Grumezescu & A. M. Holban. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816681-9.00008-4>, eds.), Pp. 259-288. Woodhead Publishing, Elsevier.

Hibert, D. B. (2016). Introduction to multivariate data analysis and chemometrics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 408(9), 2053-2054.

Jiménez-Carvelo, A. M., Martín-Torres, S., Cuadros-Rodríguez, L., González-Casado, A. (2021). Nontargeted fingerprinting approaches. In *Food authentication and traceability*, (C.M. Galankis, ed.), Pp. 163-193. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821104-5.00010-6>

Keong Tan, W., Husin, Z., Luqman Yasruddin, M., Hakim Ismail, M. A. (2023). Recent technology for food and beverage quality assessment: a review. *Journal of Food Science and Technology* 60, 1681-1694. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05439-8>

- Kolomiets, O. A., Lachenmeier, D. W., Hoffmann, U. and Siesler, H. W. (2010) Quantitative determination of quality parameters and authentication of vodka using near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 18, 59-67. <https://doi.org/10.1255/jnirs.866>
- Livermore, D., Wang, Q. and Jackson, R. S. (2003). Understanding near infrared spectroscopy and its applications in the distillery. In *The alcohol textbook, a reference for the beverage, fuel and industrial alcohol industries*, (K.A. Jacques, T.P. Lyons and D.R. Kelsall, eds.), Pp. 145-170. Nottingham University Press. Disponible en: [https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/2993570/mod\\_resource/content/1/The\\_Alcohol\\_Textbook-%204%20Ed.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/2993570/mod_resource/content/1/The_Alcohol_Textbook-%204%20Ed.pdf) Acceso: Diciembre 12, 2024.
- Norma Mexicana NMX-V-004-NORMEX-2018. Bebidas alcohólicas- Determinación de furfural- Métodos de ensayo (prueba). Organismo Nacional de Normalización Sociedad Mexicana de Normalización y Certificación, S.C. Comité Técnico de Normalización Nacional para Bebidas Alcohólicas.
- Norma Mexicana NMX-V-005-NORMEX-2018. Bebidas alcohólicas- Determinación de aldehídos, ésteres, metanol, y alcoholes superiores-Métodos en ensayo (prueba). Organismo Nacional de Normalización Sociedad Mexicana de Normalización y Certificación, S.C. Comité Técnico de Normalización Nacional para Bebidas Alcohólicas.
- Norma Oficial Mexicana NOM-006-SCFI-2012, Bebidas alcohólicas- Tequila-Especificaciones. Comité Consultivo Nacional de Normalización de Seguridad al Usuario, Información Comercial y Prácticas de Comercio (CCNNSUICPC).
- Pérez-Beltrán, C. H., Pérez-Caballero, G., Andrade, J. M., Cuadros-Rodríguez, L., Jiménez-Carvelo, A. M. (2022). Non-targeted spatially offset Raman spectroscopy-based vanguard analytical method to authenticate spirits: White Tequilas as a case study. *Microchemical Journal* 183, 108126. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.108126>
- Pérez-Beltrán, C. H., Zúñiga-Arroyo, V. M., Andrade, J. M., Cuadros-Rodríguez, L., Pérez-Caballero, G., Jiménez-Carvelo, A. M. (2021). A sensor-based methodology to differentiate pure and mixed White Tequilas based on fused infrared spectra and multivariate data treatment. *Chemosensors* 9, 1-13. <https://doi.org/10.3390/chemosensors9030047>
- Peña-Alvares, A., Capella, S., Juárez, R. and Labastida, C. (2006). Determination of terpenes in tequila by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 1134, 291-297. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.09.005>
- Pontes, M., Santos, S., Araujo, M., Almeida, L., Lima, R., Gaião, E. and Souto, U. (2006). Classification of distilled alcoholic beverages and verification of adulteration by near infrared spectrometry. *Food Research International* 39, 182-189. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.07.005>
- Soto-Romero, L., Gutiérrez-Osnaya, L. J. and Trejo-Fragoso, L. (2016) Revisión de los compuestos responsables del olor y sabor del Tequila. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* 1, 910-915. <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/10/157.pdf>
- Tirado-Kulieva, V. A., Hernandez-Martinez, E. and Suomela, J. P. (2022). Non-destructive assessment of vitamin C in food: a review of the main findings and limitations of vibrational spectroscopic techniques. *European Food Research and Technology* 248, 2185 – 2195. <https://doi.org/10.1007/s00217-022-04023-w>
- Valcárcel, M. and Cárdenas, S. (2005). Vanguard-rearguard analytical strategies. *Trends in Analytical Chemistry* 24, 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.07.016>
- Vallejo-Córdoba, B., González-Córdova, A. F. and Estrada-Montoya, M. C. (2004). Tequila volatile characterization and ethyl ester determination by solid phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 5567-5571. <https://doi.org/10.1021/jf0499119>
- Warren-Vega, W. M., Fonseca-Aguñaga, R., González-Gutiérrez, L. V. and Romero-Cano, L. A. (2023). A critical review on the assessment of the quality and authenticity of tequila by different analytical techniques: Recent advances and perspectives. *Food Chemistry* 408, 135223. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135223>

Wise, B. M., Gallagher, N. B., Bro, R., Shaver, J. M., Winding, W. and Koch, R. S. (2006). Chemometrics Tutorial for PLS\_Toolbox and Solo. Eigenvector Research, Inc. Wenatchee, WA, USA.

# Prevalencia de lesiones citológicas en derechohabientes del IMSS, 2018-2022

## Prevalence of cytologic lesions in IMSS beneficiaries, 2018-2022

Capire-Castañeda A.M.<sup>1</sup>, Rendón-Maldonado J.G.<sup>2</sup>, Martínez-Salazar M.<sup>3</sup>, Juárez-González K.<sup>4</sup>, Vasquez-Lima C.<sup>5</sup>, Méndez-Martínez R.S.<sup>6\*</sup>, Paredes-Cervantes V.<sup>7</sup>, Payares-Florez S.D.<sup>8</sup>, Valdespino-Vázquez R.<sup>9</sup>, Vázquez-Vega S<sup>10\*</sup>

<sup>1</sup>Médica residente de tercer año de Medicina Familiar. Unidad de Medicina Familiar No.4 Instituto Mexicano del Seguro Social. CDMX, México. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. Josefa Ortiz de Domínguez y Av. de las Américas S/N, Burócratas, Culiacán, Sinaloa 80010. <sup>3</sup>Doctora en Ciencias. Investigadora Asociada A N49 adscrita a la Coordinación de Atención Oncológica. Instituto Mexicano del Seguro Social. CDMX, México. <sup>4</sup>Médica Familiar, Unidad de Medicina Familiar No. 28 Instituto Mexicano del Seguro Social. CDMX. <sup>5</sup>Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Apartado Postal 70-159, México City 04510, México. <sup>6</sup>Subdirección de Investigación Básica, Instituto Nacional de Cancerología, Av. San Fernando #82, Tlalpan, 2do piso, Torre de Investigación Básica, 14080, Ciudad de México. <sup>7</sup>Laboratorio Central, Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional La Raza, IMSS. <sup>8</sup>Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena, Colombia. <sup>9</sup>Jefe de Área. Coordinación de Vigilancia Epidemiológica. <sup>10</sup>Doctor en Ciencias. Investigador Asociado A N49. Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud. Centro médico nacional siglo XXI. Instituto Mexicano del Seguro Social. CDMX, México.

### RESUMEN

La citología cervical o Papanicolaou (PAP), estudia las células exfoliadas del cérvix, esta prueba revolucionó la salud pública mundial, pues redujo la incidencia y mortalidad por cáncer cervicouterino (CaCu). En México, la incidencia ocupa el quinto lugar con 13.2 por cada 100,000 mujeres, y la prevalencia a 5 años es de 49.8 por cada 100,000 mujeres. Sin embargo, se desconoce la prevalencia con precisión. El objetivo del presente estudio fue describir la prevalencia de las lesiones cervicales en las derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), por grupos de edad y región del país. Se realizó un análisis secundario de datos, capturados de 2018 a 2022, del módulo de CaCu del Registro Institucional de Cáncer (RIC) del IMSS a partir de 3,581,098 registros citológicos únicos de mujeres entre 25 y 95 años. El resultado prevalente fue negativo para lesión (97.5%), el resto fueron sospechosos de lesión cervical (2.5%), de los cuales las lesiones de bajo grado fueron las más prevalentes. El análisis descriptivo mostró que el 27.77 % fueron registros de mujeres de 45 a 54 años. El 32.59% de los registros corresponden al centro del país. En cuanto a los resultados citológicos por año, en el 2018 se reportó la menor prevalencia (4.68%), mientras que la mayor correspondió al 2022 (34.42%). Estos datos permitieron determinar que las lesiones premalignas son prevalentes en el IMSS durante 2018-2022, en comparación con el resto de los resultados citológicos.

**Palabras clave:** Cáncer cervicouterino, Prueba de papanicolaou, Citología, Prevalencia, Análisis de datos secundarios.

### ABSTRACT

Cervical cytology or Papanicolaou (PAP), which studies the exfoliated cells of the cervix, has revolutionized public health worldwide by reducing the incidence and mortality from cervical cancer (CaCu). In Mexico, the incidence ranks fifth with 13.2 per 100,000 women, and the 5-year prevalence is 49.8 per 100,000 women. However, the precise prevalence is unknown. The aim of the present study was to describe the prevalence of cervical lesions in female beneficiaries of the Mexican Social Security Institute (IMSS), by age group and region of the country. A secondary analysis of data, captured from 2018 to 2022, from the CaCu module of the IMSS Institutional Cancer Registry (RIC) was performed from 3,581,098 unique cytology records of women aged 25 to 95 years. The prevalent result was negative for lesion (97.5%), the rest were suspicious for cervical lesions (2.5%), of which low grade lesions were the most prevalent. The descriptive analysis showed that 27.77% were records of women aged 45 to 54 years. The 32.59% of the records correspond to the center of the country. Regarding cytological results by year, the lowest prevalence was reported in 2018 (4.68%), while the highest corresponded to 2022 (34.42%). These data allowed determining that premalignant lesions are prevalent in IMSS during 2018-2022, compared to the other cytological results.

**Keywords:** Cervical cancer; Papanicolaou test; Cytology; Prevalence, Secondary data analysis.

## INTRODUCCIÓN

### EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER CERVICOUTERINO

En el mundo, según el Observatorio Global de Cáncer (GLOBOCAN), en el 2022 el CaCu ocupó el octavo lugar en términos de incidencia, con 662,301 nuevos casos diagnosticados, lo que equivale a 14.1 por cada 100,000 mujeres. En cuanto a su prevalencia en América del Norte a cinco años, se registraron 20,889 casos, es decir, 16.5 por cada 100,000 mujeres. Además, este tipo de cáncer fue el noveno lugar como causa de mortalidad, con 348,874 muertes al año, lo que representa 7.1 por cada 100,000 mujeres (Cancer Today, 2022).

En México, el sistema de salud posee dos programas de tamizaje para la detección oportuna para distintos tipos de cáncer que afectan a las mujeres mexicanas (cáncer de mama y cáncer de cérvix). La mastografía es el principal método de tamizaje para cáncer de mama, y la citología cervical o PAP, ha sido durante mucho tiempo el principal método de detección y control del CaCu, pero la detección del Virus de papiloma humano de alto riesgo oncogénico (VPH-AR) ha ganado cada vez más importancia. (Barquet-Muñoz *et al.*, 2024). En México, de acuerdo con los datos del GLOBOCAN (2022), el CaCu ocupa el quinto lugar en incidencia, con 10,348 nuevos casos reportados, lo que equivale a una tasa de 13.2 por cada 100,000 mujeres. La prevalencia a cinco años se estima en 33,441 casos, lo que representa 49.8 por cada 100,000 mujeres (Cancer Today, 2022). En términos de mortalidad, nuestro país se posiciona en el noveno lugar con 4,909 mujeres fallecidas anualmente a causa de esta enfermedad, lo que se traduce en una tasa de 6.2 por cada 100,000 mujeres. Estos datos subrayan la importancia de implementar y fortalecer programas de tamizaje para mejorar la detección y tratamiento del CaCu en la población femenina mexicana (Cancer Today, 2022). En nuestro país, el CaCu es una prioridad en atención a la salud, pues es causa de mortalidad de mujeres en edad reproductiva y productiva, especialmente en áreas con recursos limitados y menor acceso a servicios de salud (Torres-Roman *et al.*, 2022).

En el IMSS, la citología cervical con tinción de Papanicolaou es la prueba de detección estándar para identificar lesiones precursoras de cáncer, y en algunos casos se complementa con la prueba de detección de Virus del Papiloma Humano (VPH) (Barquet-Muñoz *et al.*, 2024). Datos del IMSS, correspondientes al 2023, indican que el comportamiento de la incidencia del CaCu en 2019 tuvo un incremento, en comparación a 2018, de 6.5 a 7.5 casos por cada 100,000 derechohabientes, sin embargo, en 2020 se observó una disminución a 4.0 casos por cada 100,000 derechohabientes, probablemente por la pandemia de coronavirus SARS-CoV-2, que obligó a la disminución de la atención médica de otros padecimientos, para enfocarse en la

COVID-19 (Wentzensen *et al.*, 2021). Durante el 2021, se observó un incremento con cifras semejantes a las presentadas antes de la pandemia, reportando una tasa nacional de incidencia de 6.1 casos de CaCu por cada 100,000 derechohabientes, y en el 2022 de 8.2 casos por cada 100,000 derechohabientes, mientras que para el 2023 fue de 8.7 casos por cada 100,000 derechohabientes (Wentzensen *et al.*, 2021). En este mismo año, los órganos de operación administrativa desconcentrada (OOADs) o delegaciones del IMSS, reportaron que la incidencia más alta de CaCu, fue en Zacatecas (31.5%), Veracruz Norte (24.1%), Yucatán (18.6%), Colima (18.6%), y Tabasco (17.6%), mientras que la menor incidencia la reportaron Nayarit (1.5%), Guerrero (2.4%), CDMX Norte (2.5%), Tlaxcala (4.5%) y México Oriente (4.6%) (Coordinación de Vigilancia Epidemiológica, 2024).

### CITOLOGÍA CERVICAL Y TAMIZAJE

La citología cervical, con tinción de Papanicolaou estudia las células exfoliadas de la unión escamocolumnar del cuello uterino, para identificar alteraciones compatibles con lesiones; premalignas o malignas, del cérvix (Boon *et al.*, 2022). Las primeras pruebas fueron llevadas a cabo por George Papanicolaou en 1928, y en la década de 1940 comenzó a usarse ampliamente en el ámbito médico, desde entonces ha sido el principal método de detección temprana del CaCu. Esta prueba revolucionó la salud pública mundial, al permitir la identificación temprana de cambios celulares precancerosos, lo que ha reducido significativamente la incidencia y mortalidad por CaCu (Wentzensen & Clarke, 2021).

Para el reporte de los resultados citológicos se han elaborado un sinnúmero de clasificaciones, actualmente los hallazgos se reportan mediante la clasificación de Bethesda 2014, que cataloga las alteraciones como atipia celular en células escamosas ASC (células escamosas atípicas), en dos modalidades; ASC-US (células escamosas de significado indeterminado), y ASC-H (células escamosas atípicas que no descartan la presencia de una lesión de alto grado). Las lesiones escamosas son definidas como lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LIEBG) y de alto grado (LIEAG), la LIEBG presenta cambios citológicos o histológicos que se caracterizan por la presencia de células coilocíticas en el epitelio cervical, y generalmente se resuelven de manera espontánea. Las LIEAG, tienen alteraciones celulares que se limitan al epitelio cervical, sin invasión del estroma por ruptura de la membrana basal (Zur Hausen, 1996). Las lesiones malignas pueden ser de tipo escamoso o glandular, denominándoseles CaCu o adenocarcinoma (Ad CaCu). En el caso de las células glandulares, se incluyeron las siguientes clasificaciones: AGC (células glandulares atípicas) y AGUS (células

glandulares atípicas de significado indeterminado) (Bergeron, 2003; Pangarkar, 2022).

Por otro lado, en relación al reporte de los resultados citológicos, también se utiliza la terminología de la clasificación de Richart (1968) en la que citologías que presentan alteraciones premalignas o malignas, son denominadas como neoplasia intraepitelial cervical (NIC) que se dividen en las siguientes categorías: 1) NIC 1: lesión intraepitelial de bajo grado (displasia leve). 2) NIC 2: lesión intraepitelial de grado moderado y 3) NIC 3: lesión intraepitelial de alto grado, con sospecha de invasión al estroma (Richart, 1967; Safaeian *et al.*, 2007). Además, la citología informa sobre el estado hormonal de la paciente, y la presencia de microorganismos (Sellors & Sankaranarayanan, 2003). La fortaleza de la citología cervical se basa en décadas de experiencia en su uso, bajo costo, alta especificidad (86 % al 100 %), y que las lesiones identificadas pueden ser tratadas (Wentzensen y Clarke, 2021), aunque los valores de sensibilidad son desalentadores (30% al 87%) (Scott *et al.*, 2001). El PAP, se indica a mujeres en edad productiva y reproductiva, y principalmente en quienes nunca se lo han realizado o que tengan factores de (Mayorga-Bautista *et al.*, 2023). La finalidad del tamizaje de CaCu, es reducir la morbilidad y mortalidad por esta malignidad. El punto de equilibrio de la prueba de tamizaje que se utilice, está en identificar las lesiones precursoras con mayor probabilidad de progresar a CaCu invasor. En México, desde 1962, el tamizaje se ha realizado mediante la prueba de PAP, el cual adquirió el carácter de Programa Organizado a partir de 1973 (Mendoza, 2017). En la actualidad, las muestras de citología cervical o PAP son tomadas en la Unidad de Medicina Familiar (UMF), y son enviadas a los laboratorios de citología para su análisis e interpretación. Las mujeres con resultados anormales son referidas a las clínicas de colposcopia para corroborar el diagnóstico o para iniciar tratamiento. El tamizaje poblacional tiene los siguientes criterios: mujeres de 25 a 64 años de edad y periodicidad trienal. Por otro lado, la cobertura de PAP de primera vez en el IMSS, se ha incrementado al pasar de 2007 a 2012 de 25.7% (2,245,064) a 32.8% (3,230,878) (Coordinación de Vigilancia Epidemiológica, 2024).

En México, la norma oficial NOM-014 de CaCu (Secretaría de Salud, 2007), describe las acciones para controlar esta enfermedad, recomendaciones similares que también siguen organizaciones internacionales de salud como la Fuerza de Trabajo de Servicios Preventivos de los Estados Unidos (USPSTF) y las Guías de Tamizaje para la Prevención y Detección Temprana de CaCu de la OMS, por lo que el tamizaje primario de CaCu, con PAP es aceptado a nivel mundial (Saslow *et al.*, 2012). Es decir, la importancia del PAP en la reducción de la mortalidad por CaCu ha sido probada en

varios lugares (Lazcano-Ponce *et al.*, 2008). En nuestro país, un estudio con modelos de regresión lineal mostró que la disminución en la tasa de mortalidad es proporcional al aumento en la cobertura con PAP, y la reducción de la tasa de nacimientos (Lazcano-Ponce *et al.*, 2008).

Considerando el registro de enfermedades malignas que afectan a la población de nuestro país, han habido varias iniciativas (Brau-Figueroa *et al.*, 2020), por lo que se cuenta con experiencia en registros, sin embargo, estos registros aún enfrentan dificultades como la falta de personal, presupuesto e infraestructura adecuada, limitantes que se deben resolver para tener registros con estándares de calidad internacional. En el IMSS, actualmente se cuenta con el Registro Institucional de Cáncer (RIC), y a nivel nacional se ha creado la Red Nacional de Registro de Cáncer (IMSS, 2017). Los registros, como el de CaCu, son fundamentales pues de esta manera se podrá definir las necesidades para controlar esta malignidad, al obtener información verídica y actual sobre la incidencia y prevalencia del CaCu, específicamente en las derechohabientes del IMSS (Canfell, 2019).

La prevalencia, es una medida epidemiológica importante para la planeación de recursos, pues es influenciada por múltiples factores, incluyendo aspectos demográficos, tasas de vacunación, acceso a los servicios de salud, calidad de los registros de casos, entre otros. En consecuencia, la prevalencia de lesiones premalignas y malignas del cérvix reportada en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), debe tomarse con cautela, al no tener información confiable, y control en la población afectada. El objetivo del presente estudio fue describir la prevalencia de las lesiones cervicales premalignas y malignas por grupos de edad y región del país (OOAD o delegación), reportadas en el módulo de CaCu del RIC del periodo 2018-2022.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### TIPO DE ESTUDIO Y CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN

Estudio ecológico en el que se llevó a cabo el análisis secundario de datos, correspondientes a los años 2018 a 2022 de los registros citológicos de CaCu del RIC. La investigación fue realizada en la Unidad de Investigación Epidemiológica y Servicios de Salud (UIESS), con la colaboración de la Coordinación de Vigilancia Epidemiológica y de la Coordinación de Atención Oncológica. Los criterios de inclusión fueron; registros únicos de mujeres entre 25 y 95 años, de las 35 OOADs del IMSS. Los criterios de exclusión fueron; registros duplicados, sexo masculino, edad fuera del rango, y fechas inválidas. Los criterios de eliminación fueron; registros que no tenían descripción citológica, así como aquellos con delegación incorrecta.

Tabla 1. Prevalencia de negativos a lesión con datos de inflamación y de sospechosos a lesión cervical de 2018 a 2022

Datos demográficos		Casos 3,581,098	Prevalencia (%)	Tasa de prevalencia*	
RESULTADOS CITOLÓGICOS	<b>NEGATIVO A LESIÓN CON DATOS DE INFLAMACIÓN</b>	<b>3 492 835</b>	<b>97.5</b>	<b>97 535</b>	
	<b>SOSPECHOSOS DE LESIÓN CERVICAL</b>	<b>88 263</b>	<b>2.5</b>	<b>2 465</b>	
	ASC-US y ASC-H	22 849	25.9		
	LESIONES PREMALIGNAS	<b>LIEBG</b> <b>LIEAG</b>	<b>49 819</b> 13 848	<b>56.4</b> 15.7	<b>56 400</b> 15 700
	<b>MALIGNAS</b>	<b>1 747</b>	<b>2</b>	<b>2 000</b>	
GRUPO ETARIO	25-34	724 408	20.23	20 200	
	35-44	811 582	22.66	22 700	
	<b>45-54</b>	<b>994 414</b>	<b>27.77</b>	<b>27 800</b>	
	55-64	841 495	23.5	23 500	
	<b>65-95</b>	<b>209 199</b>	<b>5.84</b>	<b>5 800</b>	

\*Tasa de prevalencia a 5 años por cada 100 000 mujeres. Los valores en negritas indican los más altos y bajos. ASC-US; Atipias celulares del cérvix de significado indeterminado. ASC-H; Atipias celulares del cérvix que no descaerta lesión de alto grado. LIEBG; Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado. LIEAG; Lesión intraepitelial escamosa de alto grado.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables independientes, y la variable dependiente se analizaron descriptivamente y expresaron mediante frecuencias y porcentajes. Las independientes fueron; edad en grupos etarios, y OOAD de procedencia. La dependiente fue el resultado citológico reportado, de acuerdo a la solicitud de citología cervical del IMSS, donde el resultado se describe como; negativo a lesión cervical con datos de inflamación, atipias celulares del cérvix, lesiones premalignas de bajo y alto grado, cáncer epidermoide y adenocarcinoma. El análisis de los datos se realizó utilizando *Python Software Foundation License* y SPSS V. 27 IBM (*International Business Machines Corporation*).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### PREVALENCIA DE NEGATIVOS A LESIÓN CON DATOS DE INFLAMACIÓN Y DE SOSPECHOSOS A LESIÓN CERVICAL DE 2018 A 2022

El RIC es una herramienta electrónica creada en el IMSS en el 2015, a la fecha contiene información de cinco tipos de cáncer. Respecto al CaCu, en este registro se recopilan y clasifican todos los casos; tanto nuevos, como existentes de las derechohabientes, siendo posible obtener la prevalencia. Sin embargo, en el RIC no se distingue entre casos incidentes, y prevalentes, por lo que se sugiere crear las variables; casos incidentes, y casos prevalentes, para poder calcular la incidencia.

El análisis de la información inició con 5,768,260 registros citológicos correspondientes al periodo 2018-2022, posterior a la limpieza de datos se analizaron un total de 3,581,098 resultados citológicos únicos que tuvieron el siguiente comportamiento; citología negativa a lesión con datos de inflamación 3,492,835 casos, prevalencia de 97.5% y tasa

de prevalencia de 97,535 casos/ 100,000 mujeres, y aquellos con sospecha de lesión 88,236 casos, con una prevalencia de 2.5% y una tasa de prevalencia de 2,465 casos/100,000 mujeres (Tabla 1).

El análisis exclusivo de los resultados citológicos sospechosos de lesión cervical, mostró que los 88,263 casos (100%) se distribuyeron de la siguiente forma; citologías atípicas de significado indeterminado (ASC-US, -H) 25.9%, lesiones premalignas; LIEBG fue del 56.4%, seguido de LIEAG con 15.7%, y para las malignas del 2.0% (Tabla 1). En el estudio de [Mayorga-Bautista \(2023\)](#), no consideraron la prevalencia de citologías negativas a lesión con datos de inflamación, ni de citologías con atipia celular (ASC-US y -H), pero reportaron que la prevalencia de las LIEBG fue del 46.4%, del 22.82 % para LIEAG, y el 4.3% para CaCu ([Mayorga-Bautista et al., 2023](#)) prevalencias parecidas a los hallazgos de esta investigación (Tabla 1). No obstante, los resultados de ese estudio no son comparables con los resultados mostrados en este trabajo, ya que en el estudio de [Mayorga-Bautista \(2023\)](#), los resultados corresponden a una población local atendida en la Clínica de displasias de en un hospital general de zona del IMSS, del estado de Querétaro, México, en el año 2020.

Por grupo etario, de los registros de mujeres entre 25 y 95 años de edad de las 35 OOADs del IMSS, las mujeres de 45 a 54 años fueron las que tuvieron la prevalencia más alta de tamizaje (27.77%) con una tasa de 27,800 por cada 100,000 mujeres, seguidas de las mujeres de 55 a 64 años de edad (23.5%) con una tasa de 23,500 por cada 100,000 mujeres, posteriormente por las de 35 a 44 años (22.66%) con una tasa de 22,700 por cada 100,000 mujeres, de las de 25 a 34 años (20.23%) con una tasa de 20,200 por cada 100,000 mujeres y finalmente las de

65 años y más (5.84%) con una tasa de 5,800 por cada 100,000 mujeres (Tabla 1). La detección oportuna del cáncer cervical mediante citología es esencial para todas las mujeres, especialmente aquellas en etapas reproductivas y productivas que de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), la etapa reproductiva de la mujer se define entre los 15 y los 49 años de edad (Herrera-Cuenca, 2017). Mientras que la etapa productiva, que se refiere al periodo en el que son más activas económicamente, puede considerarse desde los 15 hasta los 64 años de edad a nivel global (Organización Internacional del Trabajo, 2024), mientras que en México va de 25 a 54 años de edad (INEGI, 2023). De acuerdo a los grupos etarios analizados, el mayor volumen de información que se registra en el RIC, corresponde a las mujeres incluidas en las etapas reproductiva y productiva de riesgo para CaCu. En el estudio de González-López *et al* (2015), el grupo de edad más frecuentemente tamizado, fue de los 45 a 59 años (31%) independientemente del reporte citológico, lo que fue similar a nuestro estudio con 27.77% de 45 a 54 años, sin embargo, hay que considerar que en el estudio de González-López *et al* (2015) sólo se analizaron datos locales de Jalisco, de 3 años y el nuestro fue de 5 años a nivel nacional (González-López *et al.*, 2015).

El hecho de que el 97.5% de las citologías cervicales fueran negativas a lesión con datos de inflamación, sugiere al menos dos escenarios; en primer lugar, considerando la sensibilidad del PAP (30% al 87%), es posible que aproximadamente el 50% de los resultados sean falsos negativos, aun cuando su especificidad es alta (86% al 100%) (Barquet-Muñoz *et al.*, 2024), y en segundo lugar, las derechohabientes IMSS, son una población que acude regularmente a la UMF para la realización de revisión ginecológica y toma de PAP (IMSS, 2023), lo que les da la característica de tener tamizajes frecuentes (Alonso de Ruiz *et al.*, 2005), por lo que posiblemente la prevalencia de negativos a lesión cervical con datos de inflamación reportados en el RIC no sea del todo cuestionable, hipótesis que tendría que comprobarse. Otro aspecto que puede participar en la elevada prevalencia de citologías negativas a lesión cervical, es el hecho de que el PAP pasa por un proceso de multietapas para su evaluación, quedando vulnerables a errores de diferente naturaleza, por ejemplo; inadecuada técnica en la toma del raspado de células cervicales, accidentes en el transporte de las citologías de la UMF al módulo de citología, errores en el procesamiento de las muestras, y errónea interpretación de las mismas (Toro de Méndez & Azuaje de Inglessis, 2022). Por otro lado, en este trabajo no fue posible estimar falsos positivos, falsos negativos o las proporciones atribuidas a un procesamiento deficiente de la muestra, como en el caso de Mendoza (2017), quien reportó que el 15% de los errores en citología cervical pueden ser atribuidos a una

interpretación citológica errónea, en tanto que un 64% puede deberse al mal procesamiento y toma de la muestra. Además, indica que del 10 al 54% fueron falsos negativos, entre el 0 al 52% fueron falsos positivos, y del 18.5% - 22.2% no fue posible emitir resultado citológico alguno (Mendoza, 2017). Estimaciones que deberían poder calcularse con la información registrada en el RIC para que los tomadores de decisiones en políticas de salud cuenten con información veraz.

#### PREVALENCIA, Y TASA DE PREVALENCIA A 5 AÑOS (2018-2022) POR RESULTADO CITOLÓGICO Y GRUPO ETARIO: ANÁLISIS DE LA TOTALIDAD DE DATOS

La prevalencia a 5 años, calculada a partir de 3,581,098 registros citológicos totales, se distribuyó de la siguiente forma; las citologías con resultado negativo a lesión con datos de inflamación fueron del 97.5%, con una tasa de 97,535 casos / 100,000 mujeres. Para las atipias celulares del cérvix (ASC-US y ASC-H), la prevalencia fue de 0.64%, con una tasa de 640 casos/ 100,000 mujeres. Para LIEBG la prevalencia fue de 1.39%, con una tasa de 1390 casos/100,000 mujeres. Mientras que para LIEAG fue de 0.38%, con una tasa de 380 casos/100,000 mujeres. Finalmente, para CaCu, la prevalencia a 5 años fue de 0.05%, con una tasa de 50 casos / 100,000 mujeres (Tabla 2). Posterior a una exhaustiva revisión de literatura, sobre la prevalencia y tasa por 100,000 mujeres a 5 años de; citologías negativas a lesión con datos de inflamación, ASC- (US y H), LIEBG y LIEAG, no encontramos referencias con las que fuera posible hacer comparaciones, por lo que en este trabajo la información que presentamos es nueva respecto a la prevalencia, y tasa de prevalencia por 100,000 mujeres para estos resultados citológicos a 5 años. Por el contrario, específicamente para CaCu la tasa por 100,000 mujeres a 5 años fue 50 casos (Tabla 2), parecida a la reportada en el GLOBOCAN (2022), en el que indican una una tasa de 49.8 casos por cada 100,000 mujeres (Cancer Today, 2022). En este trabajo la tasa de prevalencia por 100,000 mujeres para CaCu, se calculó a partir del reporte citológico, mientras que en el GLOBOCAN (2022), esta tasa es a partir de casos confirmados de CaCu. Es importante señalar que la información aportada por el Globocan (2022) para CaCu en México, proviene del Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI) de casos confirmados de cáncer, y nuestros datos corresponden a los reportes citológicos de las derechohabientes del IMSS. Esto refleja la necesidad de verificar que el registro de los datos se realice en los establecimientos de salud del IMSS correspondientes, además de una evaluación más profunda de los factores que pueden influir en la variabilidad de las tasas de prevalencia, como infección por VPH 16 y 18, acceso y participación en los programas de tamizaje

**Tabla 2. Prevalencia, y tasa de prevalencia a 5 años (2018-2022) por resultado citológico y grupo etario: análisis de la totalidad de datos**

RESULTADO CITOLÓGICO	Grupo etario	Casos	Prevalencia (%)	Tasa de prevalencia*	Casos	Prevalencia (%)	Tasa de prevalencia*
<b>NEGATIVO A LESIÓN CON DATOS DE INFLAMACIÓN</b>	25-34	700 413	19.56	19 560	3,492,835	<b>97.5</b>	<b>97 535</b>
	35-44	788 586	22.02	22 020			
	<b>45-54</b>	<b>970 742</b>	<b>27.11</b>	<b>27 110</b>			
	55-64	827 405	23.10	23 100			
	65-95	205 689	5.74	5 740			
<b>ATIPIAS CELULARES DEL CÉRVIX (ASC-US, -H)</b>	25-34	4 662	0.13	130	22849	<b>0.64</b>	<b>640</b>
	35-44	5 356	0.15	150			
	<b>45-54</b>	<b>6 803</b>	<b>0.19</b>	<b>190</b>			
	55-64	4 859	0.14	140			
	65-95	1 169	0.03	30			
<b>LESIÓN DE BAJO GRADO</b>	<b>25-34</b>	<b>16 370</b>	<b>0.46</b>	<b>460</b>	49819	<b>1.39</b>	<b>1 390</b>
	35-44	13 645	0.38	380			
	45-54	12 716	0.36	360			
	55-64	5 845	0.16	160			
	65-95	1 243	0.03	30			
<b>LESIÓN DE ALTO GRDO</b>	25-34	2 771	0.08	80	13848	<b>0.38</b>	<b>380</b>
	<b>35-44</b>	<b>3 652</b>	<b>0.10</b>	<b>100</b>			
	<b>45-54</b>	<b>3 642</b>	<b>0.10</b>	<b>100</b>			
	55-64	2 911	0.08	80			
	65-95	872	0.02	20			
<b>MALIGNO</b>	25-34	192	0.01	10	1747	<b>0.05</b>	<b>50</b>
	35-44	343	0.01	10			
	<b>45-54</b>	<b>511</b>	<b>0.01</b>	<b>10</b>			
	55-64	475	0.01	10			
	65-95	226	0.01	10			
<b>TOTAL</b>		3581098	45815.7		3581098	100	

\*Tasa de prevalencia a 5 años por cada 100 000 mujeres. De acuerdo con el resultado citológico, los valores altos son destacados en negritas, tanto en las columnas correspondientes a; grupo etario, casos, prevalencia (%) y tasa de prevalencia por 100,000 mujeres, como los valores correspondientes a los totales de; casos, prevalencia (%) y tasa de prevalencia por 100,000.

(Organización Mundial de la Salud, 2023), factores socioeconómicos, comportamientos sexuales, tabaquismo, estado inmunológico, uso prolongado de anticonceptivos orales, número de embarazos a término (American Cancer Society, 2024), y vacunación contra VPH, entre otros, que permitan realizar mejoras de políticas en salud (Organización Mundial de la Salud, 2023), a partir de datos representativos.

#### PREVALENCIA Y TASA DE PREVALENCIA POR RESULTADO CITOLÓGICO Y GRUPO ETARIO PARA CADA AÑO DEL PERIODO ESTUDIADO

El periodo de 2018 a 2022, mostró que para el 2018, se observó la menor prevalencia de estudios citológicos (independientemente del resultado), siendo de 4.7%, mientras que la mayor prevalencia se observó en 2022 con una prevalencia de 34.4%. En general el

comportamiento de las prevalencias anuales de los resultados citológicos fue en aumento, con excepción del 2020, donde la prevalencia fue de 13.3%, lo que puede estar asociado a las limitantes en la atención de pacientes con padecimientos diferentes a la COVID-19. Finalmente, fue posible observar una tendencia en el incremento anual del registro de datos citológicos en ~ 30 % del 2018 (4.7%) al 2022 (34.4%).

Los resultados citológicos; negativos a lesión cervical con datos de inflamación fueron los más prevalentes en cada uno de los 5 años estudiados, seguido de LIEBG, atipias cervicales (ASC-US y -H), LIEAG y malignas. Considerando las tasas anuales por 100,000 mujeres para CaCu, no se observaron contrastes importantes entre cada año analizado, exceptuando las tasas de los años 2021 y 2022, que fueron de menos de la mitad de lo reportado de 2018 a 2020, la disminución

en la tasa de CaCu en 2021 y 2022, se podría atribuir a que el tamizaje para la detección oportuna de lesiones premalignas ha tenido efecto positivo en la disminución de los casos de CaCu en México. Es posible que en los próximos años, la disminución en la prevalencia y en la tasa de CaCu por 100,000 mujeres, por efecto de la vacunación oportuna contra el VPH pueda ser menor (Alonso de Ruiz *et al.*, 2005) (Tabla 3).

Específicamente, por grupos etarios y resultado citológico, en el periodo de estudio (2018-2022) las mujeres de 45-54 tuvieron la mayor prevalencia de citologías negativas a lesión con datos de inflamación, y de atipias celulares del cérvix. En las mujeres de 25 a 34 años fue más prevalente el resultado LIEBG, mientras que en las mujeres de 35-54 años, fue notoria la prevalencia de las LIEAG, finalmente el grupo etario que incluye a las mujeres de 45 a 64 años tuvieron mayor prevalencia de CaCu (Tabla 3).

En el estudio de González-López *et al* (2015), las muestras con NIC 1 o LIEBG, se presentaron con mayor frecuencia entre los 35 a 59 años. En contraste, en este trabajo, por año de estudio, las LIEBG (NIC 1), fueron más prevalentes en el grupo de 25 a 34 años. Respecto a las NIC 2/NIC3 o LIEAG, alcanzaron su mayor prevalencia entre los 45 a 59 años de edad (González-López *et al.*, 2015), mientras que en esta investigación las LIEAG (NIC 2/ NIC 3) fueron prevalentes en el grupo de 35 a 54 años de edad (Tabla 3). Es evidente que la distribución de los grados de lesión pre maligna del cérvix varía según la edad de las pacientes, la población de estudio, de factores como la infección por VPH de tipos virales oncogénicos, estado inmunológico de la paciente, entre otros. En general, en las pacientes más jóvenes son más prevalentes las lesiones de tipo NIC 1 o LIEBG, mientras que las NIC 2/NIC 3 o LIEAG, son prevalentes en mujeres de mayor edad dentro del rango reproductivo (Seefoó-Jarquín *et al.*, 2023) como lo muestran nuestros resultados.

**CASOS Y PREVALENCIAS POR OOAD Y RESULTADO CITOLÓGICO DE 2018-2022**

De acuerdo a las regiones geográficas de México, conformadas por: Centro Occidente, Centro del País, Noreste, Noroeste y Suroeste, (PROGRAMA SECTORIAL DE COMUNICACIONES Y TRANSPORTES 2001-2006, 2007), el mayor volumen de resultados citológicos provino del Centro del País (32.5%), y el menor volumen de estudios citológicos del Noreste (13.1%) (Figura 1). Por OOADs, el resultado citológico negativo a lesión con datos de inflamación tuvo mayor prevalencia en Morelos (79,902 [99.75%]), por el contrario, la OOAD Tlaxcala tuvo la menor prevalencia de este resultado citológico (13,078 [87.33%]). Respecto a las atipias celulares del cérvix la OOAD con mayor

prevalencia fue Baja California Sur (903 [2.49%]), en contraste la OOAD con menor prevalencia fue Morelos (48 [0.06 %]). Respecto al resultado de LIEBG, encontramos una mayor prevalencia en la OOAD Tlaxcala (1,423 [9.50%]), y la menor prevalencia ocurrió en Morelos (116 [0.14%]). La OOAD Tlaxcala, reportó la mayor prevalencia de LIEAG (259 [1.73%]), y nuevamente la OOAD con la menor prevalencia fue Morelos (25 [0.03%]). Considerando el resultado CaCu, la OOAD Tlaxcala tuvo la mayor prevalencia (25 [0.17%]), mientras que la OOAD Colima tuvo la menor prevalencia (4 [0.01%]). Es importante destacar que las variaciones en las prevalencias de casos registrados por tipo de lesión citológica, entre las diferentes OOADs del IMSS es posible atribuirla, entre otros factores, al subregistro de la información, pues no en todas la OOAD realizan el registro de datos (Tabla 4).



Figura 1. Distribución de las entidades del país de acuerdo con las 5 regiones indicadas en el mapa. En color naranja se resaltan los valores de prevalencia más altos y bajos para cada OOAD por resultado citológico. Elaborado a partir de PROGRAMA SECTORIAL DE COMUNICACIONES Y TRANSPORTES 2001-2006.

Finalmente, los resultados obtenidos muestran que el tamizaje mediante la citología cervical o PAP, en el IMSS sería conveniente reforzarlos con la detección por PCR de los tipos virales de VPH de alto riesgo oncogénico, en particular los VPHs virales 16 y 18, dada la elevada prevalencia de citologías negativas a lesión con datos de inflamación. Además, con fines de investigación básica, que pueda ser trasladada a la clínica, la genotipificación de VPH por técnicas como la secuenciación masiva permitirá la identificación de VPHs de otras familias, como beta o gamma, para establecer relaciones entre los tipos de VPH de diferentes familias y el proceso oncogénico cervical. Así mismo, será posible conocer la incidencia y prevalencia de tipos no descritos en otros trabajos, y su relación con el tipo de lesión cervical y factores de riesgo sociodemográficos (Osuna-Espinoza *et al.*, 2024).

**CONCLUSIONES**

El análisis de los datos secundarios del módulo de citología cervical

Tabla 3. Prevalencia y tasa de prevalencia por resultado citológico y grupo etario para cada año del periodo estudiado

RESULTADO CITOLÓGICO	Grupos de edad	2018			2019			2020			2021			2022		
		Casos	Prevalencia (%)	Tasa de prevalencia*	Casos	Prevalencia (%)	Tasa de prevalencia*	Casos	Prevalencia (%)	Tasa de prevalencia*	Casos	Prevalencia (%)	Tasa de prevalencia*	Casos	Prevalencia (%)	Tasa de prevalencia*
NEGATIVO A LESIÓN CON DATOS DE INFLAMACIÓN	25-34	31 798	19.6	19 600	167 785	20.9	20 900	96 558	20.8	20 800	168 638	19.6	19 600	235 634	19.6	19 600
	35-44	40 023	24.7	24 700	184 632	23.0	23 000	103 625	22.3	22 300	190 382	22.1	22 100	269 924	22.4	22 400
	45-54	40 759	25.1	25 100	202 661	25.2	25 200	122 784	26.5	26 500	246 864	28.7	28 700	357 674	29.7	29 700
	55-64	32 446	20.0	20 000	173 253	21.6	21 600	106 879	23.0	23 000	211 844	24.6	24 600	302 983	25.2	25 200
	65-95	17 156	10.6	10 600	75 027	9.3	9 300	34 030	7.3	7 300	43 149	5.0	5 000	36 327	3.0	3 000
	TOTAL	162 182	96.7	96 700	803 358	97.7	97 700	463 876	97.5	97 500	860 877	97.6	97 600	1 202 542	97.5	97 500
ATIPIAS CELULARES DEL CÉRVIX	25-34	218	20.3	20 300	902	21.1	21 100	661	21.0	21 000	1239	20.2	20 200	1 642	20.0	20 000
	35-44	274	25.5	25 500	1 003	23.5	23 000	737	23.4	23 400	1 390	22.7	22 700	1 952	23.7	23 700
	45-54	293	27.3	27 300	1 210	28.4	28 400	855	27.1	27 100	1 855	30.3	30 300	2 590	31.5	31 500
	55-64	206	19.2	19 200	836	40.7	40 700	682	21.6	21 600	1 358	22.2	22 200	1 777	21.6	21 600
	65-95	84	7.8	7 800	316	7.4	7 400	218	6.9	6 900	287	4.7	4 700	264	3.2	3 200
	TOTAL	1 075	0.6	600	2 054	0.5	500	3 153	0.7	700	6 129	0.7	700	8 225	0.7	700
LESIÓN DE BAJO GRADO	25-34	1 102	33.7	33 700	4048	34.9	34 900	2 235	34.7	34 700	3 722	31.5	31 500	5 263	31.5	31 500
	35-44	942	28.8	28 800	3 221	27.8	21 800	1 675	26.0	26 000	3 203	27.1	27 100	4 604	27.6	27 600
	45-54	748	22.9	22 900	2 680	23.1	23 100	1 589	24.7	24 700	3 155	26.7	26 700	4 544	27.2	27 200
	55-64	326	10.0	10 000	1 267	10.9	10 900	752	11.7	11 700	1 460	12.4	12 400	2 040	12.2	12 200
	65-95	154	4.7	4 700	384	3.3	3 300	185	2.9	2 900	272	2.3	2 300	248	1.5	1 500
	TOTAL	2 170	2.0	2 000	11 600	1.4	1 400	6 436	1.4	1 400	11 812	1.3	1 300	16 699	1.4	1 400
LESIÓN DE ALTO GRADO	25-34	176	17.6	17 600	540	18.5	18 500	367	19.8	19 800	676	20.5	20 500	1 012	21.2	21 200
	35-44	280	28.1	28 100	800	27.4	27 400	465	25.1	25 100	840	25.5	25 500	1 267	26.5	26 500
	45-54	269	27.0	27 000	715	24.5	24 500	487	26.3	26 300	881	26.7	26 700	129 0	27.0	27 000
	55-64	183	18.3	18 300	585	20.0	20 000	379	20.5	20 500	722	21.9	21 900	1 042	21.8	21 800
	65-95	90	9.0	9 000	284	9.7	9 700	155	8.4	8 400	177	5.4	5 400	166	3.5	3 500
	TOTAL	998	0.6	600	2 924	0.4	400	1 853	0.4	400	3 296	0.4	400	4 777	0.4	400
MALIGNO	25-34	10	6.9	6 900	49	11.1	11 100	25	9.4	9 400	52	14.1	14 100	56	10.6	10 600
	35-44	23	16.0	16 000	84	19.0	19 000	55	20.7	20 700	77	20.9	20 900	104	19.8	19 800
	45-54	31	21.5	21 500	128	28.9	28 900	73	27.4	27 400	105	28.5	28 500	174	33.1	33 100
	55-64	38	26.4	26 400	102	23.0	23 000	82	30.8	30 800	95	25.8	25 800	158	30.0	30 000
	65-95	42	29.2	29 200	80	18.1	18 100	31	11.7	11 700	39	10.6	10 600	34	6.5	6 500
	TOTAL	144	0.1	100	433	0.1	100	266	0.1	100	368	0.04	40	526	0.04	40
TOTAL	167 671	4.7	4 700	822 592	23.0	23 000	475 584	13.3	13 300	8824 82	24.6	24 600	1 232 769	34.4	34 400	

\*Tasa de prevalencia por cada 100 000 mujeres

Tabla 4. Casos y prevalencias por OOAD y resultado citológico de 2018-2022

ENTIDAD	NEGATIVO A LESIÓN CON DATOS DE INFLAMACIÓN		ATIPIAS CELULARES DEL CÉRVIX		LESIÓN DE BAJO GRADO		LESIÓN DE ALTO GRADO		MALIGNO		TOTAL
	Casos	%	Casos	%	Casos	%	Casos	%	Casos	%	
AGUASCALIENTES	26891	95.48	545	1.94	571	2.03	143	0.51	14	0.05	28164
BAJA CALIFORNIA	127627	97.87	1350	1.04	1089	0.84	317	0.24	17	0.01	130400
BAJA CALIFORNIA SUR	34483	95.24	903	2.49	701	1.94	107	0.30	11	0.03	36205
CAMPECHE	37233	97.78	139	0.37	459	1.21	241	0.63	5	0.01	38077
CD. MEXICO	338511	96.44	3273	0.93	6985	1.99	1941	0.55	298	0.08	351008
CHIAPAS	44648	95.87	209	0.45	1243	2.67	410	0.88	61	0.13	46571
CHIHUAHUA	111595	97.51	725	0.63	1389	1.21	684	0.60	53	0.05	114446
COAHUILA	158172	97.93	695	0.43	2156	1.33	449	0.28	47	0.03	161519
COLIMA	31691	98.75	112	0.35	183	0.57	101	0.31	4	0.01	32091
DURANGO	64742	97.45	413	0.62	1024	1.54	224	0.34	33	0.05	66436
ESTADO DE MEXICO	457029	97.26	3496	0.74	7315	1.56	1778	0.38	279	0.06	469897
GUANAJUATO	145931	97.74	822	0.55	2039	1.37	422	0.28	87	0.06	149301
GUERRERO	51136	98.02	160	0.31	736	1.41	119	0.23	20	0.04	52171
HIDALGO	73398	95.45	442	0.57	2321	3.02	717	0.93	19	0.02	76897
JALISCO	210264	97.80	1017	0.47	3265	1.52	340	0.16	108	0.05	214994
MICHOACAN	138390	98.17	501	0.36	1642	1.16	393	0.28	49	0.03	140975
MORELOS	79902	99.75	48	0.06	116	0.14	25	0.03	8	0.01	80099
NAYARIT	65017	97.43	430	0.64	547	0.82	704	1.05	32	0.05	66730
NUEVO LEON	283565	99.25	665	0.23	1035	0.36	381	0.13	67	0.02	285713
OAXACA	44060	95.59	640	1.39	1264	2.74	107	0.23	23	0.05	46094
PUEBLA	171205	98.25	620	0.36	1650	0.95	739	0.42	36	0.02	174250
QUERETARO	136697	97.82	582	0.42	1827	1.31	525	0.38	109	0.08	139740
QUINTANA ROO	61643	94.96	1016	1.57	1839	2.83	397	0.61	23	0.04	64918
SAN LUIS POTOSI	98753	97.06	856	0.84	1706	1.68	385	0.38	43	0.04	101743
SINALOA	61704	98.11	453	0.72	575	0.91	144	0.23	16	0.03	62892
SONORA	70702	96.47	629	0.86	1398	1.91	508	0.69	53	0.07	73290
TABASCO	40184	96.72	603	1.45	561	1.35	174	0.42	26	0.06	41548
TAMAULIPAS	22817	97.50	138	0.59	321	1.37	111	0.47	15	0.06	23402
TLAXCALA	13078	87.33	191	1.28	1423	9.50	259	1.73	25	0.17	14976
VERACRUZ NORTE	187816	98.57	743	0.39	1330	0.70	529	0.28	125	0.07	190543
YUCATAN	63289	98.93	93	0.15	381	0.60	182	0.28	26	0.04	63971
ZACATECAS	40662	96.73	340	0.81	728	1.73	292	0.69	15	0.04	42037
<b>TOTAL</b>	<b>3492835</b>	<b>97.54</b>	<b>22849</b>	<b>0.64</b>	<b>49819</b>	<b>1.39</b>	<b>13848</b>	<b>###</b>	<b>1747</b>	<b>###</b>	<b>3581098</b>

del RIC del periodo 2018-2022, permitió conocer que las lesiones premalignas del cérvix uterino en las derechohabientes del IMSS son más prevalentes que las lesiones malignas. Sin embargo, el tamizaje basado en citología cervical tiene el riesgo de pasar por alto citologías con lesiones no identificadas durante la interpretación por el citólogo.

#### AGRADECIMIENTO

Se agradece la participación de Jesús Medina Suastegui y Karla Aquilina Ángeles Domínguez, quienes con su apoyo y dedicación fue

posible realizar este trabajo. Así como el apoyo de la Coordinación de Vigilancia Epidemiológica por su colaboración.

#### DECLARACIÓN DE CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

#### APROBACIÓN DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN Y DE ÉTICA

Aprobado por el comité de investigación y ética R-2022-3605-074

REFERENCIAS

- Alonso de Ruiz, P., Lazcano Ponce, E. C., & Ávila, M. H. (2005). *Cáncer Cervicouterino. Diagnóstico, prevención y control. (Incluye Cd-rom)*. Ed. Médica Panamericana.
- American Cancer Society. (2024). *Factores de riesgo para el cáncer de cuello uterino*. Cancer.org.  
[https://books.google.com/books/about/C%C3%A1ncer\\_Cervicouterino\\_Diagn%C3%B3stico\\_prev.html?hl=&id=RQSZac\\_saPQC](https://books.google.com/books/about/C%C3%A1ncer_Cervicouterino_Diagn%C3%B3stico_prev.html?hl=&id=RQSZac_saPQC)  
<https://www.cancer.org/es/cancer/tipos/cancer-de-cuello-uterino/causas-riesgos-prevencion/factores-de-riesgo.html>
- Barquet-Muñoz, S. A., Arteaga-Gómez, C., Díaz-López, E., Rodríguez-Trejo, A., Marquez-Acosta, J., & Aranda-Flores, C. (2024). Current status and challenges in timely detection of cervical cancer in Mexico: expert consensus. *Frontiers in Oncology*, 14, 1383105. <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2024.1383105>
- Bergeron, C. (2003). *The 2001 Bethesda System*. Salud Publica Mex; Instituto Nacional de Salud Pública.  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0036-36342003000900007&lng=es&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0036-36342003000900007&lng=es&nrm=iso&tlng=en)
- Boon, S. S., Luk, H. Y., Xiao, C., Chen, Z., & Chan, P. K. S. (2022). Review of the Standard and Advanced Screening, Staging Systems and Treatment Modalities for Cervical Cancer. *Cancers*, 14(12). <https://doi.org/10.3390/cancers14122913>
- Brau-Figueroa, H., Palafox, A., & Mohar-Betancourt, A. (2020). El Registro Nacional de Cáncer en México, una realidad. *Mexican Journal of Oncology*, 19(3). <https://doi.org/10.24875/j.gamo.20000030>
- Cancer Today. (2022). <https://gco.iarc.who.int/today/>
- Canfell, K. (2019). Towards the global elimination of cervical cancer. *Papillomavirus Research (Amsterdam, Netherlands)*, 8, 100170. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pvr.2019.100170>
- Coordinación de Vigilancia Epidemiológica. (2024). *Panorama epidemiológico de las Neoplasias Malignas en las mujeres del IMSS 2023*. Scribd.  
<https://es.scribd.com/document/792419116/Panorama-Cancer-Mujeres-IMSS-2023>
- González-López, S., Martínez-Silva, M. G., Hernández-Hernández, D. M., Aguilar-Lemarroy, A., & Jave-Suárez, L. F. (2015). Frecuencia de lesiones epiteliales cervicales reportadas en el Laboratorio Regional de Citología Exfoliativa de Jalisco. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 53(2), 132–139. <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2015/ims152d.pdf>
- Herrera-Cuenca, M. (2017). Mujeres en edad fértil: Etapa crucial en la vida para el desarrollo óptimo de las futuras generaciones. *Anales Venezolanos de Nutricion*, 30(2). <http://www.analesdenutricion.org.ve/ediciones/2017/2/art-5/>
- IMSS. (2017). *Impulsa Fundación IMSS Registro Nacional de Cáncer*. IMSS. <http://www.imss.gob.mx/prensa/archivo/201702/031>
- IMSS. (2023). *Llama IMSS a las derechohabientes realizarse examen de Papanicolaou para prevenir cáncer cervicouterino*. imss.gob.mx. <https://www.imss.gob.mx/prensa/archivo/202308/391>
- INEGI. (2023). *Mujeres y hombres en México 2021-2022*. INEGI. [https://www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod\\_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva\\_estruc/889463907381.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/889463907381.pdf)
- Lazcano-Ponce, E., Palacio-Mejia, L. S., Allen-Leigh, B., Yunes-Diaz, E., Alonso, P., Schiavon, R., & Hernandez-Avila, M. (2008). Decreasing Cervical Cancer Mortality in Mexico: Effect of Papanicolaou Coverage, Birthrate, and the Importance of Diagnostic Validity of Cytology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 17(10), 2808–2817. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-07-2659>
- Mayorga-Bautista, C. D., Hidalgo-Martínez, S. M., Romo-Rodríguez, M. R., & Villareal-Ríos, E. R.-A. O. M. (2023). Concordancia de los hallazgos citológicos, colposcópicos e histológicos en lesiones premalignas del cuello uterino. *Ginecol Obstet Mex*, 91(1), 32–38. doi:10.24245/gom.v91i1.8249
- Mendoza, Z. (2017). Programa de detección del cáncer cervicouterino: políticas públicas y experiencias de los actores que implementan el programa en el estado de Veracruz, México. *Salud Colectiva*, 13(3), 521–535. <http://dx.doi.org/10.18294/sc.2017.1122>
- Organización Internacional del Trabajo. (2024). *Edad productiva en*

- mujeres. International Labour Organization. <https://www.ilo.org/es/home>
- Organización Mundial de la Salud. (2023). *Cáncer de cuello uterino*. Organización Mundial de la Salud. [https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/cervical-cancer?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/cervical-cancer?utm_source=chatgpt.com)
- Osuna-Espinoza, G. E., Méndez-Martínez, R. S., Durán-Pérez, S. A., Báez-Flores, M. E., Vázquez-Vega, S., Osuna-Ramírez, I., & Maldonado, J. G. R. (2024). Frecuencia y distribución de genotipos del virus del papiloma humano en mujeres atendidas en hospitales públicos de Culiacán, Sinaloa. *QUIBIOUAS Revista de Ciencias Químico Biológicas*, 2, 11–22. <https://orcid.org/0009-0007-1399-1543>
- Pangarkar, M. A. (2022). The Bethesda System for reporting cervical cytology. *CytoJournal*, 19, 28. [http://dx.doi.org/10.25259/CMAS\\_03\\_07\\_2021](http://dx.doi.org/10.25259/CMAS_03_07_2021)
- PROGRAMA SECTORIAL DE COMUNICACIONES Y TRANSPORTES 2001-2006. (2007). *Enfoque regional y sustentabilidad*. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/67641/CA-P-08.pdf>
- Richart, R. M. (1967). NATURAL HISTORY OF CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 10(4), 748. [https://journals.lww.com/clinicalobgyn/abstract/1967/12000/natural\\_history\\_of\\_cervical\\_intraepithelial.2.aspx](https://journals.lww.com/clinicalobgyn/abstract/1967/12000/natural_history_of_cervical_intraepithelial.2.aspx)
- Safaeian, M., Solomon, D., & Castle, P. E. (2007). Cervical cancer prevention—cervical screening: science in evolution. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 34(4), 739–760, ix. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ogc.2007.09.004>
- Saslow, D., Solomon, D., Lawson, H. W., Killackey, M., Kulasingam, S. L., Cain, J., Garcia, F. A. R., Moriarty, A. T., Waxman, A. G., Wilbur, D. C., Wentzensen, N., Downs, L. S., Spitzer, M., Moscicki, A.-B., Franco, E. L., Stoler, M. H., Schiffman, M., Castle, P. E., & Myers, E. R. (2012). American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer. *American Journal of Clinical Pathology*, 12(4), 516–542. <https://doi.org/10.1309/AJCP7G94EVRJCG>
- Scott, M., Nakagawa, M., & Moscicki, A.-B. (2001). Cell-Mediated Immune Response to Human Papillomavirus Infection. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. <https://doi.org/10.1128/cdli.8.2.209-220.2001>
- Secretaria de Salud. (2007). *Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-014-SSA2-1994, Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica del cáncer cérvico uterino*. Diario Oficial. [https://ijc.gob.mx/arc/8/II/e/E\\_NOM014.pdf](https://ijc.gob.mx/arc/8/II/e/E_NOM014.pdf)
- Seefoó-Jarquín, P., Sosa-Jurado, F., & Maycotte-González, P. (2023). Panorama epidemiológico de las displasias cervicales en una unidad de primer nivel de atención. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 61(2), 155. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10395894/>
- Sellers, J. W., & Sankaranarayanan, R. (2003). *La colposcopia y el tratamiento de la neoplasia intraepitelial cervical: Manual para principiantes*. Centro Internacional de Investigaciones Sobre El Cáncer Lyon Francia. <https://screening.iarc.fr/colpo.php?lang=3>
- Toro de Méndez, M., & Azuaje de Inglessis, A. B. (2022). Importancia de la adecuación de la muestra citológica en la pesquisa de cáncer de cuello uterino. *Revista Repertorio de Medicina Y Cirugía*, 31(3), 215–222. <http://dx.doi.org/10.31260/repertmedcir.01217372.1085>
- Torres-Roman, J. S., Ronceros-Cardenas, L., Valcarcel, B., Bazalar-Palacios, J., Ybaseta-Medina, J., Carioli, G., La Vecchia, C., & Alvarez, C. S. (2022). Cervical cancer mortality among young women in Latin America and the Caribbean: trend analysis from 1997 to 2030. *BMC Public Health*, 22(1), 113. <http://dx.doi.org/10.1186/s12889-021-12413-0>
- Wentzensen, N., & Clarke, M. A. (2021). Cervical Cancer Screening—Past, Present, and Future. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention : A Publication of the American Association for Cancer Research, Cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 30(3), 432–434. <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-20-1628>

Wentzensen, N., Clarke, M. A., & Perkins, R. B. (2021). Impact of COVID-19 on cervical cancer screening: Challenges and opportunities to improving resilience and reduce disparities. *Preventive Medicine* 151  
<https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2021.106596>

zur Hausen, H. (1996). Papillomavirus infections--a major cause of human cancers. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1288(2).  
<https://doi.org/>

# Frecuencia de anticuerpos irregulares en pacientes de un hospital de segundo nivel en la Huasteca Potosina

## Frequency of irregular antibodies in patients from a second-level hospital in the Huasteca Potosina

Rodríguez-García, D.<sup>1,2</sup> y Pérez-García, L.A.<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Banco de Sangre, Hospital General de Ciudad Valles, Carr. México-Laredo sur Km 7, Lomas de Oxitipia, 79090. Ciudad Valles, S.L.P.

<sup>2</sup> Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Romualdo del Campo 501, Fracc. Rafael Curiel, 79060. Ciudad Valles, S.L.P.

### RESUMEN

Las pruebas de compatibilidad sanguínea requeridas para transfusiones incluyen la tipificación del grupo sanguíneo ABO/Rh, pruebas cruzadas (mayor y/o menor) y la detección de anticuerpos irregulares. Los anticuerpos irregulares pueden desarrollarse en pacientes que han estado previamente expuestos a antígenos de membrana eritrocitaria y, ante una nueva exposición, pueden desencadenar reacciones inmunológicas. Estas reacciones pueden generar efectos adversos en la transfusión, como disminución de la supervivencia de los eritrocitos transfundidos por hemólisis, con severidad que varía de moderada a grave. En este estudio se realizó una revisión retrospectiva de los rastreos de anticuerpos irregulares efectuados durante el año 2021 en pacientes atendidos por el Banco de Sangre del Hospital General de Ciudad Valles. Los resultados mostraron una frecuencia de anticuerpos irregulares del 4%, con anticuerpos identificados como anti-Lewis (25%), anti-E (17%), anti-c (17%), anti-Duffy A (8%) y un 33% sin identificar. Asimismo, los datos evidenciaron una mayor prevalencia de aloinmunización en pacientes de sexo femenino, representando el 83.3% de los casos. El porcentaje de rastreos positivos observado supera la media nacional establecida por la Norma Oficial Mexicana NOM 253-SSA1-2012. La identificación adecuada de pacientes con anticuerpos irregulares disminuye el riesgo de efectos adversos a la transfusión a corto y largo plazo. El conocimiento de los principales anticuerpos irregulares presentes en la población es clave para desarrollar protocolos de transfusión seguros y eficaces en beneficio de los pacientes.

**Palabras claves:** Aloinmunización, Transfusión sanguínea, Compatibilidad eritrocitaria, Banco de sangre

### ABSTRACT

Blood compatibility tests required for transfusions include ABO/Rh blood group typing, crossmatch tests (major and/or minor), and detection of irregular antibodies. Irregular antibodies can develop in patients previously exposed to erythrocyte membrane antigens and may trigger immune reactions upon subsequent exposure. These reactions can lead to adverse transfusion effects, such as reduced survival of transfused erythrocytes due to hemolysis, ranging from medium to high severity. This study conducted a retrospective review of irregular antibody screening performed in 2021 on patients treated at the Blood Bank of the General Hospital of Ciudad Valles. The results showed a frequency of irregular antibodies of 4%, with identified antibodies including anti-Lewis (25%), anti-E (17%), anti-c (17%), anti-Duffy A (8%), and 33% unidentified. Additionally, data indicated that female patients exhibited a higher prevalence of alloimmunization compared to males, accounting for 83.3% of cases. The percentage of positive screenings observed exceeds the national average established by the Mexican Official Standard NOM 253-SSA1-2012. Proper identification of patients with irregular antibodies reduces the risk of adverse transfusion reactions in the short and long term. Understanding the primary irregular antibodies present in the population provides essential guidance for developing safe and effective transfusion protocols to benefit patients.

**Keywords:** Alloimmunization, Blood transfusion, Erythrocyte compatibility, Blood bank

## INTRODUCCIÓN

Las transfusiones de sangre son de vital importancia para una amplia gama de condiciones de salud, principalmente en cirugías, traumatismos masivos y trasplantes; como coadyuvante en tratamiento de tumores y neoplasias sanguíneas. También se utilizan habitualmente en casos de complicaciones con el embarazo y de anemia grave del recién nacido ([Organización Mundial de la Salud, 2020](#)).

La demanda transfusional de la mayor parte de los pacientes que requieren una transfusión sanguínea, se ve resuelta al infundir sangre de aquellos cuyo sistema ABO y Rh (D) es igual que el del paciente. Sin embargo, antígenos de grupos sanguíneos diferentes a estos se pasan por alto, principalmente porque la cantidad de personas que poseen anticuerpos dirigidos contra alguno de ellos es menor ([Alanazi, 2024; Wu et al., 2024](#)).

De acuerdo con la NOM-253-SSA1-2012, un anticuerpo irregular de importancia clínica es una inmunoglobulina plasmática poco frecuente (prevalencia menor del 1%) que puede causar enfermedad a través de diferentes mecanismos ([Diario Oficial de la Federación, 2012](#)). La membrana de los glóbulos rojos contiene muchas proteínas de superficie ancladas y proteínas que atraviesan la bicapa lipídica. Muchas de estas proteínas de superficie son polimórficas y portadoras de los determinantes antigénicos de grupo sanguíneo. La mayoría de los antígenos de los grupos sanguíneos son glicoproteínas y su especificidad está determinada principalmente por el oligosacárido (por ejemplo, ABO) o la secuencia de aminoácidos (por ejemplo, MNS, Kell, Duffy, Kidd, Diego). Cada sistema de grupo sanguíneo representa un solo gen o un grupo de genes homólogos estrechamente vinculados. Existen 41 sistemas de grupos sanguíneos registrados formalmente. Se han identificado y secuenciado los 45 genes responsables de estos sistemas ([Red Cell Immunogenetics and Blood Group Terminology, The International Society of Blood Transfusion \[ISBT\], s.f.](#)). Los anticuerpos clínicamente significativos tienen la capacidad de provocar la destrucción acelerada de los eritrocitos que expresan el antígeno correspondiente. Debido a su especificidad, estos anticuerpos pueden causar enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido, reducir la supervivencia de los eritrocitos transfundidos y desencadenar anemia hemolítica autoinmune. La mayoría de los anticuerpos irregulares clínicamente relevantes son de tipo IgG aunque también pueden presentarse, en menor proporción, como IgM. Entre los más comunes se encuentran los pertenecientes a los sistemas Rh (anti-D, anti-E, anti-c, anti-C, anti-Cw, entre otros), Kell (anti-K, anti-k, anti-Kpa, anti-Kpb, anti-Kpc, anti-Jsa y anti-Jsb), Duffy (anti-Fy<sup>a</sup> y anti-Fy<sup>b</sup>), Kidd (anti-Jk<sup>a</sup> y anti-Jk<sup>b</sup>), Lewis (anti-Le<sup>a</sup> y anti-Le<sup>b</sup>), Lutheran (anti-Lu<sup>a</sup> y anti-Lu<sup>b</sup>), así como anticuerpos

anti-P, anti-P<sub>1</sub>, anti-P<sub>k</sub>, anti-A<sub>1</sub>, anti-M, y anti-N ([Peralta-Martínez et al., 2015](#)).

Según lo establecido en la NOM-253-SSA1-2012, el rastreo de anticuerpos irregulares se debe realizar en aquellos pacientes que, por su diagnóstico e historial clínico, se consideren más propensos a generar dichos anticuerpos, como pueden ser politransfundidos, mujeres con antecedentes de embarazos (o abortos) y aquellos con enfermedades inmunológicas. En pacientes a los que se les haya solicitado transfusión que tengan dichos factores, debe priorizarse el rastreo, pero eso no descarta que pueda realizarse a cualquier paciente independientemente del diagnóstico; por lo tanto, no hay criterios de exclusión, en este trabajo se clasificaron todos los rastreos realizados y reportados en la base de datos para el registro ([Diario Oficial de la Federación, 2012](#)).

Estos anticuerpos eritrocitarios pueden detectarse e identificarse por varias técnicas y su búsqueda constituye una parte crucial en las pruebas inmunológicas pretransfusión de compatibilidad, además de constituirse como fundamentales para el pronóstico, seguimiento y diagnóstico de otros procesos de tipo inmune. El presente trabajo busca determinar la prevalencia de anticuerpos irregulares en pacientes con rastreo positivo realizado por el Banco de Sangre que han sido atendidos en un hospital de segundo nivel que da servicio a la población de la Huasteca de los estados de San Luis Potosí y el norte de Hidalgo y Veracruz, lo que lo convierte en un hospital de concentración de la región.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### TIPO DE ESTUDIO Y POBLACIÓN

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo documental de enero a diciembre de 2021 a los registros de solicitudes de hemocomponentes para transfusión de los pacientes que son atendidos en el Hospital General de Ciudad Valles. De dichos registros se contabilizaron aquellos que cuenten con el estudio para el rastreo de anticuerpos irregulares, para posteriormente clasificarlos en rastreos positivos y negativos; con la información recabada se obtuvo el porcentaje de cada uno de ellos, así como la frecuencia de los anticuerpos irregulares detectados y compararlos respecto al sexo de los pacientes. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Hospital General de Ciudad Valles con número de registro 08/2021.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó estadística descriptiva para los datos obtenidos de la base de datos HemoCod (Sistema completo de gestión de redes de hemoterapia). No hubo criterios de exclusión. Para el análisis se realizó una tabla de

frecuencias de los anticuerpos irregulares encontrados, su distribución por servicio, por sexo y por grupo etario, así como el porcentaje de los grupos sanguíneos correspondiente a los pacientes estudiados en el año 2021 y los grupos sanguíneos de los pacientes con rastreos positivos. Para evaluar las diferencias con respecto al sexo o al grupo sanguíneo de los pacientes que presentaron rastreo de anticuerpos irregulares (RAI) positivo se utilizó una prueba exacta de Fisher considerando un nivel de significancia menor o igual a 0.05. Para evaluar si las características como sexo o grupo sanguíneo presentan una asociación significativa con la presencia de anticuerpos irregulares se realizó un análisis de razón de momios por el método Baptista-Pike y el cálculo del riesgo relativo con la puntuación asintomática de Koopman con el programa GraphPad Prism 8.0.1 para Windows; los gráficos fueron realizados en Microsoft Excel 365.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### FRECUENCIA DE ANTICUERPOS IRREGULARES

El sistema de grupo sanguíneo ABO es el más relevante en el contexto de las transfusiones sanguíneas y los trasplantes de órganos, dado su impacto crítico en la compatibilidad y el éxito de estos procedimientos (Alanazi, 2024; Wu *et al.*, 2024). La compatibilidad en este sistema es esencial para la supervivencia del paciente y el pronóstico clínico. Sin embargo, actualmente resulta prioritario desarrollar protocolos que minimicen el riesgo de aloinmunización mediada por otros sistemas de grupos sanguíneos. En este estudio, se llevó a cabo un análisis retrospectivo con el objetivo de recopilar y organizar información relacionada con el RAI en el Banco de Sangre de un hospital de segundo nivel que brinda atención a la región Huasteca de San Luis Potosí. Según la búsqueda exhaustiva, este es el primer estudio de su tipo realizado en esta región, lo que resalta su relevancia y novedad.

Durante el periodo de estudio, se procesaron 4,619 solicitudes de hemocomponentes pertenecientes a 3,272 pacientes atendidos en el Hospital General de Ciudad Valles, de los cuales el 74.6% fueron mujeres y 25.4% fueron hombres. De estas solicitudes, se registró la realización de una prueba de RAI en 300 casos, de las cuales 12 correspondiente al 4% resultaron positivos. La especificidad del anticuerpo irregular pudo determinarse en ocho pacientes, mientras que en los cuatro restantes no fue posible su identificación. Los datos obtenidos revelan que la frecuencia de anticuerpos irregulares en pacientes atendidos por el Banco de Sangre fue del 4%. Aunque esta frecuencia podría considerarse relativamente baja y supera los valores reportados en otras regiones de México (Mejía-Aguirre *et al.*, 2018). Sin embargo, en otros países de Latinoamérica se han

documentado prevalencias de RAI superiores al 1% (Peralta-Martínez *et al.*, 2015; Bencomo-Hernández *et al.*, 2016; Mosquera-Plata, 2016).

### ASOCIACIÓN DE LOS ANTICUERPOS IRREGULARES CON LAS CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.

La frecuencia de grupos sanguíneos de nuestra población muestra que el grupo más recurrente es el O Rh (D) positivo (81.27%), seguido por el A Rh (D) positivo (12.56%) y el B Rh (D) positivo (4.19%) (Figura 1). Del total de pacientes (n: 12/100%) con anticuerpos irregulares identificados, 10 casos (83.33%) corresponden a mujeres y solo 2 a hombres (16.67%), cuyo rango de edad estaba entre 20 a 69 años (media de 39), concentrando el 41.6% de los pacientes entre 20 a 29 años de edad y el 25% entre los 40 a 49 años (Tabla 1). La frecuencia de grupos sanguíneos muestra que el 92% (n=11) de los pacientes con RAI positivo presentaban sangre O Rh (D) positivo. Con base en estos hallazgos, se infiere que la prueba para la detección de anticuerpos irregulares fue realizada predominantemente en mujeres, siendo la mayoría de ellas portadoras del grupo sanguíneo O Rh (D) positivo (Figura 1, Tabla 1), lo cual es consistente con los datos de prevalencia de grupos sanguíneos del sistema ABO en nuestro país (Peón-Hidalgo *et al.*, 2002), así como la mayor proporción de población femenina en el territorio nacional y regional (INEGI, 2023).

Tabla 1. Clasificación de los pacientes con RAI positivos por grupo etario y por sexo.

Edad (años)	Hombres	Mujeres
20 - 29	0 (0 %)	5 (41.67 %)
30 - 39	0 (0 %)	1 (8.33 %)
40 - 49	0 (0 %)	3 (25 %)
50 - 59	2 (16.67 %)	0 (0 %)
60 - 69	0 (0 %)	1 (8.33 %)
<b>TOTAL</b>	<b>2 (16.67 %)</b>	<b>10 (83.33 %)</b>

En este trabajo se evaluó la posible asociación entre el grupo sanguíneo y el sexo con la presencia de anticuerpos irregulares en los pacientes atendidos durante el periodo de estudio. Los resultados estadísticos indican que no existe una diferencia significativa en la presencia de anticuerpos irregulares entre hombres y mujeres ( $p = 0.9999$ ). Por su parte, los valores de razón de momios (O.R. = 1.372; IC 95%: 0.3045–6.393) y riesgo relativo (R.R. = 1.356; IC 95%: 0.3493–5.452) sugieren una menor probabilidad de que se presenten anticuerpos irregulares en hombres, sin

embargo; la falta de significancia estadística indica que esta diferencia probablemente se deba al azar.

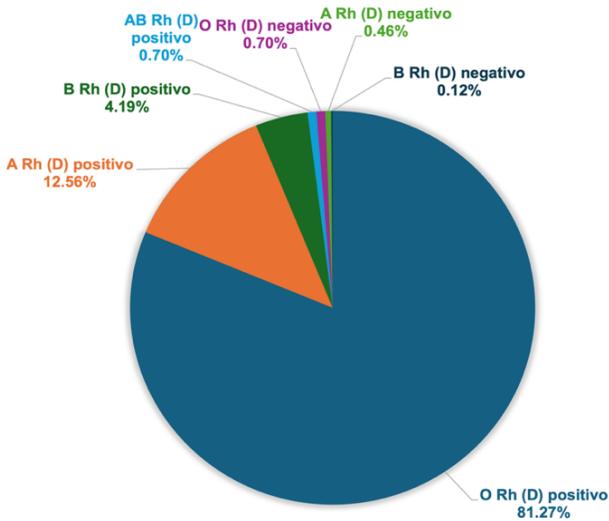


Figura 1. Frecuencia de grupos sanguíneos en pacientes atendidos en el Hospital General de Ciudad Valles. De la base de datos HemoCod se obtuvo la información sobre el grupo sanguíneo del sistema ABO y Rh del total de los pacientes atendidos en el Hospital General de Ciudad Valles durante el periodo de estudio.

De manera semejante, no se encontró una asociación significativa entre el grupo sanguíneo y la presencia de anticuerpos irregulares ( $p = 0.6994$ ). Aunque los resultados muestran que la mayoría de los pacientes con anticuerpos irregulares presentan el grupo sanguíneo O Rh (D) positivo, los valores de razón de momios (O.R. = 2.424; IC 95%: 0.4152–26.64) y riesgo relativo (R.R. = 2.360; IC 95%: 0.4133–14.15) sugieren un mayor riesgo en el grupo sanguíneo O Rh (D) positivo, la falta de significancia estadística indica que este resultado podría deberse al azar (Tabla 2). En ambos casos, un tamaño de muestra más grande podría ayudar a esclarecer esta relación. La diferencia observada, donde se ve una menor frecuencia de anticuerpos irregulares en hombres en comparación con mujeres podría estar relacionada con factores tanto demográficos como clínicos.

En primer lugar, durante el periodo de estudio, aproximadamente el 75% de los pacientes atendidos en el Hospital General de Ciudad Valles fueron mujeres. En segundo lugar, las mujeres tienen mayor exposición a aloinmunización, principalmente durante el embarazo, el parto o en casos de aborto, así como en tratamientos médicos que impliquen transfusiones de concentrados eritrocitarios. Dado que esta respuesta inmunológica puede desencadenarse incluso con una cantidad mínima de eritrocitos, se considera que las mujeres tienen una mayor predisposición a desarrollar anticuerpos irregulares. En varones, el principal factor clínico serían las transfusiones, por lo que otros factores como la exposición inmunológica,

podrían ser más relevantes que el tipo sanguíneo *per se* (Castillo-Macías *et al.*, 2018).

Hasta el momento, la falta de significancia estadística en el análisis de estos resultados nos impide concluir una relación clara sobre la asociación entre el grupo sanguíneo y el sexo con la presencia de anticuerpos irregulares. Sin embargo; se debe tener en cuenta que una posible limitación de nuestro estudio es el tamaño de la muestra, ya que la baja frecuencia de anticuerpos irregulares en la población analizada podría haber afectado la capacidad de detectar asociaciones significativas. Estudios con tamaños muestrales más grandes y un diseño que controle otras variables, como antecedentes transfusionales y gestacionales, podrían proporcionar una mejor comprensión de los factores involucrados en la aloinmunización.

Tabla 2. Asociación entre el sexo y el grupo sanguíneo con la presencia de anticuerpos irregulares.

Variable	$p$ ; OR [IC 95 %]	RR [IC 95 %]
Mujeres/Hombres	0.9999; 1.372 [0.3045 – 6.393]	1.356 [0.3493 – 5.452]
O Rh (D) positivo	0.6994; 2.424 [0.4152 – 26.64]	2.360 [0.4133 – 14.15]

OR: razón de momios; RR: riesgo relativo; IC: intervalo de confianza;  $p$ :  $p$ -valor.

### ESPECIFICIDAD DE LOS ANTICUERPOS IRREGULARES

De los 12 rastreos positivos para anticuerpos irregulares 3 fueron anti-Lewis A (25%), 2 anti-E (17%), 2 anti-c (17%) y uno anti-Duffy A (8%). Los 4 restantes (33%) no fueron identificados y se ingresaron al registro como positivos e indeterminados (Figura 2). Del total de rastreos positivos, la mayoría se registraron en el servicio de módulo máter (58%), seguido por el servicio de cirugía y medicina interna (ambos con 17%) (Figura 3). De acuerdo con la clasificación de los pacientes con RAI positivos por grupo etario y por sexo (Tabla 1), la mayor proporción de estos pacientes se encuentran entre los 20-29 años de edad (41.67%). Esto, aunado a que el 58.3% (7) de los rastreos positivos pertenecía al servicio de módulo máter, indica que las mujeres en edad fértil y con varios embarazos presentaron aloinmunización.

Según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en México el 24% de las mujeres se encuentran en edad fértil entre los 15-29 años, por lo tanto, la atención y acceso a la salud materna e infantil son de especial importancia en este periodo (INEGI, 2023). En la actualidad el promedio de hijos por mujer es de dos; sin embargo, esta cifra no considera los embarazos que terminan en aborto (INEGI, 2023). Esto implica que la

exposición a eritrocitos fetales puede ser mayor de lo que reflejan las estadísticas, lo que incrementa las posibilidades de aloinmunización. Por esta razón, uno de los principales objetivos en el manejo de embarazos subsecuentes es prevenir la sensibilización materna contra antígenos eritrocitarios, a fin de proteger la salud tanto de la madre como del feto. Los anticuerpos IgG producidos por una sensibilización inmunológica (debido a sus características estructurales) pueden atravesar la barrera placentaria y recubrir los eritrocitos fetales que genera (posteriormente), para ser fagocitados por macrófagos esplénicos produciendo anemia fetal. A este proceso de aloinmunización en el embarazo también se le conoce como isoimmunización. La severidad de la enfermedad está influenciada por el título de anticuerpos y su especificidad (los anti-D, anti-c y anti-K representan mayor severidad), por la clase de inmunoglobulina y el número de sitios antigénicos en los eritrocitos (Miller *et al.*, 2013; Contelli *et al.*, 2024). Se ha reportado que en mujeres embarazadas con diagnóstico de isoimmunización eritrocitaria no Rh (D) el factor de riesgo más importante es el antecedente de transfusión sanguínea, seguido de la paridad, antecedente de cirugía mayor o enfermedad hematológica (Javiera-Fuenzalida & Jorge-Carvajal, 2014).

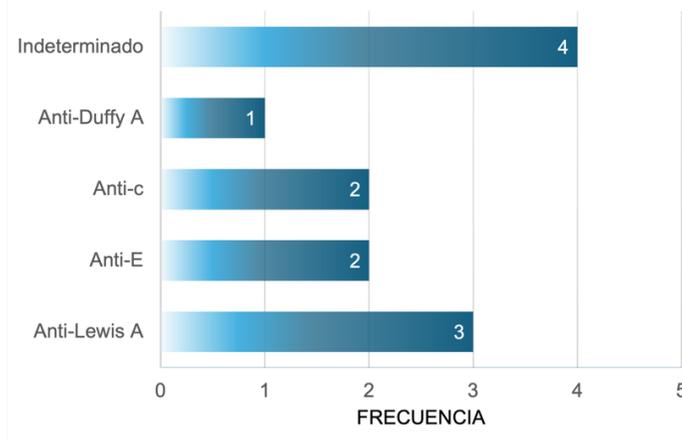


Figura 2. Frecuencia de anticuerpos irregulares en el Hospital General de Ciudad Valles. De la base de datos HemoCod se obtuvo la información sobre los rastreos de anticuerpos irregulares positivos durante el periodo de estudio y se clasificaron de acuerdo con el tipo de anticuerpo irregular identificado. Aquellos que no fueron identificados, se clasificaron como indeterminados.

El anticuerpo irregular anti-Lewis A se encontró en la mayoría (25%) de los RAI, identificados principalmente en solicitudes pertenecientes a mujeres con diagnóstico de embarazo intrauterino. El sistema de grupo sanguíneo Lewis está conformado principalmente por los antígenos Le<sup>a</sup> y Le<sup>b</sup>, los cuales pueden encontrarse en los eritrocitos, plaquetas y en algunos tejidos como el epitelio gastrointestinal, genitourinario y el riñón. Es importante destacar que los eritrocitos no sintetizan directamente los

antígenos Lewis; en cambio, estos se originan como glicolípidos solubles que circulan en el plasma y se adsorben posteriormente a la membrana de los glóbulos rojos. Esta característica hace que dichos antígenos puedan desprenderse (eluirse) de la membrana eritrocitaria, ya sea después de una transfusión o por procesos fisiológicos que incrementen las lipoproteínas plasmáticas (Arthur *et al.*, 2023).

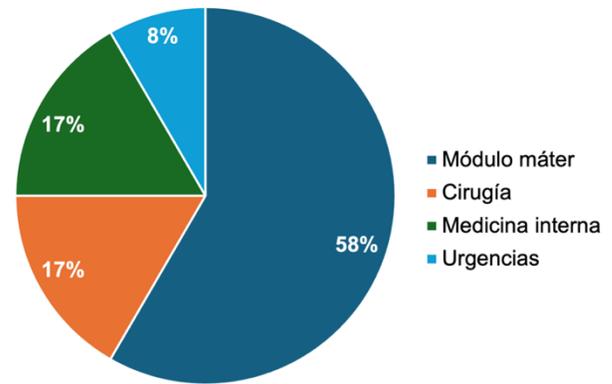


Figura 3. Servicios del hospital de los que provenían los pacientes en los que se encontraron los RAI positivos. De la base de datos HemoCod se obtuvo la información sobre el servicio del hospital en el que se encontraban siendo atendidos los pacientes que dieron positivo al rastreo de anticuerpos irregulares.

La sensibilización a los antígenos del sistema Lewis da lugar a la producción de anticuerpos naturales, predominantemente de tipo IgM, los cuales no atraviesan la placenta. Por esta razón, no se asocian con la enfermedad hemolítica del recién nacido, aunque los antígenos Lewis pueden expresarse de manera limitada en los eritrocitos neonatales (Arthur *et al.*, 2023). A pesar de los avances y conocimiento de los antígenos en los eritrocitos y su importancia clínica, las reacciones hemolíticas fatales relacionadas a la transfusión se dan generalmente por incompatibilidad ABO (ya que los anticuerpos anti-A y anti-B fijan complemento y están en circulación), debido a error en la identificación del paciente o del hemocomponente. Pueden generarse también en pacientes adultos (Vázquez *et al.*, 2002).

Los aloanticuerpos contra eritrocitos pueden generar hemólisis en la circulación o cubrir a los eritrocitos, acelerando su remoción y disminuyendo su vida útil. Entre los anticuerpos que causan hemólisis intravascular incluyen el anti-Duffy, anti-Kell y anti-Lewis (Vázquez *et al.*, 2002), siendo este último el de mayor prevalencia en nuestra población de estudio.

En los resultados se encontró en igual proporción anti-c y anti-E (17%), lo cual es consistente con reportes previos para poblaciones en México

donde se reporta que del 1.2% de mujeres embarazadas que se encuentran aloimmunizadas, un tercio de los casos corresponde a anticuerpos contra antígenos capaces de producir enfermedad hemolítica perinatal, principalmente Rh (D), Kell, Rh (E) y Rh (c), siendo los dos últimos los que encontramos conformando el 34% de la población de estudio con RAI positivos (Javiera-Fuenzalida & Jorge-Carvajal, 2014). De igual manera, el Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional Siglo XXI IMSS reportó un caso con enfermedad hemolítica del recién nacido en una paciente neonata, donde se determinó la presencia de anticuerpos anti-c y anti-E en el suero de la madre y pegados en los eritrocitos del recién nacido (Bonilla-Zavala *et al.*, 2011). Frecuentemente, las exanguinotransfusiones e hiperbilirrubinemias estudiadas en recién nacidos proceden de madres Rh (D) negativo; sin embargo, casos como el mencionado hacen evidente la relevancia del control y rastreo de anticuerpos en la madre durante el periodo prenatal independiente del Rh (D) que presente.

La mayoría de los anticuerpos del sistema Rh son de tipo IgG (principalmente IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>3</sub>) y, en general, no activan el complemento, lo que provoca hemólisis extravascular en las reacciones transfusionales. El sistema Rh es altamente polimórfico y clínicamente relevante, con 56 antígenos, entre los cuales destacan D, C, c, E y e. Algunos anticuerpos Rh pueden coexistir, como anti-E y anti-c, aunque este último puede pasar desapercibido. Por ello, se recomienda evitar transfusiones con sangre c positiva en pacientes sensibilizados. En cambio, no se justifica buscar anti-E en presencia de anti-c, ya que es común que los donantes c positivos sean E negativos (Arthur *et al.*, 2023).

Es importante mencionar que las inmunizaciones que generan anticuerpos irregulares pueden persistir durante varios años. En Santiago de Cuba se documentó un caso de anti-E en una mujer de 47 años, grupo sanguíneo O Rh (D) positivo, sin antecedentes transfusionales, quien desarrolló una reacción hemolítica tardía tras recibir dos unidades de concentrado eritrocitario isogrupo durante el tratamiento de anemia secundaria a un fibroma uterino. El anti-E, originado en su último embarazo 18 años antes, no fue identificado en las pruebas pretransfusionales iniciales, lo que resultó en una crisis hemolítica posterior a la transfusión (Ali-Pérez *et al.*, 2019).

El anti-Duffy A (Fy<sup>a</sup>) se encontró en un 8% de los RAI positivos de nuestra población de estudio. El sistema Duffy (Fy) comprende varios anticuerpos clínicamente significativos, siendo el anti-Fy<sup>a</sup> uno de los más comunes. En contraste, el anti-Duffy B (Fy<sup>b</sup>) es aproximadamente 20 veces menos frecuente. Ambos suelen ser de tipo IgG<sub>1</sub> y se detectan principalmente mediante pruebas de antiglobulina humana. Los anticuerpos naturales en este sistema son poco comunes (Arthur *et al.*, 2023).

Tanto el anti-Fy<sup>a</sup> como el anti-Fy<sup>b</sup> pueden provocar reacciones hemolíticas postransfusionales (RHPT), ya sean agudas o tardías. Aunque en la mayoría de los casos estas reacciones son leves, se han documentado casos graves e incluso fatales. Además, ambos anticuerpos han sido implicados en enfermedad hemolítica del recién nacido, con cuadros que van desde leves hasta severos. Otros anticuerpos menos frecuentes del sistema, como el anti-Fy<sup>3</sup> y el anti-Fy<sup>5</sup>, también se han asociado con RHPT, siendo el anti-Fy<sup>3</sup> responsable de reacciones tanto agudas como tardías y el anti-Fy<sup>5</sup> vinculado con RHPT tardías (Arthur *et al.*, 2023).

A pesar de que la incompatibilidad materno-fetal del grupo sanguíneo Duffy es una causa común de enfermedad hemolítica perinatal, la identificación de este tipo de anticuerpos no se realiza de manera rutinaria (Koelewijn *et al.*, 2008; Castillo-Macías *et al.*, 2018). La investigación debe efectuarse entre las 6 y 7 semanas del desarrollo fetal, cuando la enfermedad tiende a ser leve (Pogo & Chaudhuri, 2000). La glicoproteína Duffy, también conocida como receptor de quimiocinas Duffy (DARC, por sus siglas en inglés), actúa como receptor para diversas citocinas como la interleucina-8 (IL-8), la proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1) y el factor estimulante del crecimiento de melanoma (MGSA). Esta es una proteína transmembranal con una estructura característica de los receptores acoplados a proteínas G, dentro de los cuales se encuentran los receptores de citocinas.

Aunque la función exacta del DARC en eritrocitos no se comprende completamente, se ha sugerido que podría participar en la eliminación de mediadores inflamatorios al actuar como receptor para citocinas en individuos Duffy positivos. No obstante, esta función puede ser limitada en poblaciones donde el antígeno Duffy está ausente en los eritrocitos, como ocurre en la mayoría de los individuos de ascendencia africana (Arthur *et al.*, 2023). Por otro lado, el DARC también se expresa en células endoteliales, especialmente en las vénulas poscapilares, donde se ha vinculado con la inhibición de la metástasis de células tumorales y con la inducción del envejecimiento celular. Además, se ha propuesto que su expresión en eritrocitos podría contribuir a la inhibición de la angiogénesis y a la disminución de la progresión del cáncer de próstata, al facilitar la eliminación de citocinas proangiogénicas liberadas en el microambiente tumoral (Arthur *et al.*, 2023). El sistema de antígenos Duffy es común en la población mexicana, con una prevalencia del 83.3% para Fy<sup>a</sup> y del 57.6% para Duffy B (Fy<sup>b</sup>). En consecuencia, la presencia de aloanticuerpos dirigidos contra estos antígenos representa un potencial riesgo para los pacientes (Castillo-Macías *et al.*, 2018).

En este estudio el 33.33% de los RAI positivos no fueron identificados de manera exitosa, por lo que no se sabe a qué grupo pertenecen. Esto pudo

deberse a varios factores como la aplicación de técnicas inadecuadas, capacitación insuficiente del personal que rota en los tres turnos del Banco de Sangre, falta de insumos o escasez de muestra para el estudio. Aunque parece un porcentaje elevado, otros autores han reportado dificultades similares para identificar el 100% de sus RAI positivos (Xie *et al.*, 2019), lo que hace cada vez más evidente la importancia del conocimiento sobre el tema que redunde en una correcta capacitación del personal y el aseguramiento de insumos suficientes para la identificación.

Es importante resaltar que en México no es obligatoria la transfusión de isogrupos sanguíneos fuera del sistema ABO y Rh; sin embargo, las guías de práctica clínica nacionales determinan realizar en las pacientes embarazadas una prueba de antiglobulina humana (Coombs) indirecta desde la primera consulta prenatal y en la semana 28 de la gestación (Lacarrière-Mejía *et al.*, 2022). No obstante, estas guías y la NOM-007-SSA2-2016, para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio y de la persona recién nacida, solo refieren la identificación y titulación del anticuerpo anti-D en mujeres Rh (D) negativas y no obliga a la búsqueda intencionada de los demás anticuerpos irregulares, que no son exclusivos de las pacientes con Rh (D) negativas (Malagón-Martínez, 2007; Diario Oficial de la Federación, 2016; Lacarrière-Mejía *et al.*, 2022). Debido a que la mayoría de las determinaciones de anticuerpos irregulares encontrados en este trabajo fueron en pacientes gestantes se hace hincapié la necesidad de difundir y trabajar de manera conjunta para evitar la enfermedad hemolítica perinatal ya que las consecuencias son severas. En vista de que las manifestaciones clínicas iniciales no permiten sospechar de la presencia de un anticuerpo irregular hasta que el estado de salud de los pacientes se vuelve crítico, es importante que todo el personal de salud sea consciente de las exposiciones a otros sistemas de grupos sanguíneos y de esta manera trabajar en el mejor interés de los pacientes. Las pruebas pretransfusionales deben encaminarse a la prevención de la aparición de anticuerpos antieritrocitarios, lo cual implica el analizar si clínicamente la transfusión es necesaria y contribuirá a mejorar el estado de salud del paciente, ya que no solo impacta en el propio paciente, sino en el entorno familiar porque suele prolongar las estancias hospitalarias, aunado al incremento del costo para el sistema de salud. En otros países se ha reportado que las reacciones adversas a las transfusiones sanguíneas no solo aumentan los costos por paciente, sino que también prolongan la estancia hospitalaria total a lo largo del año. Estas consecuencias pueden reducirse con una adecuada estrategia de prevención, que comienza con el conocimiento de las características de aloinmunización en la población que se atiende en cada centro hospitalario (Ribed-Sánchez *et al.*, 2018).

Considerando que los anticuerpos irregulares pueden ser producidos por todos los pacientes, pero que su frecuencia y distribución no es siempre la misma, estudios como este permiten conocer en mayor medida a la población que es atendida por los servicios de salud, lo cual permitirá implementar estrategias que busquen limitar las reacciones adversas a la transfusión, como ya se ha demostrado en estudios realizados en otros países (Py, 2010). Lo anterior pone de manifiesto que las investigaciones sobre las poblaciones que se atienden son de gran importancia para la toma de decisiones en el ámbito de la salud (Xie *et al.*, 2019).

Una de las principales limitaciones de este trabajo es que la muestra es relativamente pequeña, debido principalmente a la disparidad de insumos con que se cuenta en el hospital con respecto a la cantidad de pacientes que atiende. No obstante, hasta donde se investigó, es el primer estudio de su tipo que se realiza en la región, cuyas características demográficas son particularmente diversas. Esto permitirá sentar las bases para arrojar luz sobre la importancia del rastreo de anticuerpos irregulares en los pacientes que se atienden en nuestra región. Para lograrlo, es fundamental poner especial énfasis en dos aspectos clave: 1) la capacitación continua del personal que labora en el Banco de Sangre, con el objetivo de reducir la cantidad de anticuerpos irregulares no identificados, y 2) la difusión de los resultados de esta y otras investigaciones relacionadas, con el fin de justificar ante la dirección del hospital la necesidad de contar con un suministro adecuado de insumos para realizar las pruebas de RAI a los pacientes atendidos en el Banco de Sangre.

De manera integral, el conocimiento sobre la distribución y presencia de los distintos sistemas de grupos sanguíneos, así como la identificación de anticuerpos irregulares en los pacientes, correlacionando estos hallazgos con variables como el sexo, el diagnóstico y la frecuencia de presentación, resulta esencial para implementar estrategias que garanticen un servicio de transfusión eficaz. Esto no solo mejora la calidad de atención brindada a los pacientes, sino que también permite una mejor optimización de los recursos disponibles en la institución.

## CONCLUSIONES

En el presente trabajo, con base en el total de rastreos de anticuerpos irregulares realizados se obtuvo una positividad del 4%; un porcentaje superior a lo referido por la NOM-253-SSA-1-2012. En el 33.33% de los rastreos positivos no se identificó el anticuerpo irregular presente, lo que sugiere que aún hay áreas de oportunidad para mejorar las técnicas empleadas en el rastreo, solicitar un stock más amplio de pruebas para realizar, así como la actualización y capacitación del personal de Banco de Sangre, lo cual redundará en una atención de mejor calidad. Los resultados

de este estudio no sugieren una asociación significativa entre el grupo sanguíneo o el sexo con la presencia de anticuerpos irregulares en la población estudiada. Sin embargo, dada la relevancia clínica de la aloinmunización en transfusiones y embarazos, se recomienda continuar con investigaciones en poblaciones más amplias y con un enfoque multivariable para determinar los factores de riesgo con mayor precisión. Las pruebas pretransfusionales deben encaminarse a la prevención de la aparición de anticuerpos antieritrocitarios, donde clínicamente se justifique el costo-beneficio de la transfusión para evitar incrementar los costos de los servicios de salud y los días de estancia hospitalaria de los pacientes. Este es el primer trabajo de su tipo realizado en la región Huasteca, donde la población es étnicamente diversa, por lo que sienta un precedente para futuros estudios que permitan ampliar la información que aquí se muestra, con el fin de mejorar la atención a los pacientes de la región.

#### DECLARACIÓN DE CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

#### APROBACIÓN DE COMITÉ DE INVESTIGACIÓN Y DE ÉTICA

Comité de Ética e Investigación del Hospital General de Ciudad Valles mediante el dictamen favorable para el protocolo de investigación con número de registro 08/2021 para acceder a los datos utilizados en el presente estudio.

#### REFERENCIAS

- Alanazi, F. M. (2024). Prevalence of ABO, Rh, and Kell Antigens Among Blood Donors in Al-Qurayyat Region. *Clinical Laboratory*, 70(12), 2290–2298. <https://doi.org/10.7754/CLIN.LAB.2024.240710>
- Ali-Pérez, N. A., Matos-Bayeu, A. A., & Rodríguez-Ruiz, M. (2019). Reacción transfusional hemolítica retardada por aloanticuerpo anti-E. *Revista Información Científica*, 98(1), 98–105. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-99332019000100098&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-99332019000100098&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Bencomo-Hernández, A. A., Rojas, S. A., González-Díaz, I., Monteagudo, A. C., Morera-Barrios, L. M., & Leyva, R. R. (2016). Red blood cell antigens and antibodies in patients awaiting renal transplantation. In *Revista Cubana de Hematología, Inmunol y Hemoter* (Vol. 32, Issue 2). <http://scielo.sld.cu>
- Bonilla-Zavala, R., Sánchez-Huerta, R., Rivera-López, R., & Ambriz-Fernández, R. (2011). Enfermedad hemolítica del recién nacido por

anti-c y anti-E. *Revista Mexicana de Medicina Transfusional*, 4(1), 10–13.

- Castillo-Macías, A., Díaz-Chuc, E., Sotelo-Coronado, J., Llaca-Díaz, J., Avilés-Rodríguez, L., Pérez-Chávez, F., Cázares-Tamez, R., Mercado-Del Ángel, F., Castillo-Macías, A., Díaz-Chuc, E., Sotelo-Coronado, J., Llaca-Díaz, J., Avilés-Rodríguez, L., Pérez-Chávez, F., Cázares-Tamez, R., & Mercado-Del Ángel, F. (2018). Anticuerpos anti-Fya con reacción anamnésica asociada con anti-D en transfusión intrauterina: reporte de un caso. *Ginecología y Obstetricia de México*, 86(2), 158–163. <https://doi.org/10.24245/GOM.V86I2.1550>
- Arthur, C.M., Olsson, L.M., & Stowell, S.R. (2023). ABO and Other Carbohydrate Blood Group Systems. In Cohn, C., Delaney, M., Johnson, S.T., Katz, L.M., & Schwartz, J. (Ed.), *AABB Technical Manual* (21st ed., pp. 303–336). Association for the Advancement of Blood & Biotherapies.
- Contelli, H. S., de Oliveira, M. C., Ido, A. A. S., Francalanci, E. M., Terra, P. O. da C., Filho, E. R., Batistão, D. W. da F., & Royer, S. (2024). Assessment of erythrocyte alloimmunization among patients treated at a Brazilian university hospital. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, 46, S128–S135. <https://doi.org/10.1016/J.HTCT.2024.04.128>
- del Peón-Hidalgo, L., Pacheco-Cano, M. G., Zavala-Ruiz, M., Madueño-López, A., & García-González, A. (2002). Frecuencias de grupos sanguíneos e incompatibilidades ABO y RhD, en La Paz, Baja California Sur, México. *Salud Pública de México*, 44(5), 406–412.
- Diario Oficial de la Federación. (2012, October). *Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos*. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/219069/NOM-253-SSA1-2012\\_Para\\_la\\_disposicion\\_de\\_sangre\\_humana\\_y\\_sus\\_componentes\\_con\\_fines\\_terapeuticos.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/219069/NOM-253-SSA1-2012_Para_la_disposicion_de_sangre_humana_y_sus_componentes_con_fines_terapeuticos.pdf)
- Diario Oficial de la Federación. (2016, April 7). *Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida*. [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5432289&fecha=07/04/2016#gsc.tab=0](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5432289&fecha=07/04/2016#gsc.tab=0)
- INEGI. (2023). *Estadísticas a propósito del día internacional de la mujer*.
- Javiera-Fuenzalida, C., & Jorge-Carvajal, A. C. (2014). Manejo de la embarazada con isoimmunización por anticuerpos irregulares. *Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología*, 79(4), 315–322. <https://doi.org/10.4067/S0717-75262014000400011>

- Koelewijn, J. M., Vrijkotte, T. G. M., Van Der Schoot, C. E., Bonsel, G. J., & De Haas, M. (2008). Effect of screening for red cell antibodies, other than anti-D, to detect hemolytic disease of the fetus and newborn: a population study in the Netherlands. *Transfusion*, 48(5), 941–952. <https://doi.org/10.1111/J.1537-2995.2007.01625.X>
- Lacariere-Mejía, D., Ruiz Velazco-Benítez, Y. A., & Vázquez-Parrodi, M. (2022). *Guía de Práctica Clínica: Atención y cuidados multidisciplinarios en el embarazo* (Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud, Ed.).
- Malagón-Martínez, A. (2007). *Guía para el uso clínico de la sangre* (R. A. Marín y López, Ed.; 3rd ed.). Secretaría de Salud.
- Mejía-Aguirre, B., Palomino-Morales, R., Linares-Ramírez, V., & Jiménez-González, M. D. C. (2018). Frecuencia de anticuerpos irregulares y factores asociados en pacientes con patología cardíaca. In *Rev Mex Med Tran* (Vol. 11, Issue 1).
- Miller, S. T., Kim, H. Y., Weiner, D. L., Wager, C. G., Gallagher, D., Styles, L. A., Dampier, C. D., & Roseff, S. D. (2013). Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease: Prevalence in 2010. *Transfusion*, 53(4), 704–709. <https://doi.org/10.1111/J.1537-2995.2012.03796.X>
- Mosquera-Plata, A. S. (2016). *Prevalencia de anticuerpos irregulares en pacientes politransfundidos en el Hospital Pediátrico Baca Ortiz en el período 2012- 2015*. Universidad Central del Ecuador.
- Organizacion Mundial de la Salud. (2020). *Disponibilidad y seguridad de la sangre a nivel mundial*.
- Peralta-Martínez, Z. del S., Estrada-Díaz, C. A., & González-Hernández, Y. T. (2015). *Importancia de anticuerpos irregulares en medicina transfusional* [Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua]. <https://repositorio.unan.edu.ni/id/eprint/1037/1/61304.pdf>
- Pogo, A. O., & Chaudhuri, A. (2000). The duffy protein: A malarial and chemokine receptor. *Seminars in Hematology*, 37(2), 122–129. [https://doi.org/10.1016/S0037-1963\(00\)90037-4](https://doi.org/10.1016/S0037-1963(00)90037-4)
- Py, J. Y. (2010). Choix des concentrés érythrocytaires délivrés par les dépôts et sécurité transfusionnelle immunologique. *Transfusion Clinique et Biologique*, 17(5–6), 334–340. <https://doi.org/10.1016/J.TRACLI.2010.09.166>
- Red Cell Immunogenetics and Blood Group Terminology | ISBT Working Party | The International Society of Blood Transfusion (ISBT)*. (n.d.). Retrieved January 28, 2025, from <https://www.isbtweb.org/isbt-working-parties/rcibgt.html>
- Ribed-Sánchez, B., González-Gaya, C., Varea-Díaz, S., Corbacho-Fabregat, C., Bule-Farto, I., & Pérez de-Oteyza, J. (2018). Analysis of economic and social costs of adverse events associated with blood transfusions in Spain. *Gaceta Sanitaria*, 32(3), 269–274. <https://doi.org/10.1016/J.GACETA.2017.10.021>
- Vázquez, J., Vassallo, E., & Storino, M. (2002). Reacciones Posttransfusionales. *Revista de La Facultad de Medicina*, 25(2), 154–162. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-04692002000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04692002000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Wu, H., Li, R., Wei, H., Zhu, W., & Xing, Y. (2024). Clinical Characteristics and Prognosis of Hemolytic Disease of the Newborn Caused by Irregular Antibodies: A 13-Year Retrospective Analysis. *Children* 2024, Vol. 11, Page 1409, 11(12), 1409. <https://doi.org/10.3390/CHILDREN11121409>
- Xie, J. H., Chong, J. H., Huang, X., Wang, W., Dong, Z., Li, T. T., Li, L. X., & Wu, L. N. (2019). [Result analysis of irregular erythrocyte antibody screening]. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi = Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi = Chinese Journal of Applied Physiology*, 35(5), 457–459. <https://doi.org/10.12047/J.CJAP.5807.2019.099>

# Diseño *in silico* de una vacuna de ADN contra *Toxoplasma gondii* basada en los epítomos del antígeno ROP35 específicos para linfocitos B y T CD4<sup>+</sup> murinos

*In silico* design of a DNA vaccine against *Toxoplasma gondii* based on ROP35 antigen epitopes specific for murine B and CD4<sup>+</sup> T lymphocytes

Velázquez-Escobar, F.M.<sup>1</sup>, Beltrán-López, E.<sup>1</sup>, Vega-Castillo, U.<sup>1</sup>, López-Moreno, H.S.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biomedicina Molecular, CAC Biotecnología Biomédica UAS-264, Posgrado en Ciencias Biomédicas y Posgrado en Biotecnología, énfasis en Salud, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Av. Las Américas S/N, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México. CP. 80010.

## RESUMEN

La toxoplasmosis, causada por *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), es una zoonosis con una alta prevalencia mundial oscilando del 30 % al 70 %. Afecta principalmente a individuos inmunocomprometidos y mujeres embarazadas, pudiendo generar complicaciones graves, incluso la muerte. Las proteínas ROP, ubicadas en las roptrias de *T. gondii* son clave en la invasión y persistencia del parásito, de ellas ROP35 ha sido identificada como un antígeno relevante, por lo que fue elegida para el desarrollo *in silico* de una vacuna de ADN que prevenga la infección por *T. gondii*. Con la secuencia de ROP35 se predijeron epítomos B y T CD4<sup>+</sup> restringidos para H2-IA<sup>d</sup> de ratones BALB/c mediante los softwares MHC-II Binding y ElliPro, y se evaluaron con VaxiJen 2.0 y MHCpred. Los epítomos MPEQDLASGFL y WDDAHLVQVSTSHPD mostraron las mejores propiedades antigénicas para linfocitos B y T CD4<sup>+</sup> respectivamente. Las secuencias génicas correspondientes fueron clonadas en el vector de expresión pVAX1, incorporando un codón de inicio y la secuencia génica del espaciador GSGGSG para su óptima expresión. Esta construcción fue denominada pR35BT y permite la síntesis simultánea de ambos epítomos, representando un avance hacia el desarrollo de una vacuna genética contra la toxoplasmosis, con potencial para su validación *in vitro* e *in vivo* en modelos murinos que contribuya a establecer las bases moleculares para la prevención de toxoplasmosis en seres humanos.

**Palabras clave:** *Toxoplasma gondii*, ROP35, Vacuna genética, Predicción *in silico*, Epítomos B y T.

## ABSTRACT

Toxoplasmosis is a globally prevalent zoonosis caused by *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), with an incidence ranging from 30 % to 70 %. It primarily affects immunocompromised individuals and pregnant women, potentially leading to severe complications, including death. ROP proteins, which are located in the *T. gondii* rhoptries, are crucial for parasite invasion and persistence. Among them, ROP35 has been identified as a relevant antigen, making it a suitable target for the *in silico* development of a DNA vaccine to prevent *T. gondii* infection. Using the ROP35 sequence, B and T cell epitopes restricted to H2-IA<sup>d</sup> in BALB/c mice were predicted with MHC-II Binding and ElliPro software and further evaluated using VaxiJen 2.0 and MHCpred. The epitopes MPEQDLASGFL and WDDAHLVQVSTSHPD exhibited the highest antigenic properties for B and T CD4<sup>+</sup> cells respectively. The corresponding genetic sequences were cloned into the pVAX1 expression vector, incorporating a start codon and the GSGGSG spacer sequence to ensure optimal expression. This construct, named pR35BT, enables the simultaneous synthesis of both epitopes, representing a significant step toward the development of a genetic vaccine against toxoplasmosis. It holds potential for *in vitro* and *in vivo* validation in murine models, contributing to the establishment of molecular foundations for toxoplasmosis prevention in humans.

**Keywords:** *Toxoplasma gondii*, ROP35, Genetic vaccine, *In silico* prediction, B and T epitopes.

\*Autor de correspondencia: Héctor Samuel López Moreno

Email: [hslmoreno@ms.uas.edu.mx](mailto:hslmoreno@ms.uas.edu.mx)

ORCID ID: [0000-0001-7391-205X](https://orcid.org/0000-0001-7391-205X)

Registro ORCID Autores: EBL: [0000-0002-8604-2847](https://orcid.org/0000-0002-8604-2847) UVC: [0009-0006-1796-8845](https://orcid.org/0009-0006-1796-8845)

Enviado: Abril 2025

Aceptado: Junio 2025

## INTRODUCCIÓN

*Toxoplasma gondii* es un protozoo parásito intracelular obligado causante de la enfermedad conocida como toxoplasmosis (Smith et al., 2021). Esta enfermedad puede manifestarse tanto como una infección aguda como crónica debido a la formación de quistes (Al-Malki, 2021; Smith et al., 2021). La incidencia de la toxoplasmosis es mayor en regiones con climas húmedos o cálidos, con una prevalencia mundial del 30 % (Molan et al., 2019). En México, la incidencia es más alta en las zonas costeras, con un 64 %, y en Yucatán, con un 70 % (Castillo-Morales et al., 2012). Además, en 2024, Sinaloa reportó 132 casos de toxoplasmosis, ubicándose en el séptimo lugar a nivel nacional (Boletín Epidemiológico, 2025). Estos registros de alta prevalencia mundial ponen en evidencia la necesidad de implementar medidas más efectivas para su prevención y control.

La toxoplasmosis puede afectar tanto a hospederos definitivos como intermedios, siendo el gato doméstico (*Felis catus*) uno de los hospederos definitivos y el principal reservorio de este parásito (Smith et al., 2021). El ciclo de vida de *Toxoplasma gondii* inicia cuando los hospederos intermediarios ingieren ooquistes presentes en agua, alimentos o suelo contaminados, una vez dentro del organismo, los ooquistes son degradados por enzimas digestivas en el estómago, lo que permite la liberación de esporozoítos que se diferencian en taquizoítos (Al-Malki, 2021). Estas formas móviles del parásito se diseminan a través del torrente sanguíneo y se alojan en diversos tejidos, especialmente en el tejido nervioso y muscular (Al-Malki, 2021). En estas localizaciones, los taquizoítos disminuyen su velocidad de replicación y se diferencian en bradizoítos, los cuales se agrupan formando quistes tisulares que pueden persistir durante largos periodos (Al-Malki, 2021). La transmisión al hospedero definitivo, generalmente un felino, ocurre mediante la ingestión de quistes presentes en la carne cruda de hospederos intermediarios, o por contacto con agua o suelo contaminado (Castillo-Morales et al., 2012; S. Al-Malki, 2021; Smith et al., 2021).

En el caso de los seres humanos, la toxoplasmosis puede adquirirse por el consumo de carne cruda o mal cocida proveniente de animales infectados, por la ingestión de agua o alimentos contaminados con ooquistes, así como por transfusiones sanguíneas, trasplantes de órganos o por transmisión vertical durante la gestación (Castillo-Morales et al., 2012; Al-Malki, 2021; Smith et al., 2021). Las manifestaciones clínicas de la enfermedad dependen del estado inmunológico del paciente, frecuentemente en individuos inmunocompetentes, la toxoplasmosis suele ser asintomática o manifestarse como

toxoplasmosis ocular (Espinoza Rojas et al., 2022). Sin embargo, en pacientes inmunocomprometidos puede causar lesiones cerebrales como encefalitis, complicaciones oftalmológicas como retinocoroiditis, daño sistémico generalizado, trastornos de la consciencia o crisis convulsivas y en mujeres embarazadas, puede afectar al feto provocándole encefalitis, hidrocefalia, daño cerebral y abortos espontáneos (Castillo-Morales et al., 2012; Espinoza Rojas et al., 2022). Para invadir al hospedero, *T. gondii* secreta proteínas denominadas ROP (cinasas), localizadas en orgánulos llamados roptrias, que facilitan la invasión y establecimiento de la infección (Gaji et al., 2021). Entre ellas está la proteína antigénica ROP35, un componente de la pared celular de *T. gondii*, que contribuye a la persistencia del parásito y al desarrollo de infecciones crónicas (Gaji et al., 2021; Mani et al., 2023). Su importancia en el proceso de establecimiento de la enfermedad se puso de manifiesto en el reporte de Mani et al. (2023) quienes demostraron que los niveles de RNA de ROP35 aumentan en ratones con alta carga quística (Mani et al., 2023). Además, Fox et al. (2016) observaron que la inactivación del gen *ROP35* reduce la carga de quistes en modelos murinos (Fox et al., 2016; Mani et al., 2023).

Históricamente la vacunación es la estrategia inmunitaria cúspide de la prevención y control de las enfermedades a nivel mundial, hecho que quedó de manifiesto durante la pandemia de COVID-19 (Dey et al., 2021; Lagos et al., 2020), la comunidad científica aún no ha logrado obtener con éxito una vacuna que prevenga alguna enfermedad parasitaria en seres humanos, como la toxoplasmosis. Adicionalmente, el diseño de vacunas es complejo y puede demorar varios años (Pollard & Bijker, 2021). Existen diversos formatos para el diseño de vacunas, como atenuadas, inactivadas con vectores virales, de ADN y las más exitosas para prevenir la COVID-19, las de ARN mensajero modificado (Pollard & Bijker, 2021; WHO, 2022).

Aunque las vacunas de ARN han mostrado porcentajes de protección que superan el 90 %, tienen la desventaja de requerir ultracongelación para su mantenimiento, en cambio las vacunas de ADN son más estables requiriendo solo refrigeración convencional, y por ello pueden estar al alcance de la población de países en vías de desarrollo que además son las comunidades más afectadas por las parasitosis, incluida la toxoplasmosis, aunado a ello confieren buenos porcentajes de protección, lo cual se confirmó con el éxito de la vacuna de ADN diseñada por investigadores de la India, denominada ZyCov-D, empleada para prevenir la COVID-19, confiriendo alrededor de un 66.6 % de protección (Dey et al., 2021; Khobragade et al., 2022).

Por otro lado, el empleo de herramientas bioinformáticas diseñadas para el análisis *in silico* de secuencias de proteínas antigénicas representan la base para la selección de epítopos restringidos para linfocitos B y T basadas en algoritmos de predicción, acelerando la identificación de las regiones más inmunogénicas de una proteína y emplearlas como base para el diseño y validación de candidatos vacunales (Yurina & Adianingsih, 2022). En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue predecir los epítopos de linfocitos B y T CD4<sup>+</sup> murinos derivados de la proteína antigénica ROP35 de *T. gondii* para diseñar una construcción genética vacunal que brinde protección contra la toxoplasmosis experimental.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### ROP35 *T. GONDII*

La obtención de la secuencia genética de la proteína *Rop35* de *T. gondii* se realizó por medio de la página bioinformática NCBI (secuencia de referencia XM\_018782426.1) en el apartado de nucleótidos y el archivo obtenido fue en formato FASTA con un total de 6009 bp. El modelado 3D de la proteína ROP35 se llevó a cabo en la página bioinformática I-TASSER, la cual recaba conocimientos sobre la posible función del objetivo mediante la reconstrucción de los modelos 3D de las proteínas (Zhou *et al.*, 2022). Los resultados se obtuvieron 3 días después, haciendo uso de la secuencia en formato FASTA para predecir tanto la estructura como la anotación de las funciones de la proteína ROP35 basadas en su estructura y haciendo uso de plantillas como referencia a partir de la página bioinformática Protein Data Bank (PDB), y en ella se señalaron las regiones correspondientes a los epítopos predichos.

### PREDICCIÓN DE EPÍTOPOS B

Para la predicción de epítopos de linfocitos B, se utilizó el programa bioinformático *ElliPro* (Ponomarenko *et al.*, 2008), el cual identifica epítopos antigénicos lineales y discontinuos basándose en la estructura tridimensional de las proteínas en formato PDB. *ElliPro* asigna a cada epítopo un puntaje basado en el *Protrusion Index* (PI), que corresponde al valor promedio calculado sobre los residuos del epítopo. Este índice se define según el centro de masa del residuo que se encuentra fuera del elipsoide de mayor tamaño posible (Ponomarenko *et al.*, 2008). La predicción de epítopos se realizó utilizando un umbral de 0.6 para seleccionar aquellos con mayor antigenicidad (Ponomarenko *et al.*, 2008).

### PREDICCIÓN DE EPÍTOPOS T CD4<sup>+</sup>

Para la predicción de epítopos restringidos para linfocitos T CD4<sup>+</sup>, se empleó la herramienta bioinformática *MHC-II Binding Predictions* (Reynisson *et al.*, 2021). Se ingresó la secuencia de aminoácidos de la proteína ROP35 en formato FASTA y se utilizó, por defecto, un umbral de afinidad fuerte superior a 0.5 (Reynisson *et al.*, 2021), y se seleccionó el alelo del complejo principal de clase-II (MHC-II) H2-IA<sup>d</sup>, expresado en ratones de la cepa BALB/c. La longitud elegida para del péptido analizado fue de 15 residuos de aminoácidos.

### ANTIGENICIDAD DE LOS EPÍTOPOS B

Para llevar a cabo la evaluación de la antigenicidad de los epítopos predichos para los linfocitos B se utilizó la página bioinformática *VaxiJen 2.0* (Doytchinova & Flower, 2008a), la cual permite evaluar a los péptidos uno por uno y mide su antigenicidad con base en las propiedades fisicoquímicas del péptido sin necesidad de ser sometido a un alineamiento previo. Por otra parte, también permite seleccionar un organismo a partir del cual predice la probabilidad de que el péptido sea considerado un antígeno. En este caso, se seleccionó el organismo parásito debido a que la proteína de interés pertenece al parásito *T. gondii* y los péptidos deben superar el valor umbral de 0.5 para poder ser considerados como candidatos (Doytchinova & Flower, 2008a). Para la evaluación, se ingresó la secuencia en formato FASTA de los epítopos lineales y discontinuos de manera manual, se seleccionó el organismo de interés y, por último, se seleccionó el archivo de salida al igual en formato FASTA en conjunto con la predicción y el valor del umbral obtenido para cada secuencia.

### ANTIGENICIDAD DE LOS EPÍTOPOS T CD4<sup>+</sup>

Para la evaluación de la antigenicidad de los epítopos restringidos para linfocitos T CD4<sup>+</sup> se utilizó la herramienta bioinformática *MHCpred* (Guan *et al.*, 2003), la cual emplea un método aditivo para predecir si un péptido tiene la capacidad de unión al MHC de clase I y clase II, lo cual se mide a través de un valor probable IC<sub>50</sub>, el cual oscila de 0.01 a 5000 nM y hace referencia a la capacidad de unión del péptido predicho a MHC. Se seleccionó la especie de ratón para realizar la predicción y se centró en el alelo (H2-IA<sup>d</sup>) debido a que se trabajó con ese alelo para la predicción de los epítopos T CD4<sup>+</sup> y por último se cargó la secuencia en formato FASTA de los epítopos predichos de ROP35 de *T. gondii*.

## CONSTRUCCIÓN GENÉTICA VACUNAL

Para el diseño de la construcción genética vacunal las secuencias de aminoácidos de los epítomos específicos para linfocitos B y T predichos en las herramientas bioinformáticas *MHC-II Binding Prediction* y *Ellipro*, y su antigenicidad validada con *VaxiJen 2.0* y *MHCpred* como se describió anteriormente, fueron ingresadas a la herramienta *ReverseTranslate* para obtener la secuencia de nucleótidos codificante para cada uno. Se adaptaron a formato FASTA para facilitar su incorporación en el software *SnapGene* y generar la construcción genética vacunal. La cual está integrada por un codón de inicio (ATG) unido a la secuencia correspondiente al epítomo lineal específico para linfocitos B (R35B<sub>1-11</sub>), la secuencia génica del espaciador (GSGGSG) (Wan *et al.*, 2019), la secuencia génica del epítomo para linfocitos T CD4<sup>+</sup> (R35T<sub>226-240</sub>), todo ello flanqueado por los sitios de restricción en 5'-EcoRI y en 3'-XhoI, para facilitar su inserción en el sitio de clonación múltiple del vector pVAX1 (disponible en nuestro grupo de investigación por el donativo del MC. Antonio Cruz, Tecnológico de Monterrey, México).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### EPÍTOPO R35B<sub>1-11</sub>

A través del sitio bioinformático *Ellipro*, se predijeron cuatro epítomos lineales para la cadena A (única cadena de la proteína) de la proteína ROP35 de *T. gondii*. Se identificó el epítomo 1 con 170 aminoácidos (del residuo 65 al 234) y un índice de protrusión (PI) de 0.817, el epítomo 2 con 54 aminoácidos (del residuo 240 al 293) y un PI de 0.764, el epítomo 3 con 27 aminoácidos (del residuo 30 al 54) y un PI de 0.716, y finalmente, el epítomo 4 con 11 aminoácidos (del residuo 1 al 11) y un PI de 0.710. El epítomo 1 presentó el mayor PI (0.817), lo que sugiere que podría ser el mejor candidato debido a su mayor accesibilidad en la estructura tridimensional de la proteína, permitiendo una mejor interacción con los receptores de linfocitos B y una mayor capacidad inmunogénica. Sin embargo, esta predicción fue posteriormente descartada mediante ensayos de antigenicidad.

Se obtuvieron cuatro imágenes tridimensionales de los epítomos predichos, donde se observa la distribución de los residuos de aminoácidos en la estructura de la proteína ROP35 (Figura 1). En el caso de los epítomos 2, 3 y 4, su accesibilidad es menor debido a su ubicación en la estructura proteica, lo cual se correlaciona con los menores valores de PI. Asimismo, se realizó la predicción de cuatro epítomos conformacionales o discontinuos. El epítomo 1 obtuvo el mayor valor de PI (0.814) con 172 residuos de aminoácidos, posicionándose como el

mejor candidato. Por otro lado, los epítomos 2, 3 y 4 también fueron considerados como potenciales candidatos: el epítomo 2 presentó un PI de 0.764 con 54 residuos de aminoácidos, el epítomo 3 un PI de 0.707 con 29 residuos, y el epítomo 4 un PI de 0.700 con 12 residuos (Figura 1).

Aunque fue posible la predicción de epítomos tanto lineales como discontinuos, en este estudio solo se seleccionaron los epítomos lineales para linfocitos B (Tabla 1). Esto se debe a que, en la síntesis recombinante *in vitro*, los epítomos lineales pueden obtenerse utilizando sistemas de expresión procariontes, mientras que los epítomos discontinuos requieren de conjugaciones con proteínas acarreadoras y el uso de organismos eucariontes capaces de realizar el plegamiento tridimensional a través de procesos postraduccionales, un ejemplo de esto es la vacuna pUCP24-OmpH contra *Pasteurella multocida* desarrollada por Yassein y colaboradores en el año 2021, la cual fue expresada en un sistema procarionte (*Escherichia coli*), obteniendo un 90 % de supervivencia en modelos murinos y 3 veces más anticuerpos en comparación con vacunas inactivadas (Yassein *et al.*, 2021).

Los epítomos discontinuos no fueron descartados, ya que en futuras investigaciones podrían sintetizarse en sistemas de expresión eucarionte como en *Drosophila* o en células de mamífero para obtener epítomos conformacionales dentro de proteínas acarreadoras, reconocibles por linfocitos B. Por otro lado, los valores obtenidos para los epítomos predichos en función de la accesibilidad al solvente y la flexibilidad indicaron que el epítomo 1 es el mejor candidato. Sin embargo, tras los análisis de antigenicidad, el epítomo más adecuado para la construcción genética vacunal fue el epítomo 4, lo cual se detalla en los resultados posteriores.

### EPÍTOPO R35T<sub>226-240</sub>

Para la predicción de epítomos de linfocitos T CD4<sup>+</sup>, se identificaron 626 péptidos, de los cuales solo dos presentaron una alta afinidad de unión, todos predichos para el alelo H2-IA<sup>d</sup>. La afinidad de unión se considera fuerte cuando el porcentaje de clasificación del péptido se aproxima a 1, y débil cuando se acerca a 0. El péptido predicho 1 (EPPPASIVPVSSSEAP) presentó una afinidad de unión fuerte, con un valor de 0.7651, abarcando la posición 155-169 de la secuencia. Por otro lado, el péptido 2 (WDDAHLVQVSTSHPD) tuvo un valor de afinidad de 0.7545 y se ubicó entre los residuos 226 y 240, ambos con una longitud de 15 aminoácidos (Tabla 2). Posteriormente, los epítomos de linfocitos T CD4<sup>+</sup> fueron evaluados mediante ensayos de antigenicidad. Aunque los resultados de la predicción inicial indicaban que ambos péptidos eran candidatos a ser

**Tabla 1. Predicción de epítomos para linfocitos B derivados de ROP35 de *T. gondii*.**

N° de Epítomo (Secuencia)	Umbral de Antigenicidad
Epítomo 1: (TVEAGATVAAPQVETGPLLSVRAPRSPHLRDVDAPEVTHASSEGPSQFESSLSQQRLRRPADRGEAHNGEPRKDAAT QTVRGGYGGQSTPPASIVPVSEAPQDGAEQRQASSAAESLAGLDPDAGDTGLRSQEMDEEGSGAAQDMERAAHAQPT VSTWDDAHLVQV)	0.6369
Epítomo 2: (DMFPVDGSFSKQEGRRERRLAVRGDDSFARGHNRDRDASNGRSILRRAPGWAK)	0.6790
Epítomo 4: (MPEQDLASGFL)	<b>0.8360</b>

Umbral de antigenicidad de epítomos para linfocitos B determinado utilizado el software *ElliPro*. Predicción de epítomos para linfocitos B, empleando el software *ElliPro*. La secuencia seleccionada fue MPEQDLASGFL designada como Epítomo R35B<sub>1-11</sub>.

epítomos restringidos para MHC-II, los análisis de antigenicidad revelaron que el epítomo 2 presentó una mayor capacidad inmunogénica, aspecto que se analiza con mayor detalle en los resultados posteriores.

#### ANTIGENICIDAD DE R35B<sub>1-11</sub> Y R35T<sub>226-240</sub>

La antigenicidad de los epítomos de linfocitos B y T fue evaluada mediante las herramientas bioinformáticas *VaxiJen 2.0* y *MHCpred* (Doytchinova & Flower, 2008b; Guan et al., 2003). Para la evaluación de los epítomos de linfocitos B, se utilizó la herramienta bioinformática *VaxiJen 2.0* con un umbral de 0.6. Los péptidos con valores superiores fueron catalogados como antígenos probables. El péptido lineal 1, con 170 residuos de aminoácidos, presentó un valor de 0.6369; el péptido lineal 2, con 54 residuos, obtuvo un valor de 0.6790; y finalmente, el péptido lineal 4, con 11 residuos, mostró el mayor valor con 0.8360, indicando su alta probabilidad de ser un antígeno.

En cuanto a los epítomos discontinuos, el péptido 1 (172 residuos) obtuvo un valor de 0.6354, el péptido 2 (54 residuos) presentó un valor de 0.6790, y el péptido 4 (MPEQDLASGFL), con 12 residuos, alcanzó un valor de 0.7735, confirmando su clasificación como antígeno probable.

Para los linfocitos T CD4<sup>+</sup>, la herramienta *MHCpred* se utilizó para analizar los péptidos predichos. El péptido 1 predicho para linfocitos T CD4<sup>+</sup> (EPPPASIVPVSEAP) fue analizado en dos secciones. La primera sección, compuesta por 9 aminoácidos (EPPPASIVP), obtuvo un valor de IC<sub>50</sub> de 877.0 y un valor de confianza de predicción de 1, el más alto posible. La segunda sección (IVPVSEAP), con la misma longitud, presentó un IC<sub>50</sub> de 1710.02 y un valor de confianza de 1. De manera

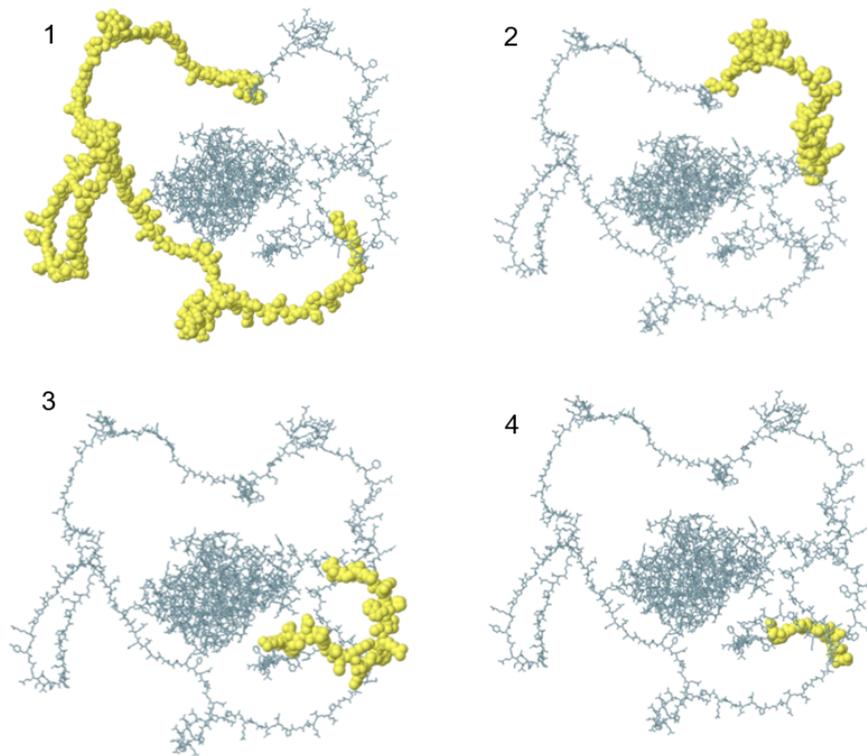
similar, el péptido 2 (WDDAHLVQVSTSHPD) fue analizado en dos partes: la primera (WDDAHLVQV) obtuvo un IC<sub>50</sub> de 111.94 con un valor de confianza de 1, mientras que la segunda (VQVSTSHPD) presentó un IC<sub>50</sub> de 1073.99 con un valor de confianza de 1. Estos resultados indican que los epítomos predichos para linfocitos T CD4<sup>+</sup> son candidatos para la construcción de una vacuna ya que en el análisis de antigenicidad obtuvieron los valores en el rango de 0.01 a 5000 los cual indica una alta antigenicidad y por lo tanto son en general, buenos candidatos vacunales (Guan et al., 2003).

**Tabla 2. Predicción de epítomos para linfocitos T CD4<sup>+</sup> derivados de ROP35 de *T. gondii*.**

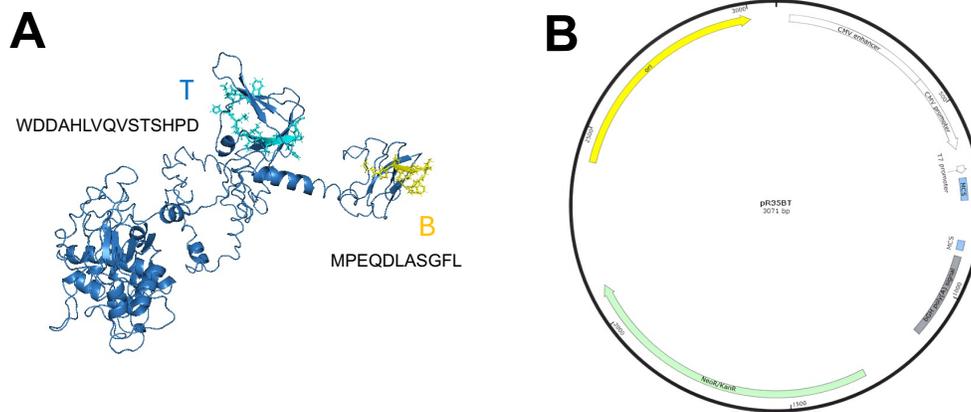
N° de Epítomo	Afinidad	IC50 MHC-II (nM)
EPPPASIVPVSEAP	0.7651	877.0
WDDAHLVQVSTSHPD	0.7545	111.94

Nota. Afinidad e IC<sub>50</sub> de epítomos para linfocitos T CD4<sup>+</sup> y MH-II, empleando el software *MHC-II Binding Predictions*. La secuencia seleccionada fue WDDAHLVQVSTSHPD designada como Epítomo R35T<sub>226-240</sub>

Con base en nuestros resultados, se determinó que el péptido lineal 4 de linfocitos B (R35B<sub>1-11</sub>) y el péptido lineal 2 restringido para H2-IA<sup>d</sup> específico para linfocitos T CD4<sup>+</sup> (R35T<sub>226-240</sub>) son los mejores candidatos para la construcción génica vacunal, con base en los elevados valores de antigenicidad obtenidos en el umbral de predicción,



**Figura 1. Predicción de epítomos lineales para linfocitos B derivados de ROP35.** Cada epítomo se señala en color amarillo, y fueron predichos en *ElliPro* y su antigenicidad analizada en *Vaxigen 2.0*. Epítomo 1: de 1- 170 aa; PI 0.817; Epítomo 2: de 2- 54 aa; PI 0.764; Epítomo 3: de 3- 27 aa; PI 0.716; Epítomo 4: de 4- 11 aa; PI 0.710.



**Figura 2. Epítomos B y T CD4<sup>+</sup> de ROP35 y construcción genética vacunal pR35BT.** (A) Estructura 3D de ROP35 donde se señalan las regiones donde se localiza el epítomo B (amarillo) y el epítomo T CD4<sup>+</sup> (azul). El modelado se realizó con el *software* I-TASSER y selección de los residuos de aminoácidos de los epítomos B y T CD4<sup>+</sup> con *PyMol*. (B) Construcción genética vacunal pR35BT, diseñada en *SnapGene*. La secuencia genética correspondiente a R35BT: GAATTCATGATGCCGGAACAGGATCTGGCGAGCGGCTTTCTGGGCAGCGGGCAGCGGCTGGGATGATGCGCATCTGGTGCAGGTGAGCACCAGCCATCCGGATCTCGAG, se muestra en color rojo.

lo que indica una mayor afinidad de unión y una mayor probabilidad de inducir una respuesta inmune contra la infección preclínica por *T. gondii*

### CONSTRUCCIÓN GENÉTICA VACUNAL PR35BT

En el caso de los epítomos lineales de linfocitos B, se seleccionó el epítomo 4, compuesto por 11 residuos de aminoácidos (R35B<sub>1-11</sub>), que presentó el mayor valor de antigenicidad, lo que lo convirtió en el mejor candidato. Su secuencia de aminoácidos fue igualmente convertida a nucleótidos, obteniendo un fragmento de 33 pares de bases (pb). El epítomo 2 de linfocitos T CD4<sup>+</sup>, con 15 residuos de aminoácidos (R35T<sub>226-240</sub>), fue elegido debido a su mayor valor en los ensayos de antigenicidad en comparación con el epítomo 1, lo que sugiere una mejor capacidad para inducir una respuesta inmune contra *T. gondii*.

Para la construcción del vector de expresión, la secuencia de aminoácidos fue convertida a nucleótidos, obteniendo un fragmento de 45 pb. Una vez seleccionados los epítomos 4 y 2 de linfocitos B y T CD4<sup>+</sup> respectivamente, se unieron mediante la secuencia genética del espaciador universal GSGGSG (Wan *et al.*, 2019). Se añadió un codón de inicio ATG, seguido del espaciador, el epítomo R35B<sub>1-11</sub>, y posteriormente el epítomo R35T<sub>226-240</sub>. Finalmente, se incluyeron en los flancos 5' y 3' las secuencias específicas para las enzimas de restricción EcoRI y XhoI respectivamente, con esta la secuencia completa, se procedió a su inserción en el vector de vacunal pVAX1 dando lugar a la construcción genética vacunal denominada aquí como pR35BT, con un tamaño de 3,071 pb (**Figura 2**) listo para su síntesis y evaluación *in vitro*. Estos resultados son consistentes con estudios previos sobre vacunas de ADN y diseño de vacunas *in silico* basados también en la predicción de epítomos B y T (Da'dara & Harn, 2005; Ojha *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2021). En 2020, Ojha y colaboradores realizaron la predicción de epítomos específicos para linfocitos B y T derivados de antígenos de *Leishmania*, empleando herramientas bioinformáticas como RANKPEP, NetCTL 1.2 y ABCpred (Ojha *et al.*, 2020). A pesar de utilizar metodologías diferentes a las del presente estudio, en ambos casos el análisis *in silico* permitió la predicción de epítomos específicos a partir de proteínas antigénicas derivadas del parásito (Ojha *et al.*, 2020). Por otro lado, en 2021, Zhu y colaboradores diseñaron una vacuna de ADN contra *T. gondii*, basada en la predicción de epítomos lineales específicos de linfocitos B derivados del antígeno GRA39 (Zhu *et al.*, 2021). Evaluaron la antigenicidad y sintetizaron la construcción genética para su evaluación en modelos murinos, observando una reducción aproximada del 33% en la carga quística en los ratones (Zhu *et al.*, 2021).

En comparación con el presente estudio, estos hallazgos soportan la validez de nuestros datos y que la estrategia empleada en el diseño de la construcción genética vacunal pR35BT, cumple con las especificaciones de antigenicidad y restricción para utilizarla primero como inmunógeno al inmunizar ratones BALB/c, analizando sus títulos de anticuerpos, así como el perfil de citocinas Th, y posteriormente, emplearla en ensayos de protección contra *T. gondii* en dicho modelo murino, que establezca las bases celulares y moleculares para el diseño de una vacuna que prevenga la toxoplasmosis humana.

### LIMITACIONES DEL ESTUDIO

El presente estudio presenta como única limitante, que se trata de una investigación *in silico*, sin embargo, el resto cumple con todos los criterios científicos, uso de softwares y plataformas inmunoinformáticas para trasladarlo al contexto *in vitro* e *in vivo*, tal como lo sustenta la bibliografía citada aquí.

### CONCLUSIÓN

Nuestros resultados proporcionan la evidencia de que los epítomos específicos R35B<sub>1-11</sub> (MPEQDLASGFL) y R35T<sub>226-240</sub> (WDDAHLVQVSTSPD), predichos a partir de la proteína ROP35 sirvieron de base para la obtención de la construcción genética vacunal pR35BT, específica para linfocitos B y T CD4<sup>+</sup>. Además, se demostró que cumple con los parámetros de antigenicidad y restricción al MHC-II (H2-IA<sup>d</sup>), para su síntesis y evaluación *in vitro* como nueva vacuna para prevenir la Toxoplasmosis preclínica en el modelo murino de ratones BALB/c. Hecho que contribuirá al establecimiento de las bases celulares y moleculares para el posterior diseño de una vacuna genética contra la toxoplasmosis humana, enfermedad que afecta al 30 % de la población mundial.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la MC. Priscilla González por su revisión crítica a este manuscrito.

### DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés financiero o relaciones personales que pudieran haber influido en el trabajo aquí reportado.

### APROBACIÓN DE COMITÉ DE INVESTIGACIÓN Y ÉTICA

No Aplica dado que el estudio se desarrolló *in silico*.

## REFERENCIAS

- Boletín Epidemiológico. (s.f.). *Índice de vigilancia epidemiológica, semana 52, 2024*. Secretaría de Salud. <http://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/direccion-general-de-epidemiologia>
- Castillo-Morales, V. J., Acosta Viana, K. Y., Guzmán-Marín, E. D. S., Jiménez-Coello, M., Segura-Correa, J. C., Aguilar-Caballero, A. J., & Ortega-Pacheco, A. (2012). Prevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from the tropics of Mexico using serological and molecular tests. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2012, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2012/529108>
- Da'dara, A. A., & Harn, D. A. (2005). DNA vaccines against tropical parasitic diseases. *Expert Review of Vaccines*, 4(4), 575–589. <https://doi.org/10.1586/14760584.4.4.575>
- Dey, A., Chozhavel Rajanathan, T. M., Chandra, H., Pericherla, H. P. R., Kumar, S., Choonia, H. S., Bajpai, M., Singh, A. K., Sinha, A., Saini, G., Dalal, P., Vandriwala, S., Raheem, M. A., Divate, R. D., Navlani, N. L., Sharma, V., Parikh, A., Prasath, S., Sankar Rao, M., & Maithal, K. (2021). Immunogenic potential of DNA vaccine candidate, ZyCoV-D against SARS-CoV-2 in animal models. *Vaccine*, 39(30), 4108–4116. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.05.098>
- Doytchinova, I. A., & Flower, D. R. (2008). Bioinformatic approach for identifying parasite and fungal candidate subunit vaccines. *The Open Vaccine Journal*, 1, 22–26. <https://doi.org/10.2174/1875035400801010022>
- Espinoza Rojas, J., López Mora, E., Dabanch Peña, J., & Cruz Choappa, R. (2022). Recomendaciones para el diagnóstico y tratamiento de la infección por *Toxoplasma gondii* [Recommendations for the diagnosis and treatment of infection by *Toxoplasma gondii*]. *Revista Chilena de Infectología*, 39(2), 175–184. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182022000200132>
- Fox, B. A., Rommereim, L. M., Guevara, R. B., Falla, A., Hortua Triana, M. A., Sun, Y., & Bzik, D. J. (2016). The *Toxoplasma gondii* rhoptry kinome is essential for chronic infection. *mBio*, 7(3), e00193-16. <https://doi.org/10.1128/mBio.00193-16>
- Gaji, R. Y., Sharp, A. K., & Brown, A. M. (2021). Protein kinases in *Toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology*, 51(6), 415–429. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.11.006>
- Guan, P., Doytchinova, I. A., Zygouri, C., & Flower, D. R. (2003). MHCpred: A server for quantitative prediction of peptide-MHC binding. *Nucleic Acids Research*, 31(13), 3621–3624. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg510>
- Khobragade, A., Bhate, S., Ramaiah, V., Deshpande, S., Giri, K., Phophle, H., Supe, P., Godara, I., Revanna, R., Nagarkar, R., Sanmukhani, J., Dey, A., Rajanathan, T. M. C., Kansagra, K., & Koradia, P. (2022). Efficacy, safety, and immunogenicity of the DNA SARS-CoV-2 vaccine (ZyCoV-D): The interim efficacy results of a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled study in India. *The Lancet*, 399(10332), 1313–1321. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00151-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00151-9)
- Lagos, M., Díaz, C., & Hernández, P. (2020). Immune response and allergies to vaccines. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 31(3), 256–269. <https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2020.04.003>
- Mani, R., Abdelaziz, M. H., Ochiai, E., Sa, Q., Fox, B. A., Bzik, D. J., & Suzuki, Y. (2023). Dense granule protein 3 of *Toxoplasma gondii* plays a crucial role in the capability of the tissue cysts of the parasite to persist in the presence of anti-cyst CD8+ T cells during the chronic stage of infection. *Frontiers in Immunology*, 14, 1272221. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1272221>
- Molan, A., Nosaka, K., Hunter, M., & Wang, W. (2019). Global status of *Toxoplasma gondii* infection: Systematic review and prevalence snapshots. *Tropical Biomedicine*, 36(4), 898–908. (Nota: Página estimada agregada si es necesaria; verificar si desea precisión exacta)
- Ojha, R., Pandey, R. K., & Prajapati, V. K. (2020). Vaccinomics strategy to concoct a promising subunit vaccine for visceral leishmaniasis targeting sandfly and leishmania antigens. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, 548–557. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.097>
- Pollard, A. J., & Bijker, E. M. (2021). A guide to vaccinology: From basic principles to new developments. *Nature Reviews Immunology*, 21(2), 83–100. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-00479-7>
- Ponomarenko, J., Bui, H. H., Li, W., Fusseder, N., Bourne, P. E., Sette, A., & Peters, B. (2008). ElliPro: A new structure-based tool for the prediction of antibody epitopes. *BMC Bioinformatics*, 9, 514. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-514>
- Reynisson, B., Alvarez, B., Paul, S., Peters, B., & Nielsen, M. (2021). NetMHCpan-4.1 and NetMHCIIpan-4.0: Improved predictions of MHC antigen presentation by concurrent motif

- deconvolution and integration of MS MHC eluted ligand data. *Nucleic Acids Research*, 48(W1), W449–W454. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa379>
- Al-Malki, E. (2021). Toxoplasmosis: Stages of the protozoan life cycle and risk assessment in humans and animals for an enhanced awareness and an improved socio-economic status. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 962–969. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.007>
- Smith, N. C., Goulart, C., Hayward, J. A., Kupz, A., Miller, C. M., & van Dooren, G. G. (2021). Control of human toxoplasmosis. *International Journal for Parasitology*, 51(2–3), 95–121. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.11.001>
- Wan, C., Zhang, J., Zhao, L., Cheng, X., Gao, C., Wang, Y., Xu, W., Zou, Q., & Gu, J. (2019). Rational design of a chimeric derivative of PcrV as a subunit vaccine against *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in Immunology*, 10, 781. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00781>
- World Health Organization (WHO). (2022). *Recomendaciones provisionales sobre el uso de la vacuna BNT162b2 de Pfizer y BioNTech contra la COVID-19 en el marco de la Lista OMS de Uso en Emergencias*. <https://www.who.int/groups/strategic-advisory-group-of-experts-on-immunization/covid-19-materials>
- Yassein, A. A. M., Teleb, A. A., Hassan, G. M., & El Fiky, Z. A. (2021). The immune response and protective efficacy of a potential DNA vaccine against virulent *Pasteurella multocida*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00180-9>
- Yurina, V., & Adianingsih, O. R. (2022). Predicting epitopes for vaccine development using bioinformatics tools. *Therapeutic Advances in Vaccines and Immunotherapy*, 10, 25151355221100218. <https://doi.org/10.1177/25151355221100218>
- Zhou, X., Zheng, W., Li, Y., Pearce, R., Zhang, C., Bell, E. W., Zhang, G., & Zhang, Y. (2022). I-TASSER-MTD: A deep-learning-based platform for multi-domain protein structure and function prediction. *Nature Protocols*, 17(10), 2326–2353. <https://doi.org/10.1038/s41596-022-00728-0>
- Zhu, Y., Xu, Y., Hong, L., Zhou, C., & Chen, J. (2021). Immunization with a DNA vaccine encoding the *Toxoplasma gondii*'s GRA39 prolongs survival and reduces brain cyst formation in a murine model. *Frontiers in Microbiology*, 12, 630682. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.630682>

# Evaluación de la cinética de crecimiento y determinación de clorofila de un consorcio del género *Scenedesmus* empleando diferentes medios de cultivo.

## Growth kinetics evaluation and chlorophyll determination of a *Scenedesmus* consortium using different culture media

Camacho-Barraza, T.J.<sup>1</sup>, Domínguez-López, A.V.<sup>2</sup>, Ramírez-Medina, J.A.<sup>3</sup>, Luna-Avelar, K.D.<sup>4</sup>, Santos-Ballardo, D.U.<sup>4,5</sup>, Gárate-Osuna, A.J.<sup>6\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de febrero 818 Sur, CP 85000, Cd. Obregón, Sonora, México. <sup>2</sup>Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California, Blvd. Benito Juárez S/N, Parcela 44, CP 21280, Mexicali, Baja California, México. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, Calzada de las Américas Norte 2771, Cd. Universitaria, Burócrata, CP 80030, Culiacán Rosales, Sinaloa, México. <sup>4</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD) Mazatlán Unidad Av. Sábalo Cerritos s/n Estero del Yugo, A.P. 711, CP 82000, Mazatlán, Sinaloa, México. <sup>5</sup>Unidad Académica de Ingeniería en Energía, Maestría en Ciencias Aplicadas, Universidad Politécnica de Sinaloa, Carretera Municipal Libre Mazatlán-Higueras Km 3, CP 82199, Mazatlán, Sinaloa, México. <sup>6</sup>Doctorado en Ciencias en Biotecnología, Programa Integral de Posgrado en Biotecnología, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa.

### RESUMEN

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos que han captado un creciente interés debido a su potencial en aplicaciones industriales y biotecnológicas. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de dos medios de crecimiento (Guillard & Ryther F/2 Media, y Bold's Basal Medium BBM) en parámetros cinéticos y la producción de clorofila de un consorcio nativo de Sinaloa del género *Scenedesmus*. Los resultados obtenidos mostraron la influencia en el medio utilizado, se obtuvo un tiempo de duplicación (*td*) de 0.9259 días en BBM y 1.0804 días en F/2. De igual manera, las densidades celulares máximas alcanzadas fueron de  $6.03 \pm 0.34 \times 10^6$  células mL<sup>-1</sup> para BBM y  $14.06 \pm 3.20 \times 10^6$  células mL<sup>-1</sup> para F/2, respectivamente. Con estos resultados, se pudo inferir que el medio BBM favorece el tiempo de duplicación, mientras que el F/2 favoreció en la densidad celular máxima alcanzada, pudiéndose traducir a más cantidad de biomasa por litro. Evaluar el comportamiento de la cinética de crecimiento en distintos medios de cultivo es crucial para optimizar las condiciones del cultivo, maximizando las tasas de crecimiento y acumulación de compuestos de interés, identificando las condiciones óptimas para la producción a gran escala, lo que permite optimizar la eficiencia, sostenibilidad y viabilidad económica de una biorrefinería.

**Palabras claves:** Bioenergía, Bioprocesos, Microalgas, Parámetros cinéticos

### ABSTRACT

Microalgae are photosynthetic microorganisms that have garnered increasing interest due to their potential in industrial and biotechnological applications. The aim of this study was to analyze the effect of two growth media (Guillard & Ryther F/2 Media, y Bold's Basal Medium) on growth parameters and chlorophyll production in a native consortium from Sinaloa belonging to the genus *Scenedesmus*. The results have shown the growth medium influences the outcomes, with a doubling time (*dt*) of 0.9259 days in BBM and 1.0804 days in F/2. Similarly, the maximum cell densities reached were  $6.03 \pm 0.34 \times 10^6$  cells mL<sup>-1</sup> for BBM and  $14.06 \pm 3.20 \times 10^6$  cells mL<sup>-1</sup> for F/2. According to these results, it can be inferred that BBM favors the doubling time, while F/2 promotes a higher maximum cell density, potentially translating into more biomass per liter. Evaluating growth kinetics in different culture media is crucial to optimizing cultivation conditions, maximizing growth rates and accumulation of target compounds, and identifying optimal conditions for large-scale production, thus improving the efficiency, sustainability, and economic viability of a biorefinery.

**Keywords:** Bioenergy, Bioprocesses, Microalgae, Kinetic parameters.

\*Autor de correspondencia: Andrea Garate Osuna

Email: [andregarateosuna@gmail.com](mailto:andregarateosuna@gmail.com)

ORCID ID: [0009-0008-1014-790X](https://orcid.org/0009-0008-1014-790X)

Registro ORCID Autores: SB: [0000-0001-5058-8621](https://orcid.org/0000-0001-5058-8621); LA: [0000-0002-3493-8123](https://orcid.org/0000-0002-3493-8123); RM: [0009-0008-2822-0407](https://orcid.org/0009-0008-2822-0407);

DL: [0009-0007-7659-9565](https://orcid.org/0009-0007-7659-9565); CB: [0009-0007-0904-4375](https://orcid.org/0009-0007-0904-4375);

Revista online: <https://revistas.uas.edu.mx/index.php/QBU/index>

## INTRODUCCIÓN

Las microalgas son microorganismos unicelulares que se encuentran en los ecosistemas acuáticos y contribuyen a la fotosíntesis, y son las responsables de generar aproximadamente el 60-70% del oxígeno del planeta (Shaikh *et al.*, 2022). Las microalgas han sido estudiadas desde mediados del siglo XX debido a su capacidad para producir metabolitos de interés, así como su importancia industrial para la producción de pigmentos, biocombustibles, fármacos y suplementos alimenticios (Vázquez-Romero *et al.*, 2022). El uso de la biotecnología en el cultivo y formulación de bioprocesos a base de microalgas se considera pilar fundamental e innovador para la bioeconomía y el desarrollo sostenible debido al incremento de demanda de alimentos, energía y biocombustibles, lo que lo convierte en una materia prima fundamental en términos de sustentabilidad y desarrollo, ya que no compromete recursos y es amigable con el medio ambiente (Fasaei *et al.*, 2018; Wibisono *et al.*, 2019; Maroneze *et al.*, 2021).

En los últimos años, las industrias de nutricosmética y de alimentación funcional se han sumado a las industrias que pueden ser beneficiadas por las microalgas, ya que estas son reconocidas por ser productoras naturales de pigmentos bioactivos como la clorofila. La clorofila es un pigmento natural que se encuentra en plantas, algas y cianobacterias, tiene un importante potencial medicinal como agente antioxidante, antibacteriano y antitumoral (Sun *et al.*, 2024). La clorofila desempeña un papel crucial en la fotosíntesis para absorber y transformar la energía solar en energía química, desencadenar la fijación de CO<sub>2</sub> en carbohidratos, entre otros (Rinawati *et al.*, 2020). La extracción de clorofila a partir de microalgas representa numerosas ventajas sobre fuentes convencionales debido a la eficiencia, sustentabilidad y bioactividad de los procesos de extracción. El contenido de clorofila en las microalgas va desde el 2.5-10% dependiendo de la especie, en el caso de las microalgas verdes pueden acumular niveles de clorofila de hasta el 10% de su peso seco celular (Herrera & Roca, 2023). Esta alta concentración intracelular los convierte en una prometedora fuente alternativa para la extracción de clorofila (Halim y Danquah, 2013; Fernandes *et al.*, 2020; Sarkar *et al.*, 2020). Actualmente, se han desarrollado métodos avanzados que permiten mejorar los rendimientos y la calidad del extracto de clorofila a partir de microalgas, métodos como la extracción asistida por microondas (MAE), ultrasonido (EAU) e infrarrojos (IR) han demostrado mejorar los rendimientos y la calidad del extracto; además, el uso de biorreactores para el cultivo y extracción de

microalgas permiten cultivarlas bajo condiciones controladas lo que reduce el consumo de energía e impacto ambiental (Georgiopoulou *et al.*, 2023; Herrera & Roca, 2023).

La acumulación de compuestos en las microalgas se ve afectado por distintas condiciones, como la temperatura, la iluminación, el pH, y la fuente de nutrientes (Ozkurt, 2009); esta última teniendo una repercusión en el comportamiento de crecimiento microalgal y el tipo de compuesto que acumulan (Udayan *et al.*, 2023). Las microalgas necesitan nitrógeno y fósforo como nutrientes principales, y estos representan del 10 al 20% de la biomasa microalgal. Otros requisitos nutrimentales para el crecimiento son los macronutrientes (Sodio [Na], Magnesio [Mg], Calcio [Ca] y potasio [K]); micronutrientes (Molibdeno [Mo], Manganeseo [Mn], Boro [B], Cobre [Co], Hierro [Fe] y Zinc [Zn]); y otros oligoelementos (Khan *et al.*, 2018). La formulación de los medios de cultivo tiene un impacto significativo en la producción de biomasa debido a que puede influir en el crecimiento y la acumulación de metabolitos de interés (Hernández-Pérez & Labbé, 2014). Diversos estudios destacan la importancia de optimizar la composición de los medios de cultivo para mejorar la producción de biomasa y la síntesis de compuestos de valor agregado (Phuong & Ly, 2023). Factores como el equilibrio de nutrientes, la luz, la temperatura y la presencia de reguladores del crecimiento desempeñan un papel crucial en la eficiencia del cultivo y el rendimiento de compuestos bioactivos (Udayan *et al.*, 2023).

Se ha demostrado que alterar la concentración de nitrógeno y fósforo en géneros como *Spirulina*, *Chlorella*, *Scenedesmus* y *Nannochloropsis* puede afectar la curva de crecimiento y la producción de biomasa por lo que seleccionar una composición adecuada de medio de cultivo es esencial para optimizar la producción de clorofila y compuestos de interés en el cultivo de microalgas (Difusa *et al.*, 2015; Pratiwi *et al.*, 2023).

Las microalgas del género *Scenedesmus* son microalgas verdes dulceacuícolas, tienen un tamaño de aproximadamente 10-20 µm, y presenta un contenido de lípidos de 16-40% (Khodadadianzaghmari *et al.*, 2024). Además, son reconocidas por su alta producción de biomasa y composición bioquímica que incluye carbohidratos, proteínas, clorofila *a*, carotenoides y lípidos (Difusa *et al.*, 2015). Distintos estudios argumentan que las especies de este género de microalga podrían ser buena fuente de clorofila en condiciones específicas como una temperatura de 25-30°C, una intensidad de luz de 95-150 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> y

un pH entre 6.0 a 8.5 (Yadav *et al.*, 2023; Ziganshina *et al.*, 2023; Tapia-López *et al.*, 2024), empleando medios de cultivo como lo son el Basal Bold's Medium (BBM) y el BG-11 (Thakur *et al.*, 2022). El medio BBM incrementa la producción de biomasa, lípidos y carotenoides en *Scenedesmus obliquus* (Thakur *et al.*, 2022). Mientras que el medio BG-11 ha demostrado mejorar la tasa de crecimiento de microalgas y la acumulación de ácidos grasos, lo que lo convierte en un medio de cultivo viable en procesos de producción de biodiésel (Pandey *et al.*, 2020).

Algunas de las especies más investigadas son *Scenedesmus obliquus*, *Scenedesmus bijugusi* y *Scenedesmus rubescens* (Maroneze *et al.*, 2019; Thakur *et al.*, 2022); sin embargo, existen pocos estudios que utilicen consorcios de microalgas nativas, debido a que su uso representa desafíos en la biotecnología industrial, como la lentitud de las tasas de crecimiento y baja productividad, pero ofrece soluciones multidisciplinarias para la producción sostenible (Barraza, 2011).

Actualmente, existen pocos estudios que utilicen consorcios de microalgas, puesto que representan desafíos para su total cultivo y aprovechamiento. No obstante, también es considerada una ventaja al poder ser encontradas en diversos cuerpos de agua locales de manera natural, siendo una oportunidad que se considera inexplorada hoy en día, desperdiciando un recurso natural al alcance. El objetivo del presente estudio es evaluar el comportamiento de crecimiento y la producción de clorofila de un consorcio microalgal nativo de cuerpos de agua de Mazatlán, Sinaloa, conformado mayoritariamente de especies del género *Scenedesmus*, utilizando dos distintos medios de cultivo (Guillard & Ryther Medio [F/2], y el Bold's Basal Medium [BBM]) bajo condiciones controladas de laboratorio.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### MICROALGAS

El consorcio C-SceMAZ fue recolectado de una laguna en el municipio de Mazatlán, Sinaloa, México. Este consorcio fue purificado de microorganismos como bacterias y hongos, y posteriormente almacenado en tubos de ensayo (15 mL) a una temperatura de 25 ( $\pm$ 1) °C, e iluminación constante (6000 luxes). Los cultivos de C-SceMAZ en los tubos de 15 mL fueron monitoreados diariamente, y se les suministró nutrientes cada siete días. Se lograron identificar algunas especies mayoritarias del género *Scenedesmus* (Figura 1) y algunas otras especies minoritarias (<1%). El consorcio fue donado por el laboratorio de Bioenergía de la Universidad Politécnica de Sinaloa (UPSIN), y el Centro Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C (CIAD) unidad Mazatlán.

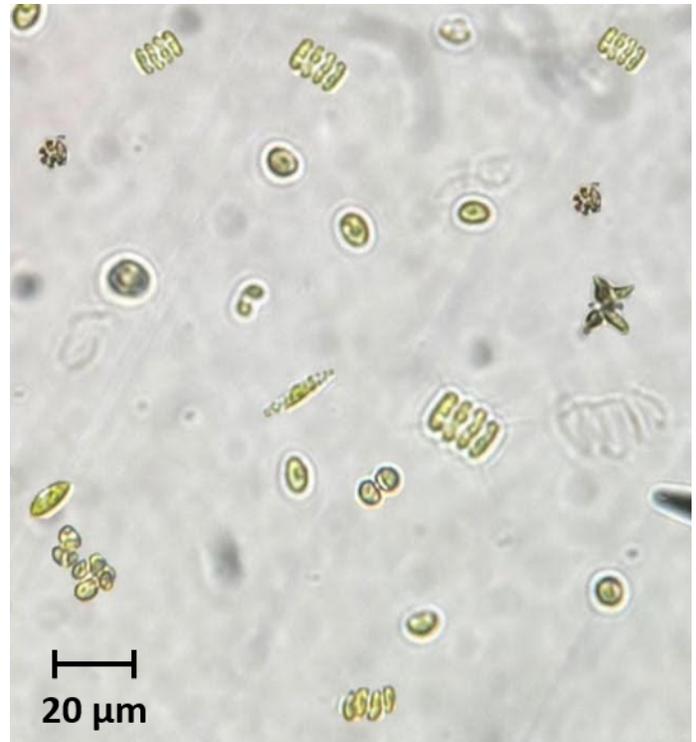


Figura 1. Consorcio microalgal del género *Scenedesmus*.

### CULTIVO MICROALGAL

El cultivo de microalgas se realizó mediante la técnica de transferencias sucesivas, donde se inocularon 15 mL del consorcio en matraces de 250 mL hasta alcanzar una concentración aproximada de  $10.0 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ . Posteriormente, se inocularon reactores de 3 L con dos medios de cultivo, Bold's Basal Medium (BBM) y Guillard & Rtyher Media (F/2) por triplicado (Figura 2), donde se calculó una concentración inicial por reactor de aproximadamente  $5.0 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$ . Las condiciones de cultivo fueron: temperatura de  $25 \pm 1$  °C, agitación administrada mediante aire filtrado (bomba), pH entre 6.0-6.5, y un régimen de luz constante suministrado por LEDs con una intensidad lumínica de 6000 luxes (LightMeter modelo HS1010). La composición nutrimental final por litro para medio BBM reportado por Brown *et al.* (1964) & Nichols y Bold (1965) fue de 0.25 g de  $\text{NaNO}_3$ , 0.025 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.075g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.175 g  $\text{KH}_2\text{HPO}_4$ , 0.075 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.025 NaCl, 0.001 g  $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.0028 g  $\text{HBO}_3$ , 0.0018 g  $\text{MnCl}_2$ , 0.002 g  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.004  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.0008  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , y 0.0005  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . Para el medio F/2 reportado por Guillard y Ryther (1962) la composición final por litro fue de 75 g  $\text{NaNO}_3$ , 5.65 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 4.36 g EDTA, 3.15 g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.010 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0.022 g  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.010 g  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.180 g  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.006 g  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 2 g de

cianocobalamina cristalina (B12), 0.100 g de tiamina-HC (B1) y 0.001 g de biotina cristalina.



**Figura 2.** Experimento en reactores de 3 L del cultivo del consorcio C-SceMAZ (consorcios *Scenedesmus* sp.) inicial.

### CINÉTICA DE CRECIMIENTO

La determinación de la concentración celular se realizó por medio de dos metodologías, (1) conteos celulares con hematocitómetro, y (2) determinación de absorbancia por espectrofotometría las cuales fueron adaptadas de Godoy-Hernández & Vázquez-Flota (2006), Mikschofsky *et al.* (2009) y Santos-Ballardo *et al.* (2015). Para los conteos celulares, se tomaron muestras por triplicado cada 24 horas de cada uno de los reactores, y se contabilizaron las células por mililitro utilizando un hematocitómetro (cámara de Neubauer doble línea brillante, 0.0025 mm<sup>2</sup> LUZERN®), y un microscopio (OLYMPUS CX31). Para la determinación de absorbancia por espectrofotometría, se utilizó un espectrofotómetro (GENESIS 10-S UV-Vis, Thermo Scientific), del triplicado de muestras de cada reactor, a la misma hora de los conteos celulares, medidos a una longitud de onda de 680 nm.

### PARÁMETROS DE EFICIENCIA DE CRECIMIENTO

Para el análisis de eficiencia de crecimiento, se calcularon dos parámetros, la tasa de crecimiento específico ( $\mu$ ), y el tiempo de duplicación ( $td$ ). Estos parámetros se calcularon siguiendo la Ecuación (1) y la Ecuación (2) (Godoy-Hernández & Vázquez-Flota, 2006).

$$(1) \quad \mu = \frac{\ln X - \ln X_0}{t}$$

$$(2) \quad td = \frac{\ln 2}{\mu}$$

donde  $\mu$  corresponde a la tasa de crecimiento específico, que se traduce en la eficiencia de crecimiento de la microalga (días<sup>-1</sup>); X valor final (de absorbancia o densidad celular) de la etapa de crecimiento exponencial,

$X_0$  indica el valor inicial (de absorbancia o densidad celular) de la etapa de crecimiento exponencial,  $t$  es el tiempo; y  $td$  es el tiempo de duplicación (días). Asimismo, se determinaron las densidades celulares máximas y las absorbancias máximas alcanzadas.

### DETERMINACIÓN DE CLOROFILA

Para la determinación de clorofila se empleó una metodología adaptada de Price & Harrison (1987). Se colectaron 2 mL de cultivo cada 24 horas de cada reactor después de las 72 horas transcurridas de la cinética, debido al cambio significativo de color percibido entre medios de cultivo. Las muestras de cada reactor fueron filtradas y posteriormente se añadieron 10 mL de acetona al 90% y se dejaron reposar a 20°C por 24 horas. Pasado el tiempo, se leyeron las muestras por espectrofotometría UV-Vis a tres longitudes de onda: 664, 647 y 639 nm para determinar el contenido de clorofila *a*, *b* y *c* producida durante la cinética. Una vez finalizada la cinética, las muestras que se procesaron fueron cuantificadas y el total de la clorofila fue expresada en microgramos por mililitro ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de manera individual.

**Tabla 1.** Parámetros de eficiencia de crecimiento del consorcio microalgal

Parámetro	Medio BBM	Medio F/2
$\mu$ (d <sup>-1</sup> )	0.75 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.56 ± 0.14 <sup>a</sup>
$td$ (días)	0.92 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.26 ± 0.38 <sup>a</sup>
$\mu$ (d <sup>-1</sup> )*	0.96 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.71 ± 0.09 <sup>b</sup>
$td$ (días)*	0.72 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.97 ± 0.13 <sup>b</sup>
DMáx (células mL <sup>-1</sup> )	6.03 ± 0.34 x10 <sup>6a</sup>	14.06 ± 3.20 x10 <sup>6b</sup>
AbsMáx (u.a.)	0.48 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.66 ± 0.01 <sup>b</sup>

Los resultados presentados representan el promedio de los reactores, y ( $\pm$ ) representa la desviación estándar. Letras representan diferencias significativas en cada uno de los parámetros (filas). Análisis estadístico prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ,  $n=3$ ). DMáx: Densidad máxima; AbsMáx: Absorbancia máxima; u.a.: unidad arbitraria;  $d$ : días; cél: células; mL: mililitro;  $\mu$ : tasa de crecimiento específico;  $td$ : tiempo de duplicación. \*: parámetros de eficiencia de crecimiento calculados en función a la absorbancia; los valores sin (\*) corresponden a los calculados mediante conteos celulares.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para las pruebas estadísticas se realizaron pruebas de normalidad Shapiro-Wilk para comprobar la normalidad de los datos, y se realizaron análisis de varianzas (ANOVA) de un solo factor y comparación de medias por la prueba de Tukey's ( $p \leq 0.05$ ,  $n=3$ ), para los parámetros de eficiencia de crecimiento (tasas de crecimiento específico [ $\mu$ ] y tiempos de duplicación [ $td$ ]), densidades y absorbancias máximas; como también para los análisis de clorofila. Los análisis estadísticos fueron realizados en el software SigmaPlot Software ® versión 12.5.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### PARÁMETROS DE EFICIENCIA DE CRECIMIENTO

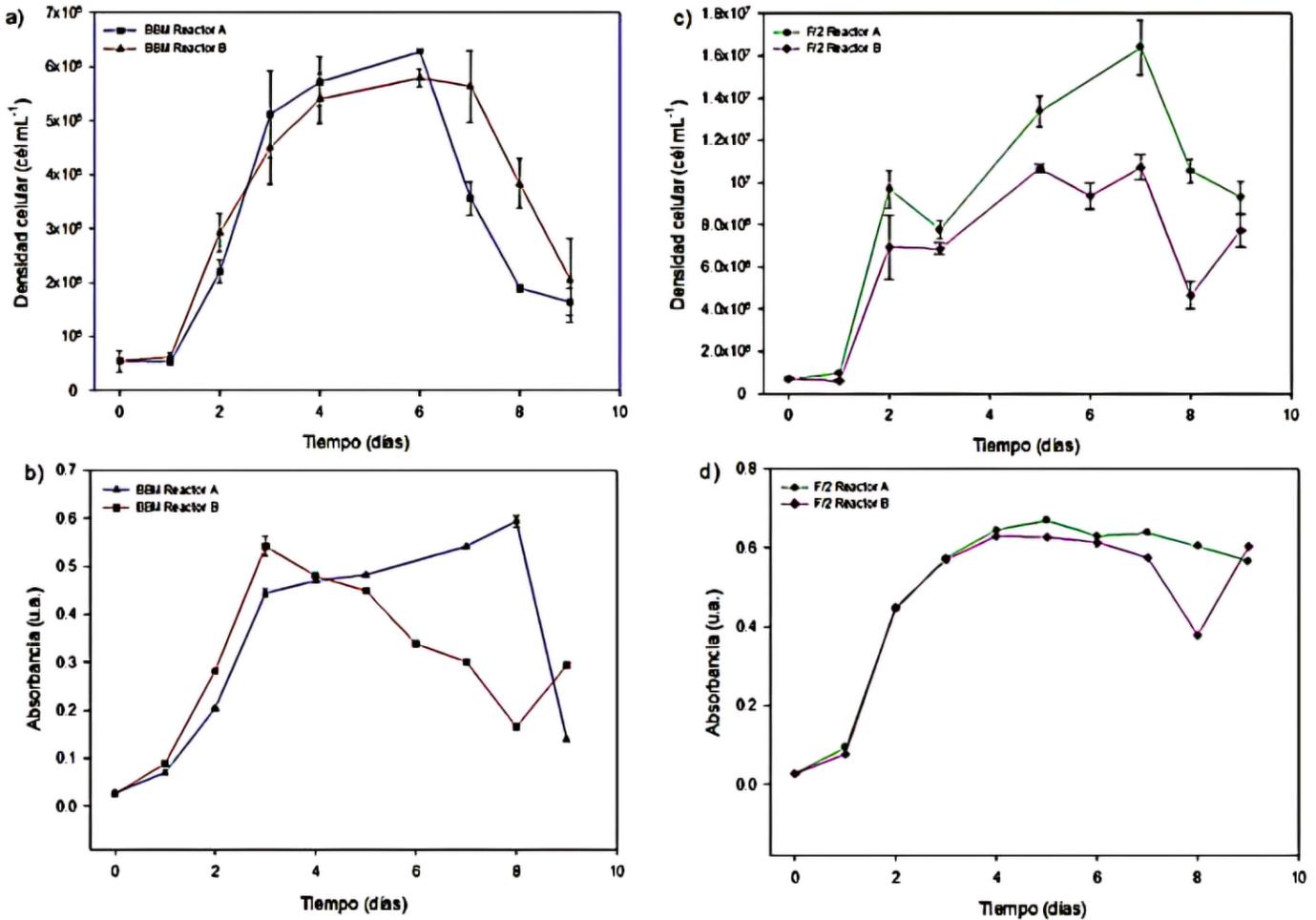
En relación con el comportamiento de crecimiento del consorcio microalgal, se encontraron diferencias en los parámetros de eficiencia de crecimiento, y en las densidades celulares entre ambos medios de cultivo (Tabla 1). En relación con los parámetros de eficiencia de crecimiento basados en conteos celulares, no se demostraron diferencias significativas entre los cultivos empleados. Esto puede deberse a que en uno de los cultivos (F/2) se observó un crecimiento errático de las microalgas para esta metodología (Figura 3), lo que influyó en los cálculos. Los resultados para el medio BBM mostraron una  $\mu$  de  $0.75 \pm 0.04 \text{ d}^{-1}$ , mientras que el medio F/2 mostró una  $\mu$  de  $0.58 \pm 0.18 \text{ d}^{-1}$ . Esto se traduce a que el medio BBM tuvo un tiempo de duplicación menor al medio F/2, siendo una  $td$  de  $0.92 \pm 0.05$  días, y  $1.24 \pm 0.38$  días, respectivamente. Para tener una visión más clara, estos tiempos se traducen a que BBM tardó 22 horas promedio en duplicarse, mientras que F/2 tardó casi 30 horas en duplicarse. Por otro lado, los mismos parámetros basados en la metodología de medición de absorbancia sí mostraron diferencias significativas, esto podría deberse a la naturaleza de la metodología, ya que la superposición de células y la presencia de restos celulares podría influir en la medición (Ribeiro-Rodrigues *et al.*, 2011), lo que se traduciría en diferencias entre los parámetros de eficiencia. Los resultados con esta metodología reportaron valores de  $\mu$  y  $td$  menores a la metodología por conteos celulares (alrededor de un 22% menor), obteniendo valores de  $\mu$  de  $0.96 \pm 0.05$  y  $0.71 \pm 0.09 \text{ d}^{-1}$ , y valores de  $td$  de  $0.72 \pm 0.04$  y  $0.97 \pm 0.13$  días, para BBM y F/2, respectivamente.

Esto concuerda con lo reportado por algunos autores que ofrecen modelos matemáticos predictivos de concentración celular, donde correlacionan las metodologías para poder predecir los conteos

celulares en función de la absorbancia, ya que la espectrofotometría es un método más rápido, y disminuye los errores por el humano (Santos-Ballardo *et al.*, 2015).

Un estudio realizado por Díaz-Escudero *et al.* (2023) en la Universidad de la Guajira, emplearon tres cepas de *Scenedesmus* sp. (N7, N10 y N15) cultivadas en medio Guillard F/2 para la obtención de pigmentos liposolubles e hidrosolubles, obteniendo valores de  $\mu$  de 0.11, 0.14 y 0.09  $\text{d}^{-1}$ , respectivamente, y valores de  $td$  de 6.30, 4.95 y 7.70 días durante su etapa exponencial. Verduga (2020) realizó un estudio sobre la propagación de *Scenedesmus* sp. empleando medio BG11 mezclado con aguas residuales de industrial láctica (DIWW), reportando resultados de parámetros de eficiencia de crecimiento de  $\mu=0.69 \pm 0.08 \text{ d}^{-1}$  y una  $td$  de  $1.00 \pm 0.136$  días en el medio BG11 y  $1.00 \pm 0.004$  días en las aguas residuales lácticas (DIWW). En ambos estudios se obtuvieron parámetros de eficiencia de crecimiento menores a los reportados, esto se puede atribuir a la influencia del medio de cultivo y las condiciones del cultivo que influye en la producción de biomasa en la eficiencia de uso de los recursos disponibles, o también la adaptabilidad inicial del consorcio a los medios de cultivo empleados, y también diferencias en los tiempos de depleción de nutrientes (Quevedo *et al.*, 2008; Brito *et al.*, 2013). La transición más rápida hacia la fase de muerte celular en el medio BBM puede limitar su aplicación en procesos biotecnológicos a largo plazo, donde se requiera un crecimiento sostenido. Por otro lado, la capacidad del medio F/2 para mantener un crecimiento celular elevado durante un período más prolongado sugiere que podría ser más adecuado para la producción continua de biomasa (Brito *et al.*, 2013).

Sin embargo, se observó un fenómeno opuesto en las densidades celulares máximas alcanzadas. El medio BBM alcanzó una densidad celular máxima de  $6.03 \pm 0.34 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ , mientras que F/2 mostró una densidad celular mayor, alcanzando más del doble de células por mililitro, con un promedio de  $14.06 \pm 3.20 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ . La densidad máxima alcanzada para el medio BBM entre los días seis y siete de la cinética, mientras que para el medio F/2 se encontró entre los días siete y nueve. El comportamiento observado en las absorbancias refleja comportamientos distintos, en el medio F2 es constante, lo que sugiere un crecimiento uniforme y sostenido del consorcio microalgal. Mientras que el medio BBM muestra un comportamiento errático lo que podría indicar la necesidad de mejorar las condiciones operativas o ajustar la composición del medio para garantizar estabilidad. Con respecto a las diferencias de densidades celulares encontradas en ambos medios, es



**Figura 3.** Cinéticas de crecimiento del consorcio microalgal. a) Conteos celulares medio BBM, b) absorbancia medio BBM, c) conteos celulares medio F/2 y d) absorbancia medio F/2.

posible que el medio F/2 debido a su composición rica en nutrientes, permitió un desarrollo celular más prolongado en comparación con el medio BBM. Por otra parte, existe la posibilidad de que el patrón de crecimiento inusual se deba a un fenómeno de adaptación a condiciones de estrés para *Scenedesmus*, puesto que el medio F/2 tiene concentraciones de NaCl más elevadas que el medio BBM (Morales *et al.*, 2019). Este último, aunque promovió un crecimiento inicial rápido, no mantuvo las células viables durante tanto tiempo, lo que sugiere limitaciones nutricionales que aceleraron la fase de muerte celular.

En el estudio realizado por Vázquez & Ayala (2017) encontraron una densidad celular máxima de *Scenedesmus obliquus* de  $6.14 \times 10^6$  células mL<sup>-1</sup> en el día 14 en medio BBM, mientras Zhao *et al.* (2011) encontraron una densidad celular máxima de  $30.30 \times 10^6$  en el día seis en medio F/2

para *S. obliquus*. La variabilidad en las concentraciones celulares máximas y las tasas de crecimiento entre ambos medios podría deberse a ligeras diferencias en las condiciones operativas o a factores inherentes al consorcio de microalgas, como la heterogeneidad en la población celular (Iba *et al.*, 2023). De igual manera, las diferencias presentadas entre reactores del mismo medio, puede deberse a las mismas circunstancias de desafíos al momento de adaptabilidad microalgal. Esto destaca la importancia de la replicación experimental para asegurar la reproducibilidad de los resultados (Herrera & Roca, 2023).

#### DETERMINACIÓN DE CLOROFILA

Se evaluó la concentración de clorofila *a*, *b* y *c* totales en los reactores de ambos medios (BBM y F/2), esto para determinar la eficiencia

fotosintética del consorcio microalgal. Los cultivos mostraron diferencias significativas en las clorofilas tipo *a* y *b* entre los medios BBM en comparación con los del medio F/2; sin embargo, no mostraron diferencias en la clorofila *c* (Tabla 2). Es importante resaltar que la clorofila tipo *c* fue analizada debido a que el consorcio tiene especies de microalgas no identificadas, a pesar de que la bibliografía menciona que las algas del género *Scenedesmus* poseen clorofila *a* y *b*, el empleo de medios diferentes podría contribuir al crecimiento de otras especies que posiblemente estaban presentes en el consorcio en concentraciones pequeñas, que pudieron pasar por procesos de adaptación o competir entre especies (Morales *et al.*, 2017). En la Figura 4 se observa un cambio en los biorreactores, donde se intensificó el color verde del medio, tras 48 horas de la cinética. La producción de clorofila tuvo variaciones en medio BBM y F/2. En la clorofila *a* se encontraron valores de  $2.52 \pm 0.29 \mu\text{g mL}^{-1}$  en el medio BBM mientras que en el medio Guillard se encontraron valores de  $0.23 \pm 0.02 \mu\text{g mL}^{-1}$ , para la clorofila *b* se encontraron valores de  $2.05 \pm 0.53 \mu\text{g mL}^{-1}$  en medio BBM y de  $0.14 \pm 0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$  en F/2 y para la clorofila *c* de  $2.79 \pm 0.64 \mu\text{g mL}^{-1}$  en medio BBM y de  $1.10 \pm 0.01 \mu\text{g mL}^{-1}$  en medio F/2, lo que representa que el medio BBM tuvo una producción significativamente mayor en comparación con el medio Guillard. Las microalgas del género *Scenedesmus* tienen un contenido alto de clorofila (en promedio un 49.47% del total de lípidos), lo que las convierte en una fuente valiosa para la extracción de pigmentos y compuestos bioactivos (Fidalgo *et al.*, 1998).

La mayor concentración de clorofila en el medio BBM sugiere una mayor eficiencia fotosintética y un uso más efectivo de los nutrientes disponibles, contribuyendo a un crecimiento celular más rápido. En contraste, la disminución de la clorofila en el medio F/2 indica una rápida depleción de los nutrientes esenciales, lo que resultó en una reducción de la actividad fotosintética y consecuentemente, en una actividad de duplicación más lenta.

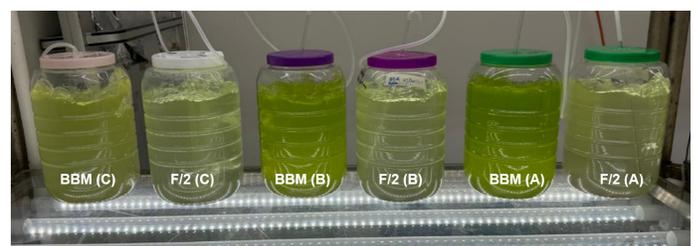
García-Cañedo *et al.* (2009) evaluaron la producción de clorofila *a* y *b* en *Scenedesmus incrassatulus* en medio BBM obteniendo valores máximos de  $10.6$  y  $5.72 \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente.

**Tabla 2.** Clorofilas totales en cada uno de los medios del consorcio microalgal

Clorofila	Medio BBM	Medio F/2
<i>a</i>	$2.52 \pm 0.29^a$	$0.23 \pm 0.02^b$
<i>b</i>	$2.05 \pm 0.53^a$	$0.14 \pm 0.04^b$
<i>c</i>	$2.79 \pm 0.64^a$	$1.10 \pm 0.01^a$

Todos los resultados están expresados en  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Los resultados presentados representan el promedio, y ( $\pm$ ) representa la desviación estándar entre reactores del mismo medio. Letras representan diferencias significativas en cada una de las clorofilas (filas). Análisis estadístico prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ,  $n=3$ ).

Mientras que otro estudio realizado por Rinanti *et al.* (2013) determinó el contenido de clorofila *a* y *b* de *Scenedesmos obliquus* en distintos tipos de medios de cultivo (Zarrouk, Schlosser y Haematococcus provasollis). Dicho estudio demuestra cómo las composiciones de los medios de cultivo repercuten en la cinética de crecimiento y la producción de clorofila, así como la viabilidad de la microalga *Scenedesmos obliquus* para la producción de clorofila, en la cual el medio de Haematococcus Provasollis Medium (PHM) mostró una mayor eficiencia en la producción de clorofilas *a* y *b* con valores  $1300$  y  $1600 \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente; seguido del medio Zarrouk con  $700 \mu\text{g mL}^{-1}$  y  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  mientras que en el medio Schlosser obtuvo un rendimiento menor con  $140 \mu\text{g mL}^{-1}$  para ambos tipos de clorofila.



**Figura 4.** Cinética de crecimiento en curso del consorcio C-SceMAZ, donde se visualizan intensidades de verde distintos en cada medio después de 48 horas.

El contenido de clorofila en las microalgas está influenciado por factores ambientales y las condiciones de cultivo (Ferreira *et al.*, 2016). Las investigaciones indican que tanto la intensidad de la luz como la disponibilidad de nutrientes (como nitrógeno y fósforo) desempeñan un papel fundamental en la modulación de los niveles de clorofila, que son

esenciales para la fotosíntesis y la producción de biomasa (Dean *et al.*, 2010; da Silva Ferreira & Sant'Anna, 2017).

Los estudios realizados por García-Cañedo *et al.* (2009) y Rinanti *et al.* (2013) demuestran como las condiciones de cultivo están directamente relacionadas con la producción de clorofila. García-Cañedo *et al.* (2009) reportaron valores de 10.6  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para clorofila a y 5.72  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para clorofila b en *Scenedesmus incrassatulus* cultivado en medio BBM. Mientras que Rinanti *et al.* (2013) obtuvieron valores de hasta 1300  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de clorofila a y 1600  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de clorofila b. Estas diferencias pueden deberse a que la composición de los medios de cultivo de Rinanti *et al.* (2013) están diseñados para funciones específicas, ofreciendo una mayor disponibilidad de nutrientes esenciales para la biosíntesis de pigmentos, en comparación con el medio BBM. Otro factor que pudo inferir es el fotoperiodo y la intensidad lumínica. García-Cañedo *et al.* (2009) reportaron un fotoperiodo de 10:14h (luz/oscuridad) y 200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ . Mientras que Rinanti *et al.* (2013) reportó un fotoperiodo de 24:0 h y una intensidad lumínica de 2500 luxes, si bien nuestras condiciones operativas se acercaron más a las reportadas por Rinanti *et al.* (2013) con un fotoperiodo de 24:0 y 6000 luxes, lo que pudo influir más es el tipo de medio de cultivo y la etapa en la cual se determinó la clorofila, ya que el contenido de ésta puede variar significativamente dependiendo de la etapa del cultivo; se ha observado que durante la etapa estacionaria la producción de clorofila tiende a disminuir, lo que puede afectar la eficiencia fotosintética y, en consecuencia, el rendimiento general del cultivo (Fidalgo *et al.*, 1998).

## CONCLUSIONES

En la región de Sinaloa, cepas de géneros que crecen naturalmente, como el género *Scenedesmus*, presentan una notable ventaja en la adaptación y crecimiento con diferentes composiciones nutrimentales, siendo un recurso al alcance para su aprovechamiento, y una fuente potencial para la obtención de biomasa bajo condiciones controladas, y de pigmentos de alto nivel comercial como la clorofila. Las diferentes formulaciones de medios de cultivo impactaron significativamente el crecimiento y la producción de clorofila, lo que sugiere que la composición del medio es un factor crítico para optimizar la producción de microalga. Los resultados arrojados en las cinéticas y en la determinación de pigmentos abren un área de oportunidad para elegir que requerimientos nutrimentales se apegan más a nuestros objetivos, es decir, si es de interés un crecimiento rápido para la obtención de clorofila, se podría optar por un medio BBM; mientras que, si nos interesa una densidad

celular mayor, lo que se puede traducir a una mayor cantidad de biomasa, podemos recurrir a utilizar el medio F/2. Estos estudios abren horizontes para optimizar los bioprocesos que hoy en día, aún se encuentran en investigación para alcanzar una viabilidad técnico-económica favorable, sin dejar de lado el aspecto medioambiental, ya que el cultivo y aprovechamiento de estos recursos puede ser bajo un esquema sustentable. Se recomienda hacer análisis de otros parámetros como la acumulación de lípidos, proteínas y carbohidratos, para la elaboración de biocombustibles como biodiésel y biogás.

## AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) Unidad Mazatlán por el apoyo en el desarrollo de este proyecto. Se agradece a la M.C Irma Eugenia Martínez Rodríguez (CIAD), por el apoyo en las actividades de espectrofotometría, a la M.C Gabriela Aguilar Zarate (CIAD) por el apoyo en el desarrollo de los cálculos y análisis de resultados, a Gabriela Velasco Blanco (CIAD), Jesús Alejandro Ramírez Vargas (CIAD) por el apoyo en la capacitación de cultivo de microalgas, al Dr. Juan Manuel Martínez Brown (CIAD) por el apoyo con el espacio, equipo y material para el desarrollo de la investigación, y finalmente a Virginia Patricia Domínguez Jiménez (CIAD) por el apoyo con las mediciones de clorofila.

## DECLARACIÓN DE CONFLICTOS DE INTERÉS

Se declara que no existen conflictos de interés con respecto a la investigación, la autoría y/o la publicación de este manuscrito.

## REFERENCIAS

- Barraza, C. R. M. (2011). *Inducción lipídica por limitación de nutrientes en las microalgas Scenedesmus dimorphus y Chlorella sorokiniana* [Tesis de maestría, Centro de Investigación en Materiales Avanzados]. Repositorio Institucional CIMAV. <https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1004/2306>
- Boulay, C., Abasova, L., Six, C., Vass, I., & Kirilovsky, D. (2008). Occurrence and function of the orange carotenoid protein in photoprotective mechanism in various cyanobacteria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1777(10), 1344–1354. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2008.07.002>
- Brito, D., Castro, A., Colivet, J., Gómez, E., & Mora, R. (2013). Cinética de crecimiento de un cultivo mixto de las microalgas *Hyaloraphidium contortum* y *Pseudokirchneriella subcapitata*.

- Interciencia*, 38(8), 604–608. <https://www.redalyc.org/pdf/339/33928557009.pdf>
- Brown, R. M., Jr., Larson, D. A., & Bold, H. C. (1964). Airborne algae: Their abundance and heterogeneity. *Science*, 143(3606), 583–585. <https://doi.org/10.1126/science.143.3606.583>
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294–306. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>
- Dean, A. P., Sigee, D. C., & Pittman, B. E. J. K. (2010). Using FTIR spectroscopy for rapid determination of lipid accumulation in response to nitrogen limitation in freshwater microalgae. *Bioresource Technology*, 101(12), 4499–4507. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.01.065>
- Díaz-Escudero, J. D., Cárdenas, D. A. C. A., & Ayala, D. G. (2023). Cinética de crecimiento y producción de pigmentos de cepas nativas de *Scenedesmus* aisladas de un sistema de tratamiento de agua residual en La Guajira colombiana. *Ciencia e Ingeniería*, 10(1), e8091836. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8091836>
- Difusa, A., Talukdar, J., Kalita, M. C., Mohanty, K., & Goud, V. V. (2015). Effect of light intensity and pH condition on the growth, biomass and lipid content of microalgae *Scenedesmus* species. *Biofuels*, 6(1–2), 37–44. <https://doi.org/10.1080/17597269.2015.1045274>
- Fernandes, A. S., Petry, F. C., Mercadante, A. Z., Jacob-Lopes, E., & Zepka, L. Q. (2020). HPLC-PDA-MS/MS as a strategy to characterize and quantify natural pigments from microalgae. *Current Research in Food Science*, 3, 100–112. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2020.03.009>
- Ferreira, V. S., Pinto, R. F., & Sant’Anna, C. (2016). Low light intensity and nitrogen starvation modulate the chlorophyll content of *Scenedesmus dimorphus*. *Journal of Applied Microbiology*, 120(3), 661–670. <https://doi.org/10.1111/jam.13007>
- da Silva Ferreira, V., & Sant’Anna, C. (2017). Impact of culture conditions on the chlorophyll content of microalgae for biotechnological applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(1), 20. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2181-6>
- Fidalgo, J. P., Cid, A., Torres, E., Sukenik, A., & Herrero, C. (1998). Effects of nitrogen source and growth phase on proximate biochemical composition, lipid classes and fatty acid profile of the marine microalga *Isochrysis galbana*. *Aquaculture*, 166(1–2), 105–116. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00278-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00278-6)
- Fasaei, F., Bitter, J. H., Slegers, P. M., & Van Boxtel, A. J. B. (2018). Techno-economic evaluation of microalgae harvesting and dewatering systems. *Algal Research*, 31, 347–362. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.038>
- García-Cañedo, J. C., Cristiani-Urbina, E., Flores-Ortiz, C. M., Ponce-Noyola, T., & Olivia, R. (2009). Obtención de carotenoides a partir de la microalga *Scenedesmus incrassatulus*. *Memorias del Congreso de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería*. [https://smbb.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJO\\_S/AREA\\_III/OIII-10.pdf](https://smbb.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJO_S/AREA_III/OIII-10.pdf)
- Georgiopoulou, I., Louli, V., & Magoulas, K. (2023). Comparative study of conventional, microwave-assisted and supercritical fluid extraction of bioactive compounds from microalgae: The case of *Scenedesmus obliquus*. *Separations*, 10(5), 290. <https://doi.org/10.3390/separations10050290>
- Godoy-Hernández, G., & Vázquez-Flota, F. A. (2006). Growth measurements: Estimation of cell division and cell expansion. In F. A. Vázquez-Flota & J. J. Loyola-Vargas (Eds.), *Plant cell culture protocols* (pp. 51–58). Humana Press. <https://doi.org/10.1385/1-59259-959-1:1051>
- Halim, R., & Danquah, M. K. (2013). Bioprocess development for chlorophyll extraction from microalgae. In J. W. Lee (Ed.), *Advanced biofuels and bioproducts* (pp. 365–379). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3348-4\\_34](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3348-4_34)
- Hernández-Pérez, A., & Labbé, J. I. (2014). Microalgas, cultivo y beneficios. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(2), 157–173. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000200001>
- Herrera, M., & Roca, M. (2023). Microalgal chlorophylls for food/feed applications. In *Handbook of food and feed from microalgae* (pp. 147–160). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99196-4.00041-3>
- Ishaq, A. G., Matias-Peralta, H. M., & Basri, H. (2016). Bioactive compounds from green microalga *Scenedesmus* and its potential applications: A brief review. *Journal of Tropical Agricultural Science*, 39(1), 13–20. <http://psasir.upm.edu.my/id/eprint/58220/1/JTAS%20Vol.%2039%20%281%29%20Feb.%202016%20%28View%20Full%20Journal%29.pdf#page=13>

- Iba, W., Akib, N. I., Jumardin, L. O. M., Arif, B., Yosalina, S., & Andas, J. A. (2023). Organic culture media for sustainable carotenoid production from microalgae. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.109789>
- Khan, M. I., Shin, J. H., & Kim, J. D. (2018). The promising future of microalgae: Current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x>
- Khodadadianzaghmari, F., Jahadi, M., & Goli, M. (2024). Biochemical profile of *Scenedesmus* isolates, with a main focus on the fatty acid profile. *Food Science & Nutrition*, 12(8), 5922–5931. <https://doi.org/10.1002/fsn3.425>
- Lodi, A., Binaghi, L., De Faveri, D., Carvalho, J. C. M., Converti, A., & Del Borghi, M. (2005). Fed-batch mixotrophic cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina platensis*, Cyanophyceae) with carbon source pulse feeding. *Annals of Microbiology*, 55(3), 181–185. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20053180728>
- Maroneze, M. M., Herrera, C. A. M., & Jiménez, A. M. (2021). Perspectivas sobre los sistemas de cultivo de microalgas: Una revisión crítica [Insights into microalgae culture systems: A critical review]. *BioTecnología*, 25(5), 11–34. <https://smbb.mx/wp-content/uploads/2021/12/Manzoni-Maroneze-et-al.-2021.pdf>
- Maroneze, M. M., Zepka, L. Q., Lopes, E. J., Pérez-Gálvez, A., & Roca, M. (2019). Chlorophyll oxidative metabolism during the phototrophic and heterotrophic growth of *Scenedesmus obliquus*. *Antioxidants*, 8(12), 600. <https://doi.org/10.3390/antiox8120600>
- Mikschofsky, H., Hammer, M., Schmidtke, J., König, P., Keil, G., Schirrmeier, H., & Broer, I. (2009). Optimization of growth performance of freshly induced carrot suspensions concerning PMP production. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 45, 740–749. <https://doi.org/10.1007/s11627-008-9189-z>
- Morales, E., Macías, D., García, L., Loor, Y., & Plúas, L. (2019). Efecto de la salinidad y pH en la composición bioquímica de la microalga *Scenedesmus* sp. en cultivos discontinuos. *Revista Científica Ciencias Naturales y Ambientales*, 13(1), 50–56. <https://doi.org/10.53591/cna.v13i1.352>
- Morales, E., Luna, V., Navarro, L., Santana, V., Gordillo, A., & Arévalo, A. (2017). Diversidad de microalgas y cianobacterias en muestras provenientes de diferentes provincias del Ecuador, destinadas a una colección de cultivos. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 34, 129–149. <https://doi.org/10.26807/remcb.v34i1-2.240>
- Nichols, H. W., & Bold, H. C. (1965). *Trichosarcina polymorpha* gen. et sp. nov. *Journal of Phycology*, 1(1), 34–38. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1965.tb04552.x>
- Ozkurt, I. (2009). Qualifying of safflower and algae for energy. *Energy Education Science and Technology Part A - Energy Science and Research*, 23, 145–151. <https://doi.org/10.1007/978-1-84996-050-2>
- Phuong, N. T. D., & Ly, D. T. B. (2023). Investigation of the influence of microalgal culture medium on biomass production. *Vietnam Journal of Biotechnology*, 21(4), 699–705. <https://doi.org/10.15625/1811-4989/20567>
- Price, N. M., & Harrison, P. J. (1987). Comparison of methods for the analysis of dissolved urea in seawater. *Marine Biology*, 94, 307–317. <https://doi.org/10.1007/BF00392945>
- Pratiwi, N. T. M., Widigdo, B., Krisanti, M., Ayu, I. P., & Iswantari, A. (2023). The potential of modified karst water as a substitute for microalgae culture media. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 1260, No. 1, p. 012007). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1260/1/012007>
- Quevedo, C., Morales, S. P., & Acosta, A. (2008). *Scenedesmus* sp. growth in different culture mediums for microalgal protein production. *Vitae*, 15(1). <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169815394004.pdf>
- Ribeiro-Rodrigues, L., Arenzon, A., Raya-Rodríguez, M., & Fontoura, N. (2011). Algal density assessed by spectrophotometry: A calibration curve for the unicellular algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 225–228. <https://doi.org/10.5897/JECE2011.025>
- Rinawati, M., Sari, L. A., & Pursetyo, K. T. (2020). Chlorophyll and carotenoids analysis spectrophotometer using method on microalgae. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental*

- Science* (Vol. 441, No. 1, p. 012056). IOP Publishing. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/441/1/012056>
- Rinanti, A., Kardena, E., Astuti, D. I., & Dewi, K. (2013). Growth response and chlorophyll content of *Scenedesmus obliquus* cultivated in different artificial media. *Asian Journal of Environment Biology*, 1(1), 1–9. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3370.7926>
- Santo, G. E., Barros, A., Costa, M., Pereira, H., Trovão, M., Cardoso, H., ... & Silva, J. L. (2023). *Scenedesmus rubescens* heterotrophic production strategies for added value biomass. *Marine Drugs*, 21(7), 411. <https://doi.org/10.3390/md21070411>
- Santos-Ballardo, D. U., Rossi, S., Hernández, V., Gómez, R. V., del Carmen Rendón-Unceta, M., Caro-Corrales, J., & Valdez-Ortiz, A. (2015). A simple spectrophotometric method for biomass measurement of important microalgae species in aquaculture. *Aquaculture*, 448, 87–92. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.044>
- Sarkar, S., Manna, M. S., Bhowmick, T. K., & Gayen, K. (2020). Extraction of chlorophylls and carotenoids from dry and wet biomass of isolated *Chlorella thermophila*: Optimization of process parameters and modelling by artificial neural network. *Process Biochemistry*, 96, 58–72. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.05.025>
- Shaikh, R., Rizvi, A., Pandit, S., Desai, N., & Patil, R. (2022). Microalgae: Classification, bioactives, medicinal properties, industrial applications, and future prospectives. En *An Integration of Phycoremediation Processes in Wastewater Treatment* (pp. 451–486). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823499-0.00004-3>
- Sun, D., Wu, S., Li, X., Ge, B., Zhou, C., Yan, X., ... & Cheng, P. (2024). The structure, functions and potential medicinal effects of chlorophylls derived from microalgae. *Marine Drugs*, 22(2), 65. <https://doi.org/10.3390/md22020065>
- Tapia-López, L., Chairez, I., Guerrero-Barajas, C., & Fernandez-Linares, L. C. (2024). Effect of nitrogen source and its concentration on *Scenedesmus dimorphus* productivity under photoautotrophic growth conditions. *Authorea Preprints*. <https://doi.org/10.22541/au.170664855.50804907/v1>
- Thakur, N., Gurav, R., Yang, Y. H., & Bhatia, S. K. (2022). Microalgal consortia and their biotechnological applications. En *Algal Biorefineries and the Circular Bioeconomy* (pp. 277–301). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003195429-8>
- Udayan, A., Pandey, A. K., Sirohi, R., Sreekumar, N., Sang, B. I., Sim, S. J., ... & Pandey, A. (2023). Production of microalgae with high lipid content and their potential as sources of nutraceuticals. *Phytochemistry Reviews*, 22(4), 833–860. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09784-y>
- Pandey, A., Shah, R., Yadav, P., Verma, R., & Srivastava, S. (2020). Harvesting of freshwater microalgae *Scenedesmus* sp. by electro-coagulation–flocculation for biofuel production: Effects on spent medium recycling and lipid extraction. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 3497–3507. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06897-y>
- Verduga, M. E. (2020). *Cultivo en batch de Scenedesmus spp. en aguas residuales de industrias lácteas: Crecimiento, productividad y composición bioquímica* [Tesis doctoral, Universidad de Guayaquil]. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/48682>
- Vázquez, C. G., & Ayala, I. A. (2017). Aislamiento, identificación y curva de crecimiento de la microalga *Scenedesmus obliquus* con fines biotecnológicos. *Jóvenes en la Ciencia*, 3(1), 144–148. <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/860>
- Vázquez-Romero, B., Perales, J. A., Vree, J. H., Böpple, H., Steinrücken, P., Barbosa, M. J., Kleinegris, D. M. M., & Ruiz, J. (2022). Techno-economic analysis of microalgae production for aquafeed in Norway. *Algal Research*, 64, 102679. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102679>
- Wibisono, Y., Agung Nugroho, W., Akbar Devianto, L., Adi Sulianto, A., & Roil Bilad, M. (2019). Microalgae in food–energy–water nexus: A review on progress of forward osmosis applications. *Membranes*, 9(12), 166. <https://doi.org/10.3390/membranes9120166>
- Yadav, K., Nikalje, G. C., Pramanik, D., Suprasanna, P., & Rai, M. P. (2023). Screening of the most effective media for bioprospecting three indigenous freshwater microalgae species. *International Journal of Plant Biology*, 14(3), 558–570. <https://doi.org/10.3390/ijpb14030044>
- Zhang, Y., Ren, L., Chu, H., Zhou, X., Yao, T., & Zhang, Y. (2019). Optimization for *Scenedesmus obliquus* cultivation: The effects

- of temperature, light intensity and pH on growth and biochemical composition. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 47(4), 614–620. <https://doi.org/10.4014/mbl.1906.06005>
- Ziganshina, E. E., Bulynina, S. S., Yureva, K. A., & Ziganshin, A. M. (2023). Optimization of photoautotrophic growth regimens of Scenedesmaceae alga: The influence of light conditions and carbon dioxide concentrations. *Applied Sciences*, 13(23), 12753. <https://doi.org/10.3390/app132312753>
- Zhao, B., Zhang, Y., Xiong, K., Zhang, Z., Hao, X., & Liu, T. (2011). Effect of cultivation mode on microalgal growth and CO<sub>2</sub> fixation. *Chemical Engineering Research and Design*, 89(9), 1758–1762. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2011.02.018>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA