Ciência e Tecnologia

Para o Desenvolvimento Ambiental, Cultural e Socioeconômico

Xosé Somoza Medina (organizador)





Ciência e Tecnologia

Para o Desenvolvimento Ambiental, Cultural e Socioeconômico

Xosé Somoza Medina (organizador)



2024 by Editora Artemis Copyright © Editora Artemis Copyright do Texto © 2024 Os autores Copyright da Edição © 2024 Editora Artemis



O conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons Atribuição-Não-Comercial NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0). Direitos para esta edição cedidos à Editora Artemis pelos autores. Permitido o

download da obra e o compartilhamento, desde que sejam atribuídos créditos aos autores, e sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

A responsabilidade pelo conteúdo dos artigos e seus dados, em sua forma, correção e confiabilidade é exclusiva dos autores. A Editora Artemis, em seu compromisso de manter e aperfeiçoar a qualidade e confiabilidade dos trabalhos que publica, conduz a avaliação cega pelos pares de todos manuscritos publicados, com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

Editora Chefe Prof^a Dr^a Antonella Carvalho de Oliveira

Editora Executiva M.ª Viviane Carvalho Mocellin

Direção de Arte M.ª Bruna Bejarano **Diagramação** Elisangela Abreu

Organizador Prof. Dr. Xosé Somoza Medina

Imagem da Capa peacestock/123RF

Bibliotecário Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Conselho Editorial

Prof.ª Dr.ª Ada Esther Portero Ricol, Universidad Tecnológica de La Habana "José Antonio Echeverría", Cuba

Prof. Dr. Adalberto de Paula Paranhos, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil

Prof. Dr. Agustín Olmos Cruz, Universidad Autónoma del Estado de México, México

Prof.ª Dr.ª Amanda Ramalho de Freitas Brito, Universidade Federal da Paraíba, Brasil

Prof.ª Dr.ª Ana Clara Monteverde, Universidad de Buenos Aires, Argentina

Prof.^a Dr.^a Ana Júlia Viamonte, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal

Prof. Dr. Ángel Mujica Sánchez, Universidad Nacional del Altiplano, Peru

Prof.ª Dr.ª Angela Ester Mallmann Centenaro, Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil

Prof.ª Dr.ª Begoña Blandón González, Universidad de Sevilla, Espanha

Prof.ª Dr.ª Carmen Pimentel, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil

Prof.ª Dr.ª Catarina Castro, Universidade Nova de Lisboa, Portugal

Prof.ª Dr.ª Cirila Cervera Delgado, Universidad de Guanajuato, México

Prof.ª Dr.ª Cláudia Neves, Universidade Aberta de Portugal

Prof.ª Dr.ª Cláudia Padovesi Fonseca, Universidade de Brasília-DF, Brasil

Prof. Dr. Cleberton Correia Santos, Universidade Federal da Grande Dourados, Brasil

Prof. Dr. David García-Martul, Universidad Rey Juan Carlos de Madrid, Espanha

Prof.^a Dr.^a Deuzimar Costa Serra, Universidade Estadual do Maranhão, Brasil

Prof.^a Dr.^a Dina Maria Martins Ferreira, Universidade Estadual do Ceará, Brasil

Prof.ª Dr.ª Edith Luévano-Hipólito, Universidad Autónoma de Nuevo León, México

Prof.ª Dr.ª Eduarda Maria Rocha Teles de Castro Coelho, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal

Prof. Dr. Eduardo Eugênio Spers, Universidade de São Paulo (USP), Brasil

Prof. Dr. Eloi Martins Senhoras, Universidade Federal de Roraima, Brasil

Prof.ª Dr.ª Elvira Laura Hernández Carballido, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México



- Prof.ª Dr.ª Emilas Darlene Carmen Lebus, Universidad Nacional del Nordeste/ Universidad Tecnológica Nacional, Argentina
- Prof.ª Dr.ª Erla Mariela Morales Morgado, Universidad de Salamanca, Espanha
- Prof. Dr. Ernesto Cristina, Universidad de la República, Uruguay
- Prof. Dr. Ernesto Ramírez-Briones, Universidad de Guadalajara, México
- Prof. Dr. Fernando Hitt, Université du Québec à Montréal, Canadá
- Prof. Dr. Gabriel Díaz Cobos, Universitat de Barcelona, Espanha
- Prof.^a Dr.^a Gabriela Gonçalves, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal
- Prof. Dr. Geoffroy Roger Pointer Malpass, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
- Prof.^a Dr.^a Gladys Esther Leoz, Universidad Nacional de San Luis, Argentina
- Prof.^a Dr.^a Glória Beatriz Álvarez, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina
- Prof. Dr. Gonçalo Poeta Fernandes, Instituto Politécnido da Guarda, Portugal
- Prof. Dr. Gustavo Adolfo Juarez, Universidad Nacional de Catamarca, Argentina
- Prof. Dr. Guillermo Julián González-Pérez, Universidad de Guadalajara, México
- Prof. Dr. Håkan Karlsson, University of Gothenburg, Suécia
- Prof.ª Dr.ª Iara Lúcia Tescarollo Dias, Universidade São Francisco, Brasil
- Prof.ª Dr.ª Isabel del Rosario Chiyon Carrasco, Universidad de Piura, Peru
- Prof.ª Dr.ª Isabel Yohena, Universidad de Buenos Aires, Argentina
- Prof. Dr. Ivan Amaro, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil
- Prof. Dr. Iván Ramon Sánchez Soto, Universidad del Bío-Bío, Chile
- Prof.ª Dr.ª Ivânia Maria Carneiro Vieira, Universidade Federal do Amazonas, Brasil
- Prof. Me. Javier Antonio Albornoz, University of Miami and Miami Dade College, Estados Unidos
- Prof. Dr. Jesús Montero Martínez, Universidad de Castilla La Mancha, Espanha
- Prof. Dr. João Manuel Pereira Ramalho Serrano, Universidade de Évora, Portugal
- Prof. Dr. Joaquim Júlio Almeida Júnior, UniFIMES Centro Universitário de Mineiros, Brasil
- Prof. Dr. Jorge Ernesto Bartolucci, Universidad Nacional Autónoma de México, México
- Prof. Dr. José Cortez Godinez, Universidad Autónoma de Baja California, México
- Prof. Dr. Juan Carlos Cancino Diaz, Instituto Politécnico Nacional, México
- Prof. Dr. Juan Carlos Mosquera Feijoo, Universidad Politécnica de Madrid, Espanha
- Prof. Dr. Juan Diego Parra Valencia, Instituto Tecnológico Metropolitano de Medellín, Colômbia
- Prof. Dr. Juan Manuel Sánchez-Yáñez, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México
- Prof. Dr. Juan Porras Pulido, Universidad Nacional Autónoma de México, México
- Prof. Dr. Júlio César Ribeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
- Prof. Dr. Leinig Antonio Perazolli, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil
- Prof.ª Dr.ª Lívia do Carmo, Universidade Federal de Goiás, Brasil
- Prof.ª Dr.ª Luciane Spanhol Bordignon, Universidade de Passo Fundo, Brasil
- Prof. Dr. Luis Fernando González Beltrán, Universidad Nacional Autónoma de México, México
- Prof. Dr. Luis Vicente Amador Muñoz, Universidad Pablo de Olavide, Espanha
- Prof.^a Dr.^a Macarena Esteban Ibáñez, Universidad Pablo de Olavide, Espanha
- Prof. Dr. Manuel Ramiro Rodriguez, Universidad Santiago de Compostela, Espanha
- Prof. Dr. Manuel Simões, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Portugal
- Prof.ª Dr.ª Márcia de Souza Luz Freitas, Universidade Federal de Itajubá, Brasil
- Prof. Dr. Marcos Augusto de Lima Nobre, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil
- Prof. Dr. Marcos Vinicius Meiado, Universidade Federal de Sergipe, Brasil
- Prof.ª Dr.ª Mar Garrido Román, Universidad de Granada, Espanha
- Prof.ª Dr.ª Margarida Márcia Fernandes Lima, Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil
- Prof.^a Dr.^a María Alejandra Arecco, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina
- Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida José de Oliveira, Universidade Federal da Bahia, Brasil
- Prof.ª Dr.ª Maria Carmen Pastor, Universitat Jaume I, Espanha



- Prof.^a Dr.^a Maria da Luz Vale Dias Universidade de Coimbra, Portugal
- Prof.ª Dr.ª Maria do Céu Caetano, Universidade Nova de Lisboa, Portugal
- Prof.^a Dr.^a Maria do Socorro Saraiva Pinheiro. Universidade Federal do Maranhão. Brasil
- Prof.ª Dr.ª MªGraça Pereira, Universidade do Minho, Portugal
- Prof.^a Dr.^a Maria Gracinda Carvalho Teixeira. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Brasil
- Prof.^a Dr.^a María Guadalupe Vega-López, *Universidad de Guadalajara, México*
- Prof.ª Dr.ª Maria Lúcia Pato, Instituto Politécnico de Viseu, Portugal
- Prof.ª Dr.ª Maritza González Moreno, Universidad Tecnológica de La Habana, Cuba
- Prof.ª Dr.ª Mauriceia Silva de Paula Vieira, Universidade Federal de Lavras, Brasil
- Prof. Dr. Melchor Gómez Pérez, Universidad del Pais Vasco, Espanha
- Prof.ª Dr.ª Ninfa María Rosas-García, Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional, México
- Prof.^a Dr.^a Odara Horta Boscolo, Universidade Federal Fluminense, Brasil
- Prof. Dr. Osbaldo Turpo-Gebera, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Peru
- Prof.ª Dr.ª Patrícia Vasconcelos Almeida, Universidade Federal de Lavras, Brasil
- Prof.ª Dr.ª Paula Arcoverde Cavalcanti, Universidade do Estado da Bahia, Brasil
- Prof. Dr. Rodrigo Marques de Almeida Guerra, Universidade Federal do Pará, Brasil
- Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares, Universidade Federal do Piauí, Brasil
- Prof. Dr. Sergio Bitencourt Araújo Barros, Universidade Federal do Piauí, Brasil
- Prof. Dr. Sérgio Luiz do Amaral Moretti, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil
- Prof.ª Dr.ª Silvia Inés del Valle Navarro, Universidad Nacional de Catamarca, Argentina
- Prof.ª Dr.ª Solange Kazumi Sakata, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN)- USP, Brasil
- Prof.^a Dr.^a Stanislava Kashtanova, Saint Petersburg State University, Russia
- Prof.ª Dr.ª Susana Álvarez Otero Universidad de Oviedo, Espanha
- Prof.ª Dr.ª Teresa Cardoso, Universidade Aberta de Portugal
- Prof.ª Dr.ª Teresa Monteiro Seixas, Universidade do Porto, Portugal
- Prof. Dr. Valter Machado da Fonseca, Universidade Federal de Viçosa, Brasil
- Prof.ª Dr.ª Vanessa Bordin Viera, Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
- Prof.ª Dr.ª Vera Lúcia Vasilévski dos Santos Araújo, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil
- Prof. Dr. Wilson Noé Garcés Aguilar, Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, Colômbia
- Prof. Dr. Xosé Somoza Medina, Universidad de León, Espanha

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

C569 Ciência e tecnologia para o desenvolvimento ambiental, cultural e socioeconômico V [livro eletrônico] / Organizador Xosé Somoza Medina. – Curitiba, PR: Artemis, 2024.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia Edição bilíngue

ISBN 978-65-81701-31-4

DOI 10.37572/EdArt 281024314

1. Desenvolvimento sustentável. 2. Tecnologia – Aspectos ambientais. I. Somoza Medina, Xosé.

CDD 363.7

Elaborado por Maurício Amormino Júnior - CRB6/2422



PRÓI OGO

La publicación de los avances en la investigación que presentamos a continuación, es un mérito en el currículo de las autoras y autores de estos capítulos. Una meta que se persigue desde el momento en que iniciamos, como miembros de la academia universal una investigación concreta, sea ésta en el campo científico o tecnológico que sea. Si el proyecto de investigación que ha generado este texto ha sido financiado por alguna institución pública, difundir los resultados es además una obligación contraída cuando se acepta esa subvención.

Publicar el fruto de un trabajo honesto, como los que conforman este volumen, que ha significado un esfuerzo considerable y que ha obligado a las autoras y autores a un buen número de sacrificios es también un motivo de orgullo personal, compartido con amistades y familiares.

Pero bajo mi punto de vista, publicar el resultado de una investigación es sobre todo un acto necesario de transferencia del personal académico a la sociedad. Al publicar el fruto de nuestro trabajo lo que buscamos los investigadores es que los colectivos próximos a nuestro campo de estudio, pero también empresas, organismos o personas individuales, puedan beneficiarse de nuestros descubrimientos, hayan sido estos obtenidos desde cualquier ámbito de la ciencia o de la tecnología.

Por todo ello, felicito sinceramente a las autoras y autores de los trabajos incluidos en este volumen V de la serie "Ciência e Tecnologia para o Desenvolvimento Ambiental, Cultural e Socioeconômico" de la Editora Artemis, pues al hacer públicos sus trabajos consiguen un nuevo mérito curricular, cumplen sus obligaciones como investigadores, tienen un motivo legítimo con el que alimentar su orgullo personal y además están transfiriendo a la sociedad nuevos conocimientos. En esta obra se incluyen once capítulos de valía contrastada, seis en el bloque de Ciencia y cinco en el de Tecnología, que suponen una nueva aportación académica para seguir verificando que la investigación científica es la base del avance de nuestra sociedad.

El primer capítulo del bloque Ciencia se corresponde con el trabajo del Dr. Saúl Robles Soto y Wendy Pacheco Martínez titulado "La tecnología y la innovación como determinante en las regiones de México, período 2023-2026", en el que se estudian estas variables como condicionantes del desarrollo regional buscando proponer soluciones para mejorar el bienestar. Víctor Jiménez Arguelles, Luis Antonio Rocha Chiu, José Anselmo Pérez Reyes y Luis Fernando Casales Hernández firman el segundo capítulo, titulado "Análisis de riesgos laborales en trabajos de reconstrucción de edificios dañados por sismos en la ciudad de México", en el que realizan un estudio de caso sobre los efectos

en las edificaciones dañadas por el sismo de 19 de septiembre de 2017. "El Mapundungun, interculturalidad e inclusiva en el sistema educativo chileno" es el título del cuarto capítulo, del Dr. José Manuel Salum Tomé, en el que promueve la revitalización de la lengua del pueblo mapuche a través de su uso en la enseñanza oficial. Seguidamente tenemos el trabajo de Mtra. Elia Esperanza Ayora Herrera, Dra. Juanita de la Cruz Rodríguez Pech y Lic. Jorge Aldair Anguas Romero, "Consideraciones conceptuales para la formación de profesionistas con habilidades de gestión intercultural, con énfasis en la cultura maya", que también estudia la importancia de una lengua indígena en la enseñanza, en este caso la del pueblo maya en los estudios universitarios. El trabajo titulado "La educación ambiental proactiva en el campo de la odontología", de María Dolores Carlos-Sánchez, María Guadalupe Zamora-Gutiérrez, Martha Patricia Delijorge-González, Martha Patricia De La Rosa-Basurto, José Ricardo Gómez-Bañuelos, Manuel Alejandro Carlos-Félix y Jesús Rivas Gutiérrez expone las posibilidades actuales de incluir de forma transversal en el currículo de carreras técnicas cuestiones tan importantes como la educación ambiental. Por último, en el bloque de Ciencia, el sexto capítulo está firmado por José Luis Gutiérrez Liñán, Carmen Aurora Niembro Gaona, Alfredo Medina García y Jorge Eduardo Zarur Cortés y se titula "La formación práctica de los ingenieros agrónomos en producción a través del desarrollo de prácticas de campo" en el que, desde las ciencias de la educación se realiza una investigación sobre las denominadas prácticas de campo, el nexo de unión entre las enseñanzas teóricas del aula y los saberes prácticos del campo.

El Bloque de Tecnología contiene cinco capítulos, el primero proviene de las aplicaciones de la biotecnología a la medicina y es el estudio titulado "Desarrollo de técnicas moleculares basadas en PCR para la detección de *Campylobacter Fetus*", firmado por Edgar Iván González Jiménez, Lily Xóchitl Zelaya Molina, Saúl Pardo Melgarejo, José Herrera Camacho, Marcelino Álvarez Cilva y Carlos Alberto Ramos Jonapa. El segundo capítulo se titula "El rol de *Trichoderma Asperellum MT*044384 en la sustentabilidad del maíz criollo (*Zea Mays*) frente al cambio climático" y los autores son M.C. José Israel Rodríguez Barrón, Ing. Brenda Bermúdez, M.C. Víctor Manuel Mata Prado y Ramón Rodríguez Blanco. A continuación, Francisco Alberto Hernández de la Rosa y María Teresa Fernández Mena emplean la simulación Monte Carlo bidimensional para desarrollar un trabajo de econometría y analizar la rentabilidad del yacimiento petrolífero oceánico de Ku-Maloob-Zaap, en la Sonda de Campeche, en el trabajo titulado "Análisis sobre la utilidad monetaria por producción de petróleo crudo en el yacimiento Ku-Maloob-Zaap de PEMEX usando simulación Monte Carlo bidimensional". En el trabajo firmado por José Germán Flores-Garnica, Daniel Alejandro Cadena-Zamudio y Ana Graciela Flores-

Rodríguez, titulado "Efecto del fuego sobre la diversidad de especies forestales en selva mediana subperennifolia de México", se analizan los efectos de los incendios en los ecosistemas tropicales a través de un análisis empírico y se presentan recomendaciones para mejorar la gestión de la resiliencia vegetal. Finalmente, el capítulo de ingeniería eléctrica que cierra este volumen lo firman Juan Anzurez Marín, Juan Manuel De la Torre Caldera y Salvador Ramírez Zavala y lleva por título "Modelado convexo Takagi-Sugeno de sistemas no lineales: sistema de nivel de líquido de dos tanques interconectados".

Xosé Somoza Medina Universidad de León, Espanha

SUMÁRIO

CIÊNCIA

CAPÍTULO 11
LA TECNOLOGÍA Y LA INNOVACIÓN COMO DETERMINANTE EN LAS REGIONES DE MÉXICO, PERÍODO 2023-2026
Saúl Robles Soto Wendy Pacheco Martínez
di https://doi.org/10.37572/EdArt_2810243141
CAPÍTULO 214
ANÁLISIS DE RIESGOS LABORALES EN TRABAJOS DE RECONSTRUCCIÓN DE EDIFICIOS DAÑADOS POR SISMOS EN LA CIUDAD DE MÉXICO
Victor Jiménez Arguelles Luis Antonio Rocha Chiu José Anselmo Pérez Reyes Luis Fernando Casales Hernández
ttps://doi.org/10.37572/EdArt_2810243142
CAPÍTULO 332
EL MAPUDUNGUN, INTERCULTURALIDAD E INCLUSIVA EN EL SISTEMA EDUCATIVO CHILENO
CHILENO
CHILENO José Manuel Salum Tomé
CHILENO José Manuel Salum Tomé doi https://doi.org/10.37572/EdArt_2810243143
CHILENO José Manuel Salum Tomé ihttps://doi.org/10.37572/EdArt_2810243143 CAPÍTULO 4
CHILENO José Manuel Salum Tomé https://doi.org/10.37572/EdArt_2810243143 CAPÍTULO 4

CAPÍTULO 5
LA EDUCACIÓN AMBIENTAL PROACTIVA EN EL CAMPO DE LA ODONTOLOGIA
María Dolores Carlos-Sánchez María Guadalupe Zamora-Gutiérrez Martha Patricia Delijorge-González Martha Patricia de la Rosa-Basurto José Ricardo Gómez-Bañuelos Manuel Alejandro Carlos-Félix Jesús Rivas-Gutiérrez https://doi.org/10.37572/EdArt_2810243145
CAPÍTULO 671
LA FORMACIÓN PRÁCTICA DE LOS INGENIEROS AGRÓNOMOS EN PRODUCCIÓN A TRAVÉS DEL DESARROLLO DE PRÁCTICAS DE CAMPO
José Luis Gutiérrez Liñán Carmen Aurora Niembro Gaona Alfredo Medina García Jorge Eduardo Zarur Cortés https://doi.org/10.37572/EdArt_2810243146
TECNOLOGIA
CAPÍTULO 781
DESARROLLO DE TÉCNICAS MOLECULARES BASADAS EN PCR PARA LA DETECCIÓN DE CAMPYLOBACTER FETUS
Edgar Iván González Jiménez Lily Xóchitl Zelaya Molina Saúl Pardo Melgarejo José Herrera Camacho Marcelino Álvarez Cilva Carlos Alberto Ramos Jonapa
ttps://doi.org/10.37572/EdArt_2810243147
CAPÍTULO 889
EL ROL DE <i>TRICHODERMA ASPERELLUM MT</i> 044384 EN LA SUSTENTABILIDAD DEL MAÍZ CRIOLLO (<i>ZEA MAYS</i>) FRENTE AL CAMBIO CLIMÁTICO
José Israel Rodríguez Barrón

Brenda Bermúdez

Ramon Rodriguez Bianco
ttps://doi.org/10.37572/EdArt_2810243148
CAPÍTULO 997
ANÁLISIS SOBRE LA UTILIDAD MONETARIA POR PRODUCCIÓN DE PETRÓLEO CRUDO EN EL YACIMIENTO KU-MALOOB-ZAAP DE PEMEX USANDO SIMULACIÓN MONTE CARLO BIDIMENSIONAL
Francisco Alberto Hernández de la Rosa María Teresa Fernández Mena
di https://doi.org/10.37572/EdArt_2810243149
CAPÍTULO 10108
EFECTO DEL FUEGO SOBRE LA DIVERSIDAD DE ESPECIES FORESTALES EN SELVA MEDIANA SUBPERENNIFOLIA DE MÉXICO
José German Flores-Garnica Daniel Alejandro Cadena-Zamudio Ana Graciela Flores-Rodríguez
di https://doi.org/10.37572/EdArt_28102431410
CAPÍTULO 11 120
MODELADO CONVEXO TAKAGI-SUGENO DE SISTEMAS NO LINEALES: SISTEMA DE NIVEL DE LÍQUIDO DOS TANQUES INTERCONECTADOS
Juan Anzurez Marín Juan Manuel de la Torre Caldera Salvador Ramírez Zavala
di https://doi.org/10.37572/EdArt_28102431411

SOBRE O ORGANIZADOR......139

ÍNDICE REMISSIVO140

Víctor Manuel Mata Prado

CAPÍTULO 7

DESARROLLO DE TÉCNICAS MOLECULARES BASADAS EN PCR PARA LA DETECCIÓN DE CAMPYLOBACTER FETUS

Data de submissão: 03/09/2024 Data de aceite: 20/09/2024

José Herrera Camacho

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales Morelia, Michoacán, México https://orcid.org/0000-0002-0207-3313

Marcelino Álvarez Cilva

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) Campo Experimental Tecomán Colima México

Carlos Alberto Ramos Jonapa

Colegio de Postgraduados Departamento de Ganadería Campus Montecillos Texcoco Estado De México, México https://orcid.org/0009-0001-5752-058X

Edgar Iván González Jiménez

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) Campo Experimental Tecomán Colima México https://orcid.org/0000-0002-3095-6869

Lily Xóchitl Zelaya Molina

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG) Jalisco, México https://orcid.org/0000-0002-3474-3289

Saúl Pardo Melgarejo

Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales Agrícolas y
Pecuarias (INIFAP)
Campo Experimental
Valle de Apatzingán
Michoacán, México
https://orcid.org/0000-0003-0138-1995

RESUMEN: Campylobacter fetus actualmente es reconocida dentro de las 24 especies de Campylobacter, es un bacilo gramnegativo curvo o en forma de espiral, que crece entre los 25° C y los 37° C esta bacteria posee movilidad gracias a la presencia de un flagelo polar. El ganado bovino es el reservorio principal de este microorganismo, en donde coloniza el tracto intestinal y el genital, provocando abortos en las hembras preñadas. Este microorganismo también se ha aislado en aves de corral,

caballos y cerdos. La campylobacteriosis es una enfermedad zontica, transmitiéndose al humano a través de alimentos de origen animal mal cocinados. El cultivo bacteriano en agar es la forma actual de diagnóstico, un método tardado y con baja especificidad, es necesario implementar nuevas formas de diagnóstico más sensibles y específicas como las pruebas de PCR. El objetivo del presente estudio fue estandarizar un método de diagnóstico por PCR, para esto, se seleccionaron genes específicos de *Campylobacter fetus* como el *gltx1* y 16S, se diseñaron sondas especie específicas para el gen *gltx1* fueron el Fw 5'-3' (GCCGCAAAAACAGCAGGTAAGC), Rv 5'-3' (TTTCAAGCGAACGGCTGCTGG) y Probe 5'-3' (GTGATGACGATGTTTTAAGCAATCCCC); y para el gen 16S fueron el Fw 5'-3' (CGAAGAACCTTACCTGGGCTTG), Rv 5'-3' (GACAGCCGTGCAGCACCTGT) y Probe 5'-3' (ACTTTCTAGCAAGCTAGCACTCTCTTATCT). Con el diseño de las sondas se estandarizo una prueba de PCR punto final y una prueba de qPCR, esta metodología ofrece mayor sensibilidad y especificidad para el correcto diagnóstico de *Campylobacter fetus*.

PALABRAS CLAVE: PCR. Campylobacter. Patógenos. Bovinos.

DEVELOPMENT OF MOLECULAR TECHNIQUES BASED ON PCR FOR THE DETECTION OF CAMPYLOBACTER FETUS

ABSTRACT: Campylobacter fetus is currently recognized among the 24 species of Campylobacter. It is a curved or spiral-shaped gram-negative bacillus that grows between 25° C and 37° C. This bacterium is mobile thanks to the presence of a polar flagellum. Cattle are the main reservoir of this microorganism, where it colonizes the intestinal and genital tracts, causing abortions in pregnant females. This microorganism has also been isolated in poultry, horses and pigs. Campylobacteriosis is a zontic disease, transmitted to humans through poorly cooked food of animal origin. Bacterial culture on agar is the current form of diagnosis, a slow method with low specificity. It is necessary to implement new, more sensitive and specific forms of diagnosis such as PCR tests. The aim of this study was to standardize a PCR diagnostic method. For this, Campylobacter fetus-specific genes such as gltx1 and 16S were selected. Species-specific probes were designed for the gltx1 gene: Fw 5'-3' (GCCGCAAAAACAGCAGGTAAGC), Rv 5'-3' (TTTCAAGCGAACGGCTGCTGG) and Probe 5'-3' (GTGATGACGAGTTTTAAGCAATCCCC); and for the 16S gene: Fw 5'-3' (CGAAGAACCTTACCTGGGCTTG), Rv 5'-3' (GACAGCCGTGCAGCACCTGT) and Probe 5'-3' (ACTTTCTAGCAAGCTAGCACTCTCTTATCT). With the design of the probes, an end-point PCR test and a qPCR test were standardized. This methodology offers greater sensitivity and specificity for the correct diagnosis of Campylobacter fetus.

KEYWORDS: PCR. Campylobacter. Pathogens. Bovine.

1 INTRODUCCION

La campylobacteriosis genital bovina causada por *Campylobacter fetus*, enfermedad venérea de los bovinos con distribución mundial, causante de grandes pérdidas económicas en la ganadería, se aloja en el tracto reproductivo de hembras y machos. Los factores de riesgo suelen ser la monta directa y el no cumplimiento de las medidas de bioseguridad. Esta enfermedad es asintomática en los sementales bovinos, pero en las hembras ocasiona disminución en la tasa de preñez, abortos y muerte embrionaria.

El aislamiento de la bacteria es el método más utilizado para la identificación de las subespecies de *Campylobacter fetus*, pero esta técnica conlleva tiempo, trabajo y riesgo, debido a sus altos requerimientos y lento desarrollo. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es una técnica que actualmente mejora su identificación, ya que posee un alto porcentaje de especificidad y sensibilidad, optimizando la evaluación de poblaciones bovinas con alta densidad (Molina y Cruz 2017).

2 ANTECEDENTES

Las técnicas en biología molecular se basan en el aislamiento y extracción del ADN bacteriano con la mayor pureza, visualizando su estado al fraccionarlo, amplificarlo y determinando la ganancia o pérdida de sitios de restricción con el fin de identificar genes que permitan establecer etiología, patogenia y posibles resistencias a antibióticos, permitiendo el análisis a partir de células en diferentes estadios intermedios (ejemplo: células viables, pero no cultivables). Entre las pruebas empleadas con mayor frecuencia para el análisis de muestras se encuentran: qPCR (reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real).

Esta técnica es una evolución de la PCR en la cual se suprime el paso de evaluación de los productos mediante electroforesis en gel de agarosa o poliacrilamida; combina la amplificación de secuencias específicas de ADN aportada por esta última y fluoróforo con afinidad por el ADN o sondas marcadas con fluorescencia; para el marcaje de estas sondas se han desarrollado diferentes productos químicos, entre los más importantes encontramos el SYBR Green y las sondas de hidrólisis (TaqMan).Una de las ventajas más grandes que tiene esta variación de la PCR es la realización en condiciones libres de contaminación y poco o nada manipulación del operario en el caso de ser automatizado el ensayo.

En comparación con la PCR convencional la qPCR genera resultados cuantitativos en menor tiempo, aporta mayor sensibilidad y seguridad para el operario al evitar el uso de reactivos cancerígenos como el bromuro de etidio; la qPCR según la norma ISO 16140 del 2003 y la Asociación Francesa de Normalización (AFNOR) es un método de cribado alternativo para la evaluación de patógenos.

3 OBJETIVOS

Estandarizar un método de diagnóstico molecular basado en PCR, con mayor sensibilidad y especificidad para la detección de *Campylobacter fetus*.

4 MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 DISEÑO DE INICIADORES:

Para establecer los blancos moleculares empleados en la detección de *Campylobacter fetus* se realizó una búsqueda de literatura en la base de datos del Centro nacional de información biotecnológica (NCBI), seleccionado los genes gltx1 y 16S rRNA, blancos moleculares reportados en la detección de la bacteria en mención.

Se construyeron secuencias tomadas de la base de datos del GenBank con los números de acceso CP006992, M650111, L146331, CP0068331 para el gen *gltx1* y CP0068331, CP0109531, CP0145681, CP0069992, CP0004871, CP0088081, CP0155751, CP0155761, CP0155771 para el gen 16S rRNA, las secuencias en formato fasta fueron sometidas a alineamiento por medio del software MEGA y la plataforma electrónica BLAST. Los alineamientos generados se enviaron a T4Oligo (Irapuato, Guanajuato, México) para realizar la síntesis de oligos específicos para PCR y generar los iniciadores de cada gen seleccionado.

4.2 CULTIVO DE CEPA:

La cepa *Campylobacter fetus* ATCC 27374 se adquirió de la colección ATCC; para el desarrollo de esta cepa, se tomaron 2 mL aproximadamente con una pipeta Pasteur del vial original, se reactivó en tubos de vidrio que contenían 10 mL de caldo tioglicolato estéril (Cuadro 1) se encubo a 37°C por 48h.

Cuadro 1.	Ingredientes par	a medio de	cultivo ti	oglicolato.
-----------	------------------	------------	------------	-------------

INGREDIENTES	CANTIDAD
Agua destilada	250 mL
Agar bacteriológico	0.18 gr
Caldo tioglicolato medio	7.50 gr

Con el desarrollo de la cepa y con un asa estéril se recuperó biomasa y se resembro en medio sólido ATCC: agar soya tripticasa con 5% de sangre de borrego desfibrinada a un pH de 7.3 (Cuadro 2), se incubo a 37°C durante 48 h en microaerofilia.

Cuadro 2. Ingredientes para medio de cultivo de Campylobacter.

INGREDIENTES	CANTIDAD	
Agar soya tripticasa (TSA)	40.0 g	
Sangre de cordero desfibrinada	50.0 mL (añadir después de esterilizar)	
Agua destilada	950.0 mL	

4.3 EXTRACCIÓN DE DNA:

Para obtener DNA de referencia se recuperaron 250 mg de biomasa del cultivo solido sembrado con *Campylobacter fetus*, con esta cantidad de muestra recuperada se extrajo DNA utilizando el kit comercial QUICK-DNA fecal/soil Microbe Miniprep (Zymo-Research), siguiendo las recomendaciones y pasos del fabricante. La concentración y pureza del DNA se midio con el equipo de espectrofotometría NanoDrop 2000 (thermo Scientific).

4.4 ESTANDARIZACIÓN DE LA PCR TIEMPO REAL:

Se utilizaron los iniciadores 16S Fw y Rv y gltx1 Fw y Rv específicos para Campylobacter fetus, se utilizó un tercer iniciador de actina bovina para los controles positivos de la prueba y sondas para sistema TaqMan en PCR tiempo real, los fluorocromos (FF) se eligieron con base a los canales de detección del sitema StepOne Plus™ (Thermo Fisher Scientific, USA).

Los iniciadores 16S Fw (5´-CGAAGAACCTTACCTGGGCTTG-3´), Rv (5´-GACAGCCGTGCAGCACCTGT-3´)yglx1Fw(5´-GCCGCAAAAACAGCAGGTAAGC-3´)Rv (5´-TTTCAAGCGAACGGCTGCTGG-3´) amplifican productos de 110 y 120 pares de bases respectivamente. Los iniciadores diseñados para β-actina bovina fueron los siguientes Fw (5´-CACCATCGGGAATGAGCGTTTC-3´) y Rv (5´-CTCGTGGATGCCAGCAGACTC-3´).

La sonda diseñada fue, para 16S Probe (5´-ACTTTCTAGCAAGCTAGCACTCTCTTATCT-3´) con FF HEX, y para *gltx1* PROBE (5´-GTGATGACGATGTTTTAAGCAATCCCC-3´) con FF ROX y Actb PROBE (5´-CGCTGCCCTGAGACCCTGTTCCAGC-3´) estas sondas hibridan junto a cada primer específicamente para *Campylobacter fetus*.

4.5 CONDICIONES DE PCR TIEMPO REAL:

Durante la estandarización el mix se preparó a un volumen final de 20 μL, el cual contenía DNA de referencia de la bacteria *C. fetus* a una concentración final de 20 ng, también se incluyó TaqMan® Fast Advanced Master Mix a una concentración final de 1X, junto con los iniciadores 16S Fw y Rv en concentración final de 600 nM, los iniciadores de *gltx1* Fw y Rv se utilizaron a una concentración final de 500 nM, las sondas 16S PROBE se utilizó a una concentración final de 300 nM, mientras que la sonda *gltx1* PROBE fue utiliza a 400 nM. El iniciador de los controles positivos de β-actina bovina se utilizaron a 300 nM para Fw y Rv, mientras que para la sonda la concentración final fue de 150 nM. Se realizó

el ensayo por triplicado, incluyendo un control negativo el cual contiene DNA de bovino libre de patógenos en concentración de 10 ng, este sirvió para evitar falsos positivos, también se incluyó un control sin templar llamado NTC el cual en lugar de tener DNA se agregó agua grado molecular.

Las condiciones de amplificación iniciaron con una desnaturalización a 94°C por 300 segundos durante 1 ciclo, seguido de 45 ciclos de una desnaturalización a 94°C durante 40 segundos, alineamiento a 64°C durante 30 segundos y extensión a 72°C durante 30 segundos. Estos ciclos de amplificación fueron programados en el sistema de un StepOne Plus™ (Thermo Fisher Scientific, USA).

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

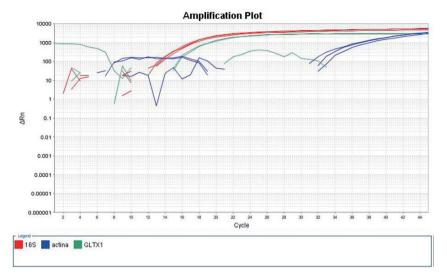
La cantidad de DNA extraído proveyó una concentración de 265 ng/µL y una pureza de 1.9 a una relación de absorbancia de 260/280, resultados favorables para la estandarización de la metodología de diagnóstico molecular por PCR.

La amplificación de dos genes en una prueba diagnóstica para una misma bacteria patógena como la *Campylobacter fetus* ofrece gran ventaja sobre las pruebas diagnósticas de rutina, el utilizar en este diagnóstico el gen 16S rRNA y gltx1 se evita interferir con agentes vacúnales para este patógeno.

Los resultados de la estandarización de la reacción de PCR tiempo real se muestran en la imagen 1. Donde se puede observar la curva de amplificación por triplicado de los 3 genes el 16S rRNA, gltx1 y β-Actina bovina, en los controles positivos utilizados en la prueba, el NTC que contiene agua grado molecular no se observa amplificación el cual nos muestra un resultado correcto, en el control negativo donde se incluyó DNA bovino amplifica solo la β-Actina bovina, resultado de una amplificación correcta.

Después de múltiples ensayos realizados para la estandarización de esta metodología molecular utilizad para el diagnóstico de *Campylobacter fetus*, los mejores valores tanto de concentración, temperatura y ciclos utilizados durante la amplificación fueron los mostrados en la metodología, la sensibilidad de la prueba comparada por lo mostrado Gonzalez *et al* (2018), en su ensayo de PCR convencional o punto final, con los mismos iniciadores demostró ser esta prueba 5 veces más sensible a la hora de detectar DNA, dichos autores utilizaron una concentración final de 100 ng de DNA bacteriano, mientras que en este estudio se utilizó solo 20 ng.

Imagen 1. Valores de los ciclos de amplificación (Ct) de los genes utilizados. Los controles positivos de los genes 16S rRNA y gltx1 presentan valores de 13 y 15 respectivamente, los valoes para β-Actina bovina alcanzaron el umbral a partir del ciclo 32.



6 CONCLUSIONES

La presente técnica molecular por PCR en tiempo real con sondas TagMan Fast Advanced Master Mix permite detectar DNA de Campylobacter fetus a concentraciones bajas.

El diseño de los iniciadores es funcional para este tipo de diagnóstico molecular; se logró establecer la cantidad mínima requerida de concentración de iniciadores y sondas, así como las condiciones de amplificación requeridas en el correcto funcionamiento de la prueba.

La velocidad y el tiempo en la cual este tipo de pruebas utilizadas para el diagnóstico y omitir un resultado marca una pauta favorable para ser considerada a futuro en una metodología de diagnóstico de rutina para este tipo de agentes patógenos que afectan al ganado bovino, así como al hombre.

BIBI IOGRAFÍA

Cagnoli, C. I., Chiapparrone, M. L., Cacciato, C. S., Rodríguez, M. G., Aller, J. F., & del Carmen Catena, M. (2020). Effects of Campylobacter fetus on bull sperm quality. Microbial Pathogenesis, 149, 104486.

Gonzalez, J.E.I, Ramos, J.C.A., Zelaya, M.L.X, Lara, A.J., Pardo, M.S., Martínez, P.M.D., Urban, D.D., Arteaga, G.R.I., De la Torre, S.J.F., Herrera, C.J. (2018). Diseño de iniciadores especie específico para la detección de Brucella abortus por PCR punto final. 13° Congreso Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación y el Séptimo Encuentro de Jóvenes Investigadores del Estado de Michoacan, Congreso, Morelia Michoacán, 19-10-2018, 1-5.

Huertas-Caro, Carlos, Urbano-Cáceres, Eliana, & Torres-Caycedo, María. (2019). Diagnóstico molecular una alternativa para la detección de patógenos en alimentos. Revista Habanera de Ciencias Médicas, 18(3), 513-528.

Molina, D. E. F., & Cruz, J. A. C. (2017). Métodos diagnósticos actuales para la identificación de la campylobacteriosis genital bovina. Conexión Agropecuaria JDC, 7(2), 71-84.

Park Jarrín, J. A. (2020). Determinación de la resistencia antimicrobiana en cepas de Campylobacter aisladas de pollos de engorde (Bachelor's thesis, PUCE-Quito).

Polo. C., García-Seco, T., Hernández, M., Fernández, V., Rodríguez-Lázaro, D., Goyache, J., ... & Pérez-Sancho, M. (2021). Evaluation of PCR assays for Campylobacter fetus detection and discrimination between C. fetus subspecies in bovine preputial wash samples. Theriogenology, 172, 300-306.

Trujillo Loyola, S. C. (2023). Efectividad de la tinción de Gram en la identificación de Campylobacter spp.: una revisión sistemática.

Wagenaar, J. A., Van Bergen, M. A., Blaser, M. J., Tauxe, R. V., Newell, D. G., & Van Putten, J. P. (2014). Campylobacter fetus infections in humans: exposure and disease. Clinical Infectious Diseases, 58(11), 1579-1586.

SOBRE O ORGANIZADOR

Xosé Somoza Medina (1969, Ourense, España) Licenciado con Grado y premio extraordinario en Geografía e Historia por la Universidad de Santiago de Compostela (1994). Doctor en Geografía e Historia por la misma universidad (2001) y premio extraordinario de doctorado por su Tesis "Desarrollo urbano en Ourense 1895-2000". Profesor Titular en la Universidad de León, donde imparte clases desde 1997. En la Universidad de León fue Director del Departamento de Geografía entre 2004 y 2008 y Director Académico de la Escuela de Turismo entre 2005 y 2008. Entre 2008 y 2009 ejerció como Director del Centro de Innovación y Servicios de la Xunta de Galicia en Ferrol. Entre 2007 y 2009 fue vocal del comité "Monitoring cities of tomorrow" de la Unión Geográfica Internacional. En 2012 fue Director General de Rehabilitación Urbana del Ayuntamiento de Ourense y ha sido vocal del Consejo Rector del Instituto Ourensano de Desarrollo Local entre 2011 y 2015. Ha participado en diversos proyectos y contratos de investigación, en algunos de ellos como investigador principal, con temática relacionada con la planificación urbana, la ordenación del territorio, las nuevas tecnologías de la información geográfica, el turismo o las cuestiones demográficas. Autor de más de 100 publicaciones relacionadas con sus líneas de investigación preferentes: urbanismo, turismo, gobernanza, desarrollo, demografía, globalización y ordenación del territorio. Sus contribuciones científicas más importantes se refieren a la geografía urbana de las ciudades medias, la crisis del medio rural y sus posibilidades de desarrollo, la evolución del turismo cultural como generador de transformaciones territoriales y más recientemente las posibilidades de reindustrialización de Europa ante una nueva etapa posglobalización. Ha participado como docente en masters y cursos de especialización universitaria en Brasil, Bolivia, Colombia, Paraguay y Venezuela y como docente invitado en la convocatoria Erasmus en universidades de Bulgaria (Sofia), Rumanía (Bucarest) y Portugal (Porto, Guimarães, Coimbra, Aveiro y Lisboa). Ha sido evaluador de proyectos de investigación en la Agencia Estatal de Investigación de España y en la Organización de Estados Iberoamericanos (OEI). Como experto europeo en Geografía ha participado en reuniones de la Comisión Europea en Italia y Bélgica. Impulsor y primer coordinador del proyecto europeo URBACT, "come Ourense", dentro del Programa de la Unión Europea "Sostenibilidad alimentaria en comunidades urbanas" (2012-2014). Dentro de la experiencia en organización de actividades de I+D+i se pueden destacar la organización de diferentes reuniones científicas desarrolladas dentro de la Asociación de Geógrafos Españoles (en 2002, 2004, 2012 y 2018).

ÍNDICE REMISSIVO

Α

Accidentes 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 Ambiente 22, 40, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 90, 118, 119

В

Bioestimulante 89, 90, 93

Bovinos 82

С

Campylobacter 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88

Cepa nativa 89, 90

Ciencia y tecnología 1, 9, 10, 11, 12, 74

Composición vegetal 108

Composta 89, 90, 92, 93

Consciencia de identidad 48

Conservación 68, 108, 110

Cultura 15, 22, 28, 29, 32, 34, 35, 37, 38, 40, 41, 45, 47, 48, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 57, 59, 60,

61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 90

Cultura maya 48, 55

D

Desarrollo 4, 5, 1, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 29, 30, 31, 34, 36, 37, 39, 41, 45, 46, 47, 55, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 71, 72, 73, 74, 77, 78, 79, 80, 81, 83, 84, 90, 91, 95, 106, 110, 137, 138

Desigualdades regionales en México 1

Е

Ecosistema económico 1

Educación 9, 10, 32, 33, 34, 35, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 45, 46, 47, 48, 52, 54, 57, 59, 60, 61, 63, 64, 65, 66, 68, 69, 70, 71, 73, 74, 76, 80

Educación intercultural 32, 33, 35, 38, 39, 40, 41, 45, 46, 47, 48

Espacio de estados 120

F

Formación 39, 40, 41, 42, 48, 49, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 65, 66, 67, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 89, 91

ı

Identidad 32, 34, 38, 41, 44, 45, 48, 49, 50, 51, 53, 54, 56, 57 Incendios forestales 108, 109, 110, 118, 119 Incertidumbre 90, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 104, 105, 106, 128 Ingeniero 71, 72, 73, 75, 76, 77, 80 Ingreso per cápita 1, 2, 3, 4 Innovación 1, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 58, 64, 80, 87 Interculturalidad 32, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 45, 54, 55

L

Laborales 14, 15, 17, 18, 22, 26, 27, 29, 31, 60 Lenguaje R 97

M

Maíz criollo 89, 90, 91, 92, 94 Mapudungum 32 Modelado difuso 120, 125, 127, 128, 135, 137, 138

Р

Patógenos 82, 83, 86, 87, 88, 93 PCR 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 94 Prácticas 12, 40, 54, 62, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 90 Propuesta curricular 48, 49

R

Reconstrucción 14, 15, 16, 17, 22, 27, 30, 31 Resiliencia 90, 94, 108, 110 Riesgo 14, 15, 20, 22, 23, 25, 26, 27, 68, 70, 82, 83, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 106, 107 Riesgos 14, 15, 17, 18, 19, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 31, 53, 66, 98, 99 Rigueza 32, 37, 38, 39, 53, 108, 111, 115, 117, 119

S

Simulación Monte Carlo 97, 100, 101, 102, 103, 104, 106, 107 Sismos 14, 16, 17, 22, 24, 27, 28, 30 Sistema no lineal 120, 121, 122, 123, 127, 128, 137, 138 Sistemas de nivel de líquido 120

Т

Takagi-Sugeno 120, 122, 127, 137, 138 Trichoderma asperellum 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96

U

Utilidad petrolera 97, 105, 106