

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

INFORME DE SERVICIO SOCIAL LEGAL

**CARACTERIZACIÓN DE IFN- γ e IL-10 MEDIANTE ANÁLISIS *in silico* e *in vitro*
EN *Procyon lotor* Y *Nasua narica***

Prestador de Servicio social:
Dulce Montserrat López López
Matrícula: 2193069806

Asesores:



Interno: Emilio Rendón Franco
N° Eco. 34270



Externo: Fabiola Garcés Ayala
CED PROF.11700199

Lugar de realización:

Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Xochimilco, Calzada del Hueso 1100,
Colonia Villa Quietud, Alcaldía Coyoacán, C.P. 04960, CDMX.

Fecha de realización:

6 de octubre de 2025 al 6 de abril de 2026

Índice

1. Introducción.....	3
2. Justificación	3
3. Marco Teórico	3
3.1 Prociónidos	3
3.1.1 Coati	4
3.1.2 Mapache	4
3.2 Proceso inflamatorio	4
3.3 Citocinas	5
3.3.1 IFN- γ	5
3.3.2 IL-10	6
4. Objetivos	6
4.1 Objetivo general	6
4.2 Objetivos específicos	6
5. Metas	6
6. Métodos	6
6.1 Muestras	6
6.2 Búsqueda de secuencias y alineamiento	7
6.3 Análisis <i>in silico</i>	7
6.4 Análisis filogenético	7
6.5 Análisis <i>in vitro</i>	7
7. Resultados y discusión.....	8
7.1 Localización cromosómica de los genes de IFN- γ e IL-10	8
7.2 Árbol filogenético del gen IFN- γ	9
7.3 Árbol filogenético del gen IL-10	10
7.4 Análisis <i>in vitro</i>	11
8. Conclusiones	15
9. Bibliografía	15

1. Introducción

El proceso inflamatorio es una respuesta fundamental del sistema inmunológico (SI) frente a agentes patógenos o daño tisular, esta respuesta implica la activación coordinada de células inmunitarias y la liberación de mediadores como las citocinas, que regulan la maduración, el crecimiento y la capacidad de respuesta de las células (Liu *et al.*, 2021). Entre estas citocinas, se encuentran el interferón gamma (IFN- γ) con acción proinflamatoria, por otro lado, la interleucina 10 (IL-10) con acción antiinflamatoria que regula la respuesta del SI (Saraiva *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2017). El estudio de estas citocinas en especies silvestres que pertenecen a la familia *Procyonidae* como el mapache (*Procyon lotor*) y el coatí de nariz blanca (*Nasua narica*) resulta ser de interés debido a que tienen una gran interacción en áreas urbanas y su potencial papel como vectores y reservorios de patógenos entre la fauna silvestre, animales domésticos y los seres humanos (Myśliwy *et al.*, 2022; Mehrkens *et al.*, 2013). La presente investigación tiene como objetivo la caracterización de IFN- γ e IL-10 de prociénidos silvestres.

2. Justificación

El estudio de las citocinas, particularmente del IFN- γ e IL-10, en especies como el mapache y el coatí de nariz blanca, es fundamental para entender cómo responden a infecciones y otros desafíos inmunitarios. Información sobre su sistema inmunológico es aún limitado, por lo que la caracterización de IFN- γ e IL-10 mediante enfoques *in silico* e *in vitro* permitirá no solo identificar posibles similitudes genéticas y funcionales entre ambas especies, sino también establecer bases para futuras investigaciones sobre su inmunocompetencia.

3. Marco teórico

3.1 Prociénidos

La familia *Procyonidae* es una de las 11 familias que forman parte del orden Carnivora, consta de 14 especies en seis géneros (Wozencraft, 2005), los cuales llegan a distribuirse desde el sur de Canadá hasta el norte de Argentina. Sus miembros presentan hábitos alimenticios variados, desde frugívoros tropicales altamente arborícola como el kinkajú (*Potos flavus*), omnívoros terrestres a arborícolas como el coatí, mapache y cacomixtle (Nowak, 2005), así como los olingos (*Bassaricyon spp*) que pueden ser tanto frugívoros como omnívoros el cual se distribuye en particular en zonas tropicales de América Central y América del Sur (Monteza-Moreno *et al.*, 2022).

La capacidad de adaptación de estas especies ha favorecido su establecimiento en hábitats urbanos y rurales en gran parte de América del Norte, donde son nativos, en particular los mapaches, coatíes y cacomixtles. En particular los mapaches han

sido introducidos y establecidos en muchos países de Europa y Asia (Stope, 2023; Okuyama *et al.*, 2020). México presenta una gran variedad de hábitats, que incluyen desiertos, bosques del norte, bosques tropicales y humedales, lo que proporciona hábitats adecuados para varias especies de prociónidos, entre ellos predominan el coatí de nariz blanca (*Nasua narica*) y el mapache (*Procyon lotor*), los cuales al ser altamente sociables viven cerca de asentamientos humanos, como parques turísticos y zonas ganaderas (Contreras-Moreno *et al.*, 2012).

3.1.1 Coati

Se reconocen comúnmente dos especies de coatíes: el coatí de nariz blanca (*Nasua narica*) y el coatí de nariz marrón o sudamericano (*Nasua nasua*). Los coatíes de nariz blanca se distribuyen desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Sudamérica (Gompper, 1995), se caracterizan por una nariz alargada y una cola peluda con anillos claros y oscuros alternados (Whiteside, 2009). Son animales sociales que forman grupos de hasta 30 individuos, principalmente de hembras en edad reproductiva y algunos machos maduros (Gompper & Decker, 1998). Con hábitos diurnos en los que pasan la mayor parte de su tiempo buscando alimento, en hábitats como selvas tropicales, bosques secos e incluso áreas urbanas (Whiteside, 2009). Son animales omnívoros que se alimentan principalmente de frutas e invertebrados, su dieta puede variar de acuerdo a la estación, el hábitat y la disponibilidad (Álvarez *et al.*, 2013).

3.1.2 Mapache

Procyon lotor (mapache común) es originario de Norteamérica y fue introducido en Europa en la década de 1930 para la cría de pieles, la caza y como mascota (Mori *et al.*, 2015). Con una distintiva “máscara negra” alrededor de los ojos, este animal tiene hábitos nocturnos, suele ser solitarios, sin embargo dependiendo las circunstancias puede formar grupos sociales temporales o permanentes, es altamente adaptable a diversas condiciones ambientales y a los hábitats modificados por el hombre (Okarma *et al.*, 2012; Bartoszewicz *et al.*, 2008). Son omnívoros oportunistas y consumen casi cualquier alimento disponible, cambiando su dieta dependiendo de los recursos disponibles, a diferencia del mapache cangrejero (*P. cancrivorus*) que se alimenta principalmente de frutas e invertebrados acuáticos (Gatti *et al.*, 2006).

3.2 Proceso inflamatorio

La inflamación es un proceso biológico complejo que ocurre en respuesta a una alteración, que puede ser causada por una infección por patógenos o daño tisular (Ashley *et al.*, 2012). Suele caracterizarse por síntomas físicos como hinchazón, dolor, enrojecimiento y calor, y en casos extremos pérdida de la función, provocados por la vasodilatación, la extravasación de líquidos o el aumento de las concentraciones de mediadores. El proceso inflamatorio no es solo la eliminación de

agentes nocivos, sino también la eliminación, adaptación y renovación de las células dañadas para restaurar el equilibrio en el cuerpo (Ashley *et al.*, 2012; Ahmed, 2011).

Los inductores al desencadenar la respuesta inflamatoria son reconocidos por la célula hospedera, por lo que ocurre una infiltración de leucocitos, monocitos, neutrófilos y diferentes subgrupos de linfocitos al sitio donde se interrumpió la homeostasis (Pastwińska *et al.*, 2017). El reconocimiento se puede dar debido a la presencia de receptores de reconocimiento de patrones (PRR), receptores transmembrana específicos que detectan estructuras microbianas conocidas como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y lesiones celulares conocidas como patrones moleculares asociados al daño (DAMP) (Takeuchi & Akira, 2010). La infiltración de las células inflamatorias y la liberación de mediadores inmunológicos como las citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias, promoverá la restauración de la homeostasis regulando las respuestas de las células; los primeros estimulan y activan ciertos mecanismos para que continúe la inflamación, mientras que los segundos son los responsables de inhibir o bloquear la secreción de citocinas proinflamatorias (Di Paolo & Shayakhmetov, 2016; Wojdasiewicz *et al.*, 2014).

3.3 Citocinas

Una de las primeras respuestas del sistema inmunitario (SI) innato a la infección y al daño tisular es la secreción de citocinas, las cuales son proteínas solubles de bajo peso molecular secretadas por células como los linfocitos, macrófagos, células asesinas naturales (NK) y mastocitos, que participan en la comunicación de las células del SI, responsables de la regulación de la maduración, crecimiento y la capacidad de respuesta de las células (Liu *et al.*, 2021).

Dentro de los mamíferos carnívoros se ha reportado que la determinación de concentración de citocinas permite conocer el estado de salud y descubrir el mecanismo de acción del SI frente a agentes físicos, químicos y biológicos (Dik *et al.*, 2023; Gusmão *et al.*, 2022; Michaels *et al.*, 2016), particularmente en infecciones por virus los interferones (IFN) pueden expresarse en diferentes momentos durante el transcurso de la enfermedad dependiendo de la cepa, jugando un papel importante durante la respuesta aguda (Carolan *et al.*, 2015). Por otro lado, la suplementación con oligoelementos como el cromo en caninos puede modificar la respuesta inmune estimulando a los linfocitos T y B, y macrófagos aumentando la producción de citocinas, con la posibilidad de causar reacciones de hipersensibilidad (Farret *et al.*, 2023).

3.3.1 IFN- γ

Existen dos tipos de interferones; el tipo I son el interferón-alfa (IFN- α) y el interferón-beta (IFN- β), los cuales actúan principalmente en infecciones ocasionadas por virus y en procesos autoinmunes (Anders *et al.*, 2010); del tipo II solo esta el

interferón-gamma (IFN- γ) que es una citocina producida principalmente por las células T CD4 o CD8 activadas, linfocitos T helper 1 (Th1) y las células NK para inducir una respuesta inflamatoria y muerte celular apoptótica (Lee *et al.*, 2017; Vanegas *et al.*, 2017).

3.1.2 IL-10

La interleucina 10 (IL-10) es un mediador antiinflamatorio producido por macrófagos M2, linfocitos T reguladores (Treg), linfocitos helper 2 (Th2) y linfocitos B reguladores (Breg) (Liu *et al.*, 2021; Commins *et al.*, 2008), la cual regula la respuesta del SI frente a procesos inflamatorios, al tiempo que desempeña un papel importante en otros entornos como la cicatrización de heridas estériles, la autoinmunidad, el cáncer y la homeostasis del SI (Saraiva *et al.*, 2020). Durante las infecciones agudas, el bloqueo de la señalización de IL-10 puede provocar una patología más grave o incluso la muerte del hospedero; sin embargo, la alta producción de IL-10 se asocia con infecciones crónicas sostenidas y su bloqueo promueve la eliminación de patógenos (Couper *et al.*, 2008).

4. Objetivos

4.1 General

- Caracterización de citocinas en prociénidos silvestres

4.2 Específicos

- Caracterización *in silico* de IFN- γ e IL-10 en prociénidos
- Cuantificación *in vitro* de IFN- γ e IL-10

5. Metas

- Determinar la similitud de las secuencias de IFN- γ e IL-10 de mapache y coatí
- Cuantificar los niveles de IFN- γ e IL-10 en 15 muestras de sangre de mapache y coatí

6. Métodos

6.1 Muestras

Las muestras que se trabajaron provienen de individuos capturados en el “Parque Museo de La Venta” ubicado en la ciudad de Villahermosa, Tabasco. Mismo que cuenta con 4.3 hectáreas de bosque tropical perturbado rodeado de zonas urbanas, en donde los mapaches y coatíes habitan libremente en el parque teniendo una población de adultos estimada de aproximadamente 108 coatíes y 98 mapaches, con algunas fluctuaciones a lo largo del tiempo (Martínez-Hernández *et al.*, 2014). Los prociénidos son capturados para obtener muestras sanguíneas de las

poblaciones, que son almacenadas a -20°C para estudios posteriores. Para la presente investigación se utilizaron 6 muestras de sangre de coatí y 6 muestras de mapache ya existentes en el banco de muestras de la UAM-Xochimilco.

6.2 Búsqueda de secuencias

Utilizando la plataforma de NCBI se obtuvieron las secuencias de nucleótidos de IFN- γ e IL-10 de distintos carnívoros terrestres como: *Canis lupus familiaris*, *Canis lupus baileyi*, *Ailuropoda melanoleuca*, *Mustela lutreola*, *Mustela nivalis*, *Mustela putorius furo* y *Mustela nigripes*, con el fin de determinar en qué cromosoma se encuentran los genes de las citocinas.

6.3 Análisis *in silico*

Se utilizó la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) ejecutada desde el Símbolo de sistema, para determinar la ubicación de los genes en el cromosoma de los prociénidos. Para seleccionar el alineamiento más confiable se consideró el E-value más cercano a cero, lo que permitió identificar la posición exacta de cada gen. Posteriormente, en el servidor del NCBI, se volvió a ejecutar BLAST utilizando dichas secuencias para obtener la lista de alineamientos significativos. Con las secuencias obtenidas de diferentes especies se elaboró una base de datos para construir los árboles filogenéticos correspondientes para cada citocina.

6.4 Análisis filogenético

La reconstrucción filogenética se realizó a partir de las secuencias nucleotídicas en la región codificante (exones) del gen de IFN- γ e IL-10, empleando **61 y 73** taxones respectivamente. Se realizó el alineamiento de las secuencias utilizando ClustalW en Bioedit, el cual se editó para mantener solo la región conservada que coincide con los genes de IFN- γ e IL-10. Para la construcción de árbol se empleó el software de MEGA X (Kuma *et al.*, 2018), el cual se ejecutó con las siguientes especificaciones: utilizando el Neighbor-Joining como método de construcción (Saitou & Nei, 1987), con un bootstrap de 500 réplicas (Felsenstein, 1985) para predecir la historia evolutiva de los taxones analizados, asimismo se utilizó el modelo Maximum Composite Likelihood para determinar las distancias evolutivas (Tamura *et al.*, 2004).

6.5 Análisis *in vitro*

Mediante un ELISA directo se determinaron los niveles de IFN- γ e IL-10 en las muestras. Debido a que no existen anticuerpos de las especies para detectar estas citocinas, se utilizaron anticuerpos policlonales anti-interferón producidos en conejo. En los pocillos se fijarán 100 μ L/pocillo de muestra de suero de mapache y coatí,

diluido en tampón de carbonato a 4 °C durante la noche. Los pocillos se lavaron 3 veces con 200 µL/pocillo de solución salina tamponada con fosfato (PBS) con 0.05% Tween 20 (PBS-T). Posteriormente se añadirán 100 µL/pocillo de anticuerpo acoplado con peroxidasa de rábano picante (HRP) para IFN-γ/IL-10 (1:1000) y se incubaron a 37 °C durante 45 min.

Las citocinas se detectarán con 100 µL de solución 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB), y se incubaron 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad, la reacción se detendrá con ácido sulfúrico (H₂SO₄) con 50 µL/pocillo y los valores de absorbancia se medirán a 450 nm en un lector de ELISA (Rendón-Franco *et al.*, 2014).

7. Resultados y discusión

7.1 Localización cromosómica de los genes de IFN-γ e IL-10

Con el objetivo de identificar la localización de las citocinas IFN-γ e IL-10 se obtuvieron las secuencias nucleotídicas de referencia de especies de carnívoros filogenéticamente cercanas (**Cuadro 1.**).

Cuadro 1. Localización cromosómica en carnívoros de IFN-γ e IL-10

Especies	IFN-γ	N° Ref NCBI	IL-10	N° Ref NCBI
<i>Canis lupus familiaris</i>	10	NM_001003174.1	7	NM_001003077
<i>Canis lupus baileyi</i>	11	XM_072842647.1	6	XM_072831270.1
<i>Ailuropoda melanoleuca</i>	15	NM_001304863.1	8	XM_002919274.4
<i>Mustela nigripes</i>	6	XM_059404705.1	10	XM_059414060.1
<i>Mustela nivalis</i>	7	XM_082740965.1	16	XM_082701921.1
<i>Mustela lutreola</i>	8	XM_059186261.1	14	XM_059146563.1
<i>Mustela putorius furo</i>	ND	KJ831214.1	ND	XM_004756192.3

ND: No descrito

El alineamiento correspondiente a IFN-γ e IL-10 presentó valores de E- value entre 0.0 y 4×10^{-82} , porcentajes de identidad superiores al 86% y un máximo de 6% de gaps (inserciones o deleciones), lo que permitió localizar ambos genes en los genomas de *P. lotor* y *N. narica* (**Cuadro 2.**).

Cuadro 2. Localización de IFN-γ e IL-10 en *P. lotor* y *N. narica*

Especie	Gen	Cromosoma	Identidad (%)	E-value	Gaps(%)
---------	-----	-----------	---------------	---------	---------

<i>P. lotor</i>	IFNG	6	96	2×10^{-152}	0
<i>N. narica</i>	IFNG	11	90	0.0	4
<i>P. lotor</i>	IL10	16	87	9×10^{-84}	6
<i>N. narica</i>	IL10	18	86	4×10^{-82}	6

En el caso de *C. lupus familiaris* la localización cromosómica de ambos genes ha sido determinada experimentalmente y se utilizó como referencia para el presente trabajo, por otro lado el resto de especies fue identificada mediante herramientas bioinformáticas basadas en alineamientos de secuencias genómicas. Aunque los genomas de *P. lotor* y *N. narica* ya se encontraban ensamblados a nivel cromosómico, la ubicación específica de IFN- γ e IL-10 no había sido reportada.

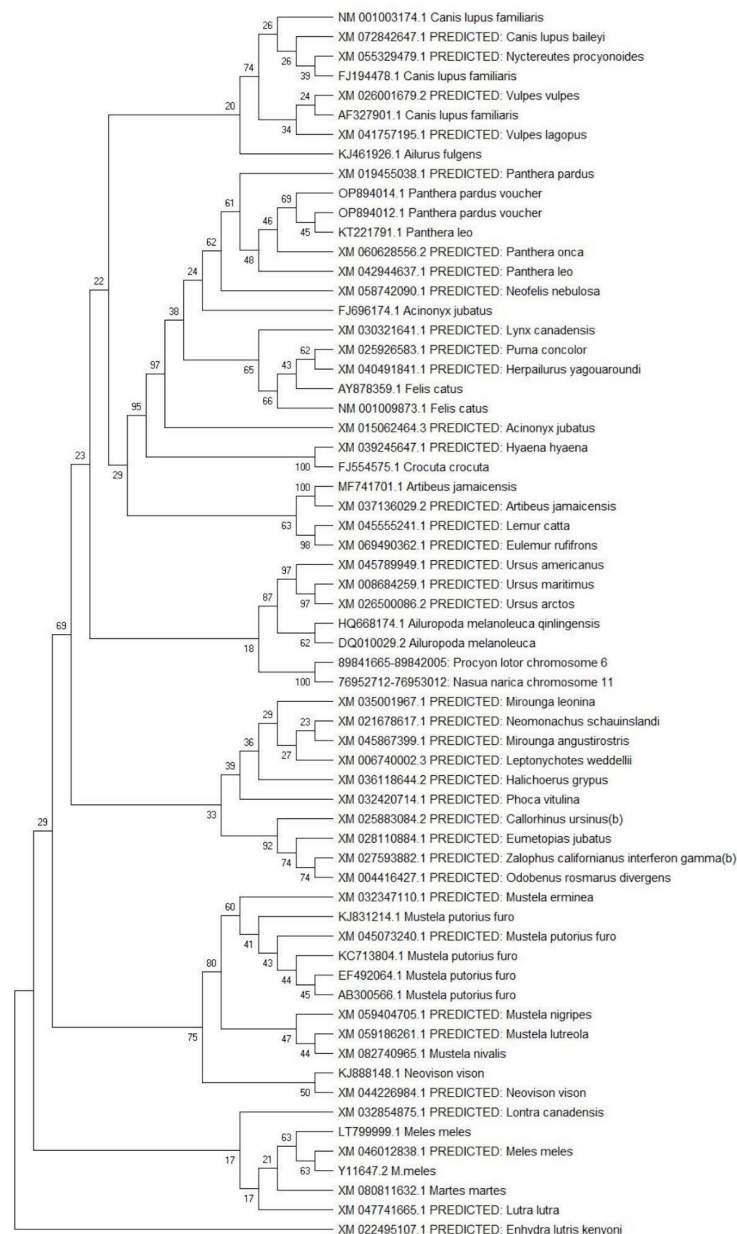
La variabilidad observada en la localización cromosómica de IFN- γ e IL-10 entre las especies analizadas puede explicarse por los reordenamientos cromosómicos, que ocurren durante la evolución, como fusiones, fisiones e inversiones cromosómicas, dando lugar a modificaciones en la organización del genoma (Burssed *et al.*, 2022). Las diferencias observadas en el locus IFN- γ e IL-10 no implican cambios en su función biológica, ya que ambos genes están evolutivamente conservados entre los vertebrados y mantienen funciones inmunorreguladoras esenciales (Zhu *et al.*, 2023), debido a que son regiones en los genomas donde los genes vecinos se han mantenido, lo que sugiere que las diferencias en su localización cromosómica son consecuencia de reordenamientos cromosómicos ocurridos durante la evolución de cada especie y no de modificaciones funcionales de los genes (Arias-Sardá *et al.*, 2024; Farré *et al.*, 2019).

7.2 Árbol filogenético del gen IFN- γ

El análisis *in silico* a partir del fragmento codificante del gen IFN- γ (**Figura 1**) agrupó de forma monofilética a los prociónidos en un nodo terminal con un soporte máximo de bootstrap del 100%, lo cual reafirma la estrecha relación filogenética para este gen, lo cual concuerda con lo propuesto por Koepfli *et al.*, 2007. Por otra parte, se segregaron los grandes subordenes taxonómicos del orden Carnivora, separando el suborden Feliformia (Felidae e Hyaenidae) del suborden Caniformia (Canidae, Ursidae, Ailuridae, Procyonidae, Phocidae, Otariidae, Odobenidae y Mustelidae), de los cuales las familias Canidae, Felidae, Ursidae, Hyaenidae e Otariidae mostraron nodos internos con valores bootstrap robustos superiores al 74%, en contraste la familia Mustelidae no se agrupó como un grupo monofilético, dando lugar a dos clados con valores bootstrap de 17% y 75%, además de posicionar a la nutria marina del norte (*Enhydra lutris kenyoni*) y el panda rojo (*Ailurus fulgens*) en ramificaciones basales independientes. Finalmente, los grupos

externos del orden Chiroptera y Primates se ubicaron al centro del árbol compartiendo un ancestro común.

Figura 1. Árbol filogenético del gen IFN-γ

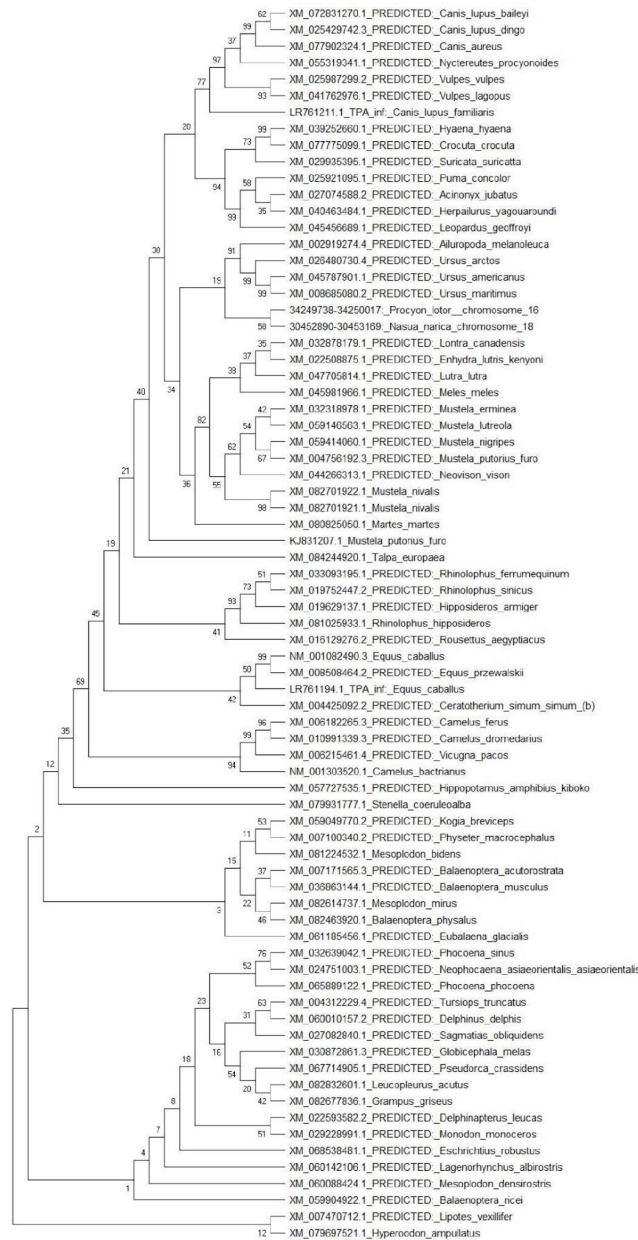


7.3 Árbol filogenético del gen IL-10

El análisis *in silico* a partir del fragmento codificante del gen IL-10 (**Figura 2.**) logró posicionar correctamente como grupos externos a los órdenes Chiroptera (Rhinolophidae, Hipposideridae y Pteropodidae), Perissodactyla (Equidae y Rhinocerotidae), Cetartiodactyla (representado por 13 familias, entre ellos cetáceos, camélidos e hipopótamos) y al único miembro de Eulipotyphla (Topo). Posicionando de forma monofilética al orden Carnivora, segregando a las familias Canidae, Felidae, Ursidae, Hyaenidae y al único miembro de Herpestidae (Suricata) en clados con un bootstrap superior al 73%. Por otro lado, la familia Mustelidae se separó en

dos clados independientes con un nodo de 36%, dejando en una rama basal independiente a la nutria marina del norte.

Figura 2. Árbol filogenético del gen IL-10

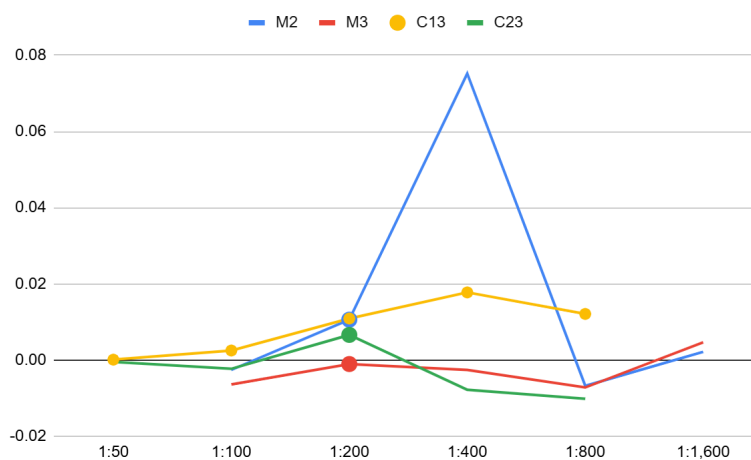


En cambio, el nodo que une a los prociónidos tiene un bootstrap del 100% confirmando la estrecha relación filogenética para el gen IL-10, el cual del mismo modo que el gen IFN- γ al tener cumplir con funciones inmunológicas han conservado su estructura funcional sin cambios drásticos (Zhu *et al.*, 2023).

7.4 Análisis *in vitro*

Al realizarse ELISA directo (**Gráfica 1.**) las lecturas de absorbancia en dos muestras de cada prociónido estuvieron por debajo de 0.08, registrando incluso valores negativos, sin presentar una respuesta decreciente conforme a las diluciones.

Gráfica 1. ELISA de IFN- γ (1:1,1000)



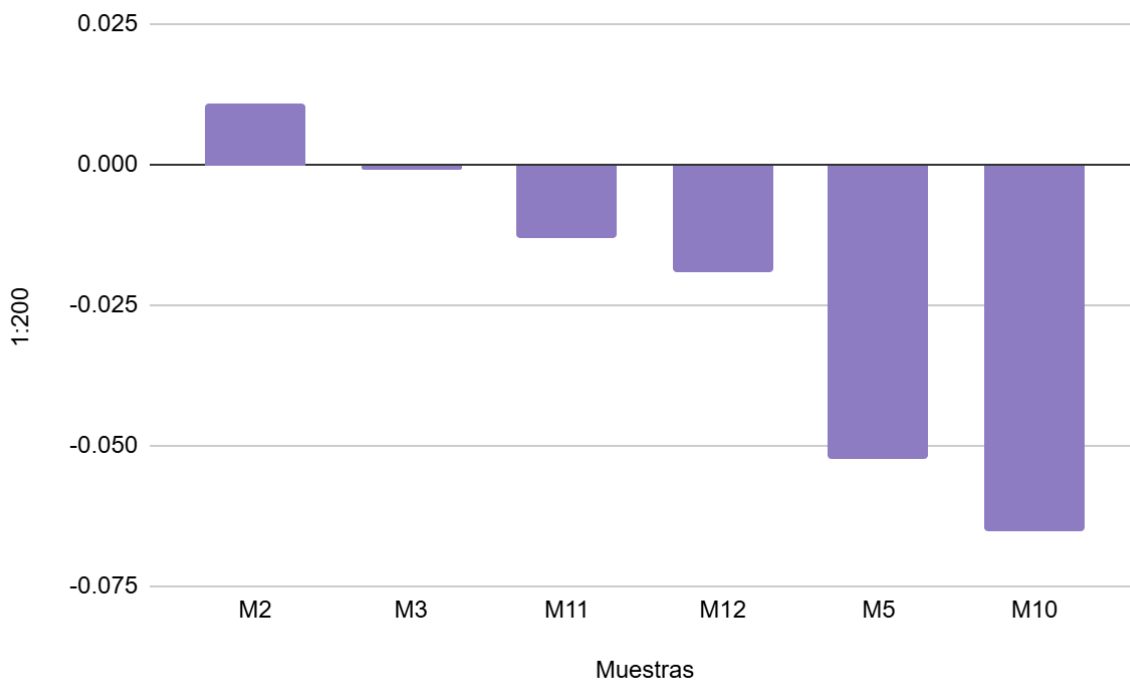
M: mapache (azul y rojo); C: coatí (amarillo y verde); los sueros fueron diluidos de 1:50 a 1:1,600

Se observó un pico anómalo en la dilución 1:400 en la muestra M2, el cual puede deberse al hecho de que el anticuerpo anti interferón gamma empleado fue desarrollado para otra especie (conejo), imposibilitando la unión antígeno-anticuerpo debido a la falta de reactividad cruzada (Chileshe *et al.*, 2025). Comúnmente para estudios en fauna silvestre se utilizan reactivos de especies diferentes a la estudiada, debido a la falta de reactivos para cada especie, frecuentemente la determinación de concentración de IFN- γ se hace con el fin de diagnosticar procesos infecciosos, ya que esta citocina se encuentra en concentraciones casi indetectables en un animal sano y sin estímulo que provoque su secreción (Chileshe *et al.*, 2019). En el caso particular de *Mycobacterium bovis* el cual puede afectar a distintos mamíferos como alpacas, cerdos, lobos, jabalíes, bisontes, rinocerontes blancos, cabras y perros (O'Hallorand *et al.*, 2025; Smith *et al.*, 2021; Chileshe *et al.*, 2019). Cuando se requiere cuantificar la concentración de IFN- γ el anticuerpo utilizado es de otra especie, como en el caso de bisontes se utiliza de bovino (hecho para ganado) (Didkowska *et al.*, 2022) y para rinoceronte blanco se utiliza de caballo (Chileshe *et al.*, 2019), en ambos casos estos tienen en común que están relacionados genéticamente. Esta relación permite prever una alta homología entre sus secuencias de la citocina, por lo que se podrá determinar la concentración con el anticuerpo utilizado (Smith *et al.*, 2021).

En la **Gráfica 2. y Gráfica 3.** puede observarse que los valores de absorbancia obtenidos en su mayoría se obtuvieron valores negativos, si bien en las muestras M2, C13 y C23 tienen valores positivos estos siguen siendo 0, indicando ausencia de señal de la citocina. Aunque puede deberse a una baja o falta de reactividad cruzada al anticuerpo utilizado, también puede deberse a un efecto de matriz

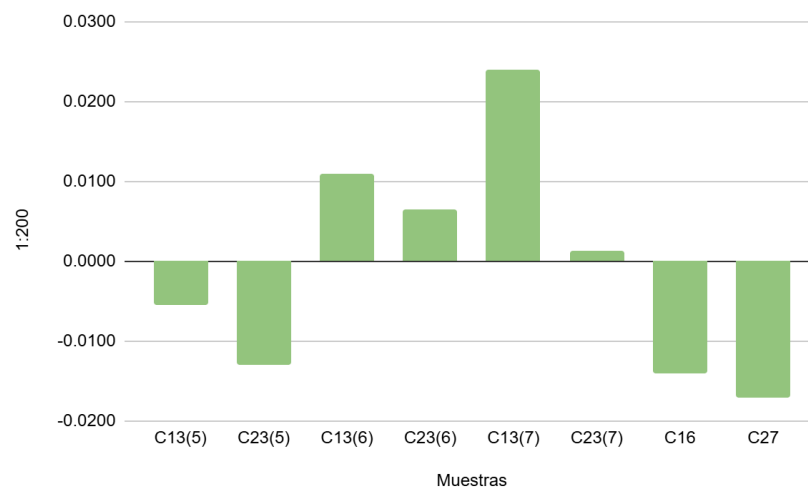
(Oldfield, 2014), o tan solo en las muestras no había suficiente IFN- γ para ser detectado.

Gráfica 2. Concentración de IFN- γ (1:1,000) en suero de mapache



M: mapache; concentración obtenida de en suero de mapache diluido 1:200 utilizando anti interferón diluido a 1:1,000

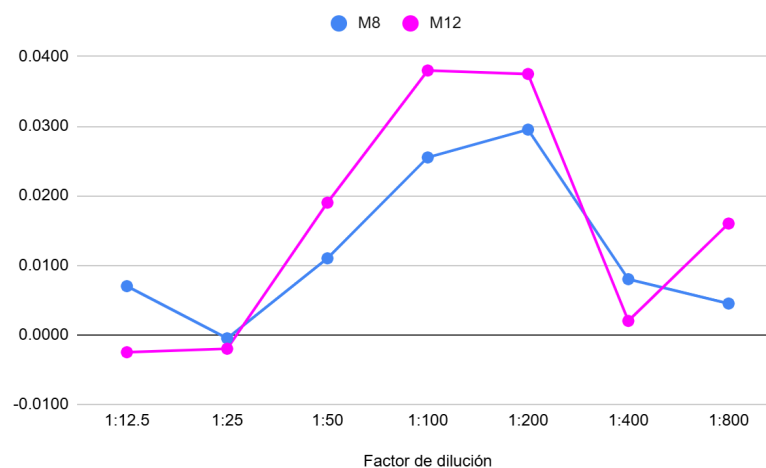
Gráfica 3. Concentración de IFN- γ (1:1,000) en suero de coatí



C: coatí; concentración obtenida de en suero de coatí diluido 1:200; las muestras C13 y C23, se analizaron tres veces durante la investigación; utilizando anti interferón diluido a 1:1,000

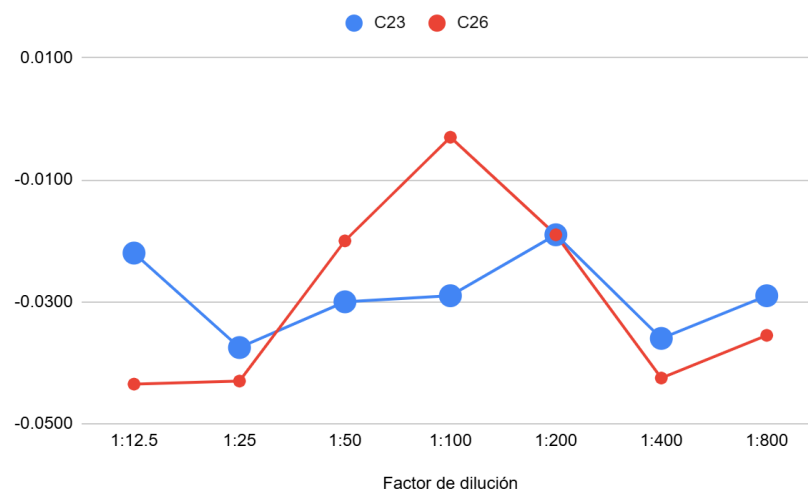
Por su parte para IL-10 solo se realizó una vez el ELISA directo para ambos prociñidos (**Gráfica 4.** y **Gráfica 5.**), como en el caso de IFN- γ los valores de absorbancia obtenidos son negativos o cercanos a cero, en ambos casos considerando ausencia de señal, lo cual puede deberse a limitada reactividad cruzada, ya que el anti interleucina 10 también proviene de conejo el cual aunque sea policlonal y pueda reconocer diferentes epítomos no garantiza que pueda reconocer el de otra especie como el coatí y mapache (Jia *et al.*, 2020). La falta de validación de estos anticuerpos en especies diferentes puede llevar a resultados negativos (Kjelgaard-Hansen *et al.*, 2007). En casos donde se busque realizar la validación de un kit o anticuerpo debe emplearse tanto animales sanos como enfermos, y debido a que no puede asegurarse la condición de los animales de los que se obtuvo la muestra (Smith *et al.*, 2021), el hecho de que la absorbancia sea cero no implica que sea debido a falta de reactividad o que se encuentre en bajas concentraciones en el suero, también cabe la posibilidad que el problema sea las diluciones utilizadas.

Gráfica 4. Concentración de IL-10 (1:1,000) en suero de mapache



M: mapache; suero de mapache diluido de 1:12.5 a 1:800

Gráfica 5. Concentración de IL-10 (1:1,000) en suero de coatí



C:coatí; suero de coatí diluido de 1:12.5 a 1:800

8. Conclusiones

De acuerdo al resultado del análisis filogenético realizado, las secuencias de IFN- γ e IL-10 reveló la familiaridad de ambos prociñidos para estos genes, por otro lado, el análisis *in vitro* demostró que los anticuerpos utilizados no permiten determinar la concentración de estas citocinas, al menos con las diluciones utilizadas.

9. Bibliografía

- Álvarez, T. A. A., Sarabia, M. S., & Rosales, M. D. L. L. M. (2013). Alimentación del coatí *Nasua narica*, en la comunidad de las Ánimas, Municipio de Chapa de Mota, Estado de México, México. *Revista de zoología*, (24), 16-26.
- Ahmed, A. U. (2011). An overview of inflammation: mechanism and consequences. *Frontiers In Biology*, 6(4).
- Anders, H., Lichtnekert, J., & Allam, R. (2010). Interferon- α and - β in kidney inflammation. *Kidney International*, 77(10), 848-854.
- Arias-Sardá, C., Quigley, S., & Farré, M. (2024). Patterns of chromosome evolution in ruminants. *Molecular ecology*, 33(24), e17197.
- Ashley, N. T., Weil, Z. M., & Nelson, R. J. (2012). Inflammation: Mechanisms, Costs, and Natural Variation. *Annual Review Of Ecology Evolution And Systematics*, 43(1), 385-406.
- Bartoszewicz, M., Okarma, H., Zalewski, A., & Szczęśna, J. (2008). Ecology of the raccoon (*Procyon lotor*) from western Poland. In *Annales Zoologici Fennici* (Vol. 45, No. 4, pp. 291-298). Finnish Zoological and Botanical Publishing Board.
- Burssed, B., Zamariolli, M., Bellucco, F. T., & Melaragno, M. I. (2022). Mechanisms of structural chromosomal rearrangement formation. *Molecular cytogenetics*, 15(1), 23.

- Chileshe, J., Shury, T., & Chen, J. M. (2025). Optimization and validation of ELISAs for interferon-gamma determination in bison. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 37(5), 764–770.
- Chileshe, J., Goosen, W. J., Buss, P. E., van Helden, P. D., Warren, R., Parsons, S. D. C., & Miller, M. A. (2019). A commercial ELISA for detection of interferon gamma in white rhinoceros. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 31(4), 531–536.
- Commins, S., Steinke, J. W., & Borish, L. (2008). The extended IL-10 superfamily: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, and IL-29. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 121(5), 1108–1111.
- Contreras-Moreno, F. M., K, de-la-Cruz-Felix, J, Bello-Gutiérrez. (2012). Uso patrones de cacería y preferencias de presas en dos sitios del parque estatal La Sierra, Tabasco, México. *Etnobiología*, 10, 1-9.
- Carolan, L. A., Rockman, S., Borg, K., Guarnaccia, T., Reading, P., Mosse, J., Kelso, A., Barr, I., & Laurie, K. L. (2015). Characterization of the Localized Immune Response in the Respiratory Tract of Ferrets following Infection with Influenza A and B Viruses. *Journal of virology*, 90(6), 2838–2848.
- Couper, K. N., Blount, D. G., & Riley, E. M. (2008). IL-10: the master regulator of immunity to infection. *The Journal of Immunology*, 180(9), 5771-5777.
- Didkowska, A., Orłowska, B., Krajewska-Wędzina, M., Krzysiak, M., Bruczyńska, M., Wiśniewski, J., Klich, D., Olech, W., & Anusz, K. (2022). Intra-Palpebral Tuberculin Skin Test and Interferon Gamma Release Assay in Diagnosing Tuberculosis Due to *Mycobacterium caprae* in European Bison (*Bison bonasus*). *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11(2), 260.
- Di Paolo, N. C., & Shayakhmetov, D. M. (2016). Interleukin 1 α and the inflammatory process. *Nature immunology*, 17(8), 906–913.
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792-1797.
- Farré, M., Kim, J., Proskuryakova, A. A., Zhang, Y., Kulemzina, A. I., Li, Q., Zhou, Y., Xiong, Y., Johnson, J. L., Perelman, P. L., Johnson, W. E., Warren, W. C., Kukekova, A. V., Zhang, G., O'Brien, S. J., Ryder, O. A., Graphodatsky, A. S., Ma, J., Lewin, H. A., & Larkin, D. M. (2019). Evolution of gene regulation in ruminants differs between evolutionary breakpoint regions and homologous synteny blocks. *Genome research*, 29(4), 576–589.
- Farret, M. H., Zatti, E., Bissacotti, B. F., Copetti, P. M., Schetinger, M. R. C., Vilvert, M. P., & da Silva, A. S. (2023). Addition of chromium propionate in dog food: metabolic, immunological, and oxidative effects. *Archives of animal nutrition*, 77(1), 1–16.
- Felsenstein J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783-791.
- Gatti, A., Bianchi, R., Rosa, C. R. X., & Mendes, S. L. (2006). Diet of two sympatric carnivores, *Cercopithecus thomasi* and *Procyon cancrivorus*, in a restinga

area of Espirito Santo State, Brazil. *Journal Of Tropical Ecology*, 22(2), 227-230

- Gompper, M. E. (1995). *Nasua narica*. Mamm Species 487, 1-10
- Gompper, M. E., Decker, D. M. (1998). *Nasua nasua*. Mamm Species. 580:1–9.
- Gusmão, M. R., Di Paschoali Ostolin, T. L. V., Carvalho, L. M., Costa, A. F. P., Moreira, G. J. L., De Oliveira Cardoso, J. M., De Oliveira Aguiar-Soares, R. D., Reis, A. B., De Brito, R. C. F., & Roatt, B. M. (2022). Immunoprophylaxis using polypeptide chimera vaccines plus adjuvant system promote Th1 response controlling the spleen parasitism in hamster model of visceral leishmaniasis. *Vaccine*, 40(37), 5494-5503.
- Jia, B., Colling, A., Stallknecht, D. E., Blehert, D., Bingham, J., Crossley, B., Eagles, D., & Gardner, I. A. (2020). Validation of laboratory tests for infectious diseases in wild mammals: review and recommendations. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 32(6), 776–792.
- Kjelgaard-Hansen, M., Luntang-Jensen, M., Willesen, J., & Jensen, A. L. (2007). Measurement of serum interleukin-10 in the dog. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 173(2), 361–365.
- Korn, T., Bettelli, E., Oukka, M., & Kuchroo, V. K. (2009). IL-17 and Th17 Cells. *Annual review of immunology*, 27(1), 485-517.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., & Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547-1549.
- Lee, S. H., Kwon, J. Y., Kim, S., Jung, K., & Cho, M. (2017). Interferon-gamma regulates inflammatory cell death by targeting necroptosis in experimental autoimmune arthritis. *Scientific Reports*, 7(1).
- Liu, C., Chu, D., Kalantar-Zadeh, K., George, J., Young, H. A., & Liu, G. (2021). Cytokines: From Clinical Significance to Quantification. *Advanced science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)*, 8(15), e2004433.
- Martínez-Hernández, F., Rendon-Franco, E., Gama-Campillo, L. M., Villanueva-García, C., Romero-Valdovinos, M., Maravilla, P., Alejandro-Aguilar, R., Rivas, N., Córdoba-Aguilar, A., Muñoz-García, C. I., & Villalobos, G. (2014). Follow up of natural infection with *Trypanosoma cruzi* in two mammals species, *Nasua narica* and *Procyon lotor* (Carnivora: Procyonidae): evidence of infection control? *Parasites & Vectors*, 7(1).
- Mehrkens, L. R., Shender, L. A., Yabsley, M. J., Shock, B. C., Chinchilla, F. A., Suarez, J., & Gilardi, K. V. (2013). White-nosed coatis (*Nasua narica*) are a potential reservoir of *Trypanosoma cruzi* and other potentially zoonotic pathogens in Monteverde, Costa Rica. *Journal of wildlife diseases*, 49(4), 1014–1018.
- Michaels, D. L., Leibowitz, J. A., Azaiza, M. T., Shil, P. K., Shama, S. M., Kutish, G. F., Distelhorst, S. L., Balish, M. F., May, M. A., & Brown, D. R.

- (2016). Cellular Microbiology of *Mycoplasma canis*. *Infection and immunity*, 84(6), 1785–1795.
- Monteza-Moreno, C. M., Rodriguez-Castro, L., Castillo-Caballero, P. L., Toribio, E., & Saltonstall, K. (2022). Arboreal camera trapping sheds light on seed dispersal of the world's only epiphytic gymnosperm: *Zamia pseudoparasitica*. *Ecology And Evolution*, 12(3).
 - Mori, E., Mazza, G., Menchetti, M., Panzeri, M., Gager, Y., Bertolino, S., & Di Febbraro, M. (2015). The masked invader strikes again: the conquest of Italy by the Northern raccoon. *Hystrix*, 26(1), 1-5.
 - Myśliwy, I., Perec-Matysiak, A., & Hildebrand, J. (2022). Invasive raccoon (*Procyon lotor*) and raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) as potential reservoirs of tick-borne pathogens: data review from native and introduced areas. *Parasites & vectors*, 15(1), 126.
 - Nowak, R.N. (2005). *Walker's Carnivores of the World*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD.
 - Okarma, H., Zalewski, A., Bartoszewicz, M., Biedrzycka, A., & Jedrzejewska, E. (2012). Szop pracz *Procyon lotor* w Polsce-ekologia inwazji. *Studia i Materiały Centrum Edukacji Przyrodniczo-Leśnej*, 14(4),33.
 - O'Halloran, C., Burr, P., Gunn-Moore, D. A., & Hope, J. C. (2025). Comparative Performance of Ante-Mortem Diagnostic Assays for the Identification of *Mycobacterium bovis*-Infected Domestic Dogs (*Canis lupus familiaris*). *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 14(1), 28.
 - Okuyama, M. W., Shimozuru, M., Nakai, M., Yamaguchi, E., Fujii, K., Shimada, K., Ikeda, T., & Tsubota, T. (2020). Genetic population structure of invasive raccoons (*Procyon lotor*) in Hokkaido, Japan: Unique phenomenon caused by pet escape or abandonment. *Scientific Reports*, 10(1).
 - Oldfield P. R. (2014). Understanding the matrix effect in immunoassays. *Bioanalysis*, 6(11), 1425–1427.
 - Pastwińska, J., Agier, J., Dastyk, J., & Brzezińska-Błaszczuk, E. (2017). Mast cells as the strength of the inflammatory process. *Polish Journal Of Pathology*, 68(3), 187-196.
 - Rendón-Franco, E., Xicoténcatl-García, L., Rico-Torres, C. P., Muñoz-García, C. I., Caso-Aguilar, A., Suzán, G., Correa, D., & Caballero-Ortega, H. (2014). Toxoplasmosis seroprevalence in wild small rodents, potentially preys of ocelots in north-eastern Mexico. *Parasite*, 21, 57.
 - Saitou N., & Nei M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4, 406-425.
 - Smith, K., Bernitz, N., Goldswain, S., Cooper, D. V., Warren, R. M., Goosen, W. J., & Miller, M. A. (2021). Optimized interferon-gamma release assays for detection of *Mycobacterium bovis* infection in African buffaloes (*Syncerus caffer*). *Veterinary immunology and immunopathology*, 231, 110163.
 - Saraiva, M., Vieira, P., & O'Garra, A. (2020). Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *The Journal of experimental medicine*, 217(1), e20190418.

- Stope, M. B. (2023). The raccoon (*Procyon lotor*) as a neozoon in Europe. *Animals*, 13(2), 273.
- Takeuchi, O., & Akira, S. (2010). Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, 140(6), 805–820.
- Tamura K., Nei M., & Kumar S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, 101, 11030-11035.
- Tang, L., Zhou, Z., Wang, W., Li, D., Hao, T., & Chen, Y. (2025). A Phylogenetic Perspective on the Evolutionary Patterns of the Animal Interleukin-10 Signaling System. *Genes*, 16(11), 1243.
- Vanegas, S. M., Meydani, M., Barnett, J. B., Goldin, B., Kane, A., Rasmussen, H., Brown, C., Vangay, P., Knights, D., Jonnalagadda, S., Koecher, K., Karl, J. P., Thomas, M., Dolnikowski, G., Li, L., Saltzman, E., Wu, D., & Meydani, S. N. (2017). Substituting whole grains for refined grains in a 6-wk randomized trial has a modest effect on gut microbiota and immune and inflammatory markers of healthy adults. *The American journal of clinical nutrition*, 105(3), 635–650.
- Whiteside, D. P. (2009). *Nutrition and Behavior of Coatis and Raccoons. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 12(2), 187–195.
- Wojdasiewicz, P., Poniatowski, Ł. A., & Szukiewicz, D. (2014). The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis. *Mediators of inflammation*, 2014, 561459.
- Wozencraft, W.C. (2005). Order Carnivora. In: Wilson, D.E., Reeder, D.M. (Eds.), *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, pp. 279–348.
- Zhu, X., Liu, Y., Xu, N., Ai, X., & Yang, Y. (2023). Molecular Characterization and Expression Analysis of IL-10 and IL-6 in Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 12(7), 886.