

“AÑO DE LA CONSOLIDACIÓN DEL MAR DE GRAU”

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCVELICA

(CREADA POR LEY N° 25265)



FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA

TESIS

ASOCIACIÓN DE *Eimeria macusaniensis* Y *Clostridium perfringens* EN
PROCESOS DIARREICOS EN CRÍAS DE ALPACA (*Vicugna pacos*)
EN LA COMUNIDAD DE SANTA BÁRBARA - HUANCVELICA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN
SALUD ANIMAL

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO ZOOTECNISTA

PRESENTADO POR:
Bach. Epifanio LIZANA HILARIO

ASESOR:
Dr. Nicasio Valencia Mamani

HUANCVELICA - 2016



UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAVELICA

FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERÍA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS



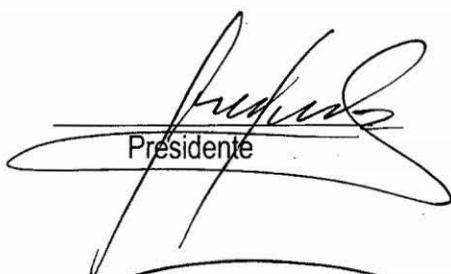
En el Auditorium de la Facultad de Ciencias de Ingeniería, a los 10 días del mes de agosto del año 2016, a horas 4:00 p.m, se reunieron los miembros del Jurado Calificador conformado por los siguientes: **Dr. Manuel CASTREJON VALDEZ (PRESIDENTE)**, **M.Sc. Elmer René CHÁVEZ ARAUJO (SECRETARIO)**, **Ing. Paul Herber MAYHUA MENDOZA (VOCAL)**, reestructurado con la Resolución de Consejo de Facultad N° 235-2015-FCI-UNH, de fecha 04 de junio del 2014 y ratificados con la Resolución de Decano N° 073-2016-FCI-UNH de fecha 04 de agosto del 2016, a fin de proceder con la evaluación y calificación de la sustentación del informe final de tesis titulado: "ASOCIACIÓN DE *Eimeria macusaniensis* Y *Clostridium perfringens* EN PROCESOS DIARREICOS EN CRÍAS DE ALPACA (*Vicugna pacos*) EN LA COMUNIDAD DE SANTA BARBARA-HUANCAVELICA", presentado por el Bachiller **Epifanio LIZANA HILARIO**, para optar el **Título Profesional de Ingeniero Zootecnista**; en presencia del **Dr. Nicasio VALENCIA MAMANI**, Asesor del presente trabajo de tesis. Finalizado la evaluación a horas *18:12 hrs.*; se invitó al público presente y al sustentante abandonar el recinto. Luego de una amplia deliberación por parte de los Jurados, se llegó al siguiente resultado:

APROBADO

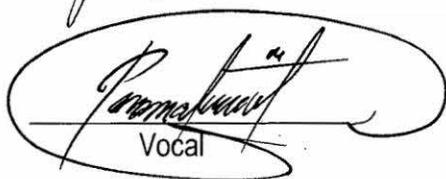
POR... *mayoría*

DESAPROBADO

En señal de conformidad, firmamos a continuación:


Presidente


Secretario


Vocal


Vº Bº Decano (e)

A mis padres, Justa Hilario y Epifanio Lizana que me han dado la existencia; y en ella la capacidad para superarme y desear lo mejor en cada paso de mi formación profesional. Gracias por ser como son, por que su presencia y persona ha ayudado a construir y forjar la persona que ahora soy.

A mis Hermanos y en especial a mi hermana Herminia Lizana que siempre ha estado junto a mí brindándome su apoyo incondicional muchas veces poniéndose en el papel de una madre.

AGRADECIMIENTO

- ❖ Al proyecto de Investigación "Herramientas Biotecnológicas y Ambientales para prevenir la mortalidad Neonatal y Crías de Alpaca en alta montaña Huancavelica-Perú" financiada por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación tecnológica. (CONCYTEC) y ejecutada por la Universidad Nacional de Huancavelica y Centro de Estudios y Promoción del Desarrollo (DESCO) por formar parte como tesista.
- ❖ A los docentes de la Escuela Profesional de Zootecnia de la Facultad de Ciencias de Ingeniería de la Universidad Nacional de Huancavelica, quienes impartieron sus conocimientos científicos, tecnológicos y experiencias durante la permanencia en las aulas universitarias en beneficio de mi formación profesional.
- ❖ A mi asesor Dr. Nicasio VALENCIA MAMANI Rector y Jefe del Laboratorio de Salud Animal de la Universidad Nacional de Huancavelica por su orientación y apoyo incondicional.
- ❖ A la Dra. Luz Marina VILCAPAZA QUISPE por sus enseñanzas y comentarios en todo el proceso de ejecución de la tesis con sus atinadas correcciones.
- ❖ A los Productores Alpaqueros de la comunidad de Santa Bárbara por la comprensión y apoyo al permitirme manipular a sus animales para la obtención de muestras para los análisis respectivos.
- ❖ Al Laboratorio de Salud Animal de la Universidad Nacional de Huancavelica

ÍNDICE

	Pág.
Portada	i
Índice	iv
Resumen	viii
Abstract	ix
Introducción	1

Capítulo I

Problema

1.1. Planteamiento del Problema	3
1.2. Formulación del Problema	4
1.3. Objetivo: General y Específicos	4
1.4. Justificación	5

Capítulo II

Marco Teórico

2.1. Antecedentes	7
2.2. Bases Teóricas	12
2.2.1. La Alpaca	12
2.2.2. Mortalidad en Crías de Alpaca	12
2.2.3. Diarrea en Crías de Alpaca	12
2.2.4. Eimeriosis	13
2.2.4.1. Eimeriosis en Alpacas	13
2.2.4.2. <i>Eimeria macusaniensis</i>	17
2.2.5. Enterotoxemia	21
2.2.5.1. Enterotoxemia en Alpacas	21
2.2.5.2. <i>Clostridium perfringens</i>	23
2.3. Hipótesis	24
2.4. Variables de Estudio	25
2.5. Definición operativa de Variables	25

Capítulo III

Metodología de la Investigación

3.1. Ámbito de Estudio	26
3.2. Tipo de Investigación	26
3.3. Nivel de Investigación	26
3.4. Método de Investigación	27
3.5. Diseño de Investigación	27
3.6. Población, Muestra, Muestreo	28
3.7. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos	29
3.7.1. Técnicas	29
3.7.2. Instrumentos de Recolección de Datos	31
3.8. Procedimientos de Recolección de Datos	32
3.9. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos	34

Capítulo IV

Resultados y Discusión

4.1. Presentación de resultados	36
4.2. Discusión	40
Conclusiones	44
Recomendaciones	45
Referencias Bibliográficas	46
Anexos	
Gráficos e Imágenes	

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Eimerias Notificadas en Camélidos Sudamericanos	14
Cuadro 2. Periodo Prepatente y Patente Reportados en <i>Eimeria spp.</i> de Camélidos Sudamericanos.	15
Cuadro 3. Características Biométricas y Morfológicas de Ooquistes de Camélidos Sudamericanos	18
Cuadro 4. Cronología de la Eimeriosis en Camélidos Sudamericanos	20
Cuadro 5. Operativa de las Variables e Indicadores	25
Cuadro 6. Parámetros de Identificación de <i>Eimeria macusaniensis</i>	31
Cuadro 7. Parámetros de Identificación de <i>Clostridium perfringens</i>	31

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Prevalencia de <i>E. macusaniensis</i> en crías de alpaca con procesos diarreicos	36
Tabla 2. Prevalencia de <i>C. perfringens</i> en crías de alpaca con procesos diarreicos	37
Tabla 3. Grado de asociación de la carga parasitaria de <i>E. macusaniensis</i> con respecto a la presencia de <i>C. perfringens</i> en crías de alpaca.	37
Tabla 4. Grado de asociación de la carga parasitaria de <i>Eimeria spp.</i> y presencia de <i>Clostridium perfringens</i> en crías de alpaca.	38
Tabla 5. Asociación de <i>Eimeria macusaniensis</i> y <i>Clostridium Perfringens</i> en crías de alpaca con procesos diarreicos de la comunidad de Santa Bárbara.	39
Tabla 6. Ooquiste por gramo de heces (OPGH) según carga parasitaria de <i>Eimeria macusaniensis</i> .	51
Tabla 7. Ooquistes de <i>Eimeria spp</i> por gramo de heces (OPGH) en crías de alpaca, según grupo etario de la comunidad de Santa Bárbara	52
Tabla 8. Presencia de <i>Clostridium perfringens</i> según carga parasitaria de <i>Eimeria spp.</i> y OPGH.	52

RESUMEN

El presente estudio se realizó con el propósito de determinar la asociación de *E. macusaniensis* y *C. perfringens* en procesos diarreicos en crías de alpaca, ejecutado en dos sectores (Pallccapampa y Carnicería) de la comunidad de Santa Bárbara del Distrito de Huancavelica, para ello se obtuvieron 190 muestras de heces. Las muestras se procesaron mediante la técnica de flotación en solución saturada de azúcar para determinar la presencia de *E. macusaniensis* y el método de McMaster para establecer la carga parasitaria (OPGH) de *E. spp.* al mismo tiempo se determinó la presencia de *C. perfringens* mediante el cultivo de las muestras en anaerobiosis en caldo tioglicolato y agar sangre y para la prueba de confirmación se consideró; producción de hemólisis, afinidad a la coloración Gram, fermentación de azúcares, prueba de motilidad, producción de Indol, producción de gas y producción de sulfuro de hidrógeno. Se encontró una coinfección en un 23,7 % (45/190) de las muestras, evidenciando una asociación moderada (36 %) con un $p < 0,05$ con prevalencias de; 0 % (0/15), 40 % (6/15); 0 % (0/48), 6,25 % (3/48); y 81,88 %, (104/127), 35,43 % (45/127) de *E. macusaniensis* y *C. perfringens* según grupo etario; perinatal, neonatal y crías respectivamente. La carga parasitaria de *E. macusaniensis* y presencia de *C. perfringens* presentó una relación moderada (0,57) con un $p < 0,05$ de igual manera presentó una relación moderada (0,53) entre carga parasitaria de *E. spp.* y presencia de *C. perfringens* con un $p < 0,05$ con medias de OPGH 4 338, 2 287, 890, y 0 en las categorías de alto, moderado, bajo y nulo correspondientemente en animales con procesos diarreicos, que son más que sugerentes para proponer que las infecciones por eimeriosis estimulan la proliferación de *C. perfringens* en los intestinos desencadenando cuadros fatales.

Palabras clave: Alpaca, clostridium, diarrea, eimeria, enteropatógenos.

ABSTRACT

This study was conducted in order to determine the association of *E. macusaniensis* and *C. perfringens* in diarrheal diseases in baby alpaca, executed in two sectors (Pallccapampa y Carniceria) of the community of Santa Barbara District of Huancavelica, 190 stool samples were obtained. The samples were processed by flotation technique in saturated sugar solution to determine the presence of *E. macusaniensis* and McMaster method to establish the parasite load (OPGH) *E. spp.* while the presence of *C. perfringens* was determined by culturing samples thioglycolate broth anaerobically in blood agar and confirmation testing it was considered; production hemolysis, affinity to Gram stain, fermentation of sugars, motility testing, indole production, gas production and production of hydrogen sulfide. Coinfection was found in 23.7 % (45/190) of samples showing a moderate association (36 %) with a $p < 0.05$ with prevalences; 0 % (0/15), 40 % (6/15); 0 % (0/48), 6,25 % (3/48); and 81,88 %, (104/127), 35,43 % (45/127) *E. macusaniensis* and *C. perfringens* by age group; perinatal , neonatal and breeding respectively. The parasite load of *E. macusaniensis* and presence of *C. perfringens* present a moderate relationship (0.57) with $p < 0.05$ in the same way I present a moderate relationship (0.53) between parasite load of *E. spp.* and the presence of *C. perfringens* with $p < 0.05$ with mean OPGH 4338, 2287, 890, and 0 in the categories of high, moderate, low and zero correspondingly in animals with diarrheal diseases, which are more than suggestive to propose that eimeriosis infections stimulate the proliferation of *C. perfringens* in the intestines triggering fatal pictures.

key words: alpaca, clostridium, diarrhea, eimeria, enteropathogens.

INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos (CSA) constituyen un recurso genético de importancia económica, social, cultural y científica para el Perú y para los países de la región andina. El Perú cuenta con 3' 685 516 alpacas que están distribuidas principalmente en los departamentos de Puno (39,6%), Cuzco (14,8%), Arequipa (12,7%) y Huancavelica (8,4%) (Censo, 2012), en donde alrededor del 90% de las alpacas peruanas están en manos de pequeños productores y comunidades campesinas que, paradójicamente, constituyen uno de los segmentos menos favorecidos de la población y que sobreviven en estado de extrema pobreza (FAO, 2005).

En estos lugares, la crianza de la alpaca se lleva a cabo siguiendo sistemas productivos tradicionales y carentes de tecnologías adecuadas, que se traducen en alta morbilidad y mortalidad neonatal y elucidar las causas de muerte de las crías de alpacas ha sido tema de estudios por investigadores pioneros cuyos esfuerzos estuvieron concentrados en identificar los agentes causales, describir signos clínicos y alteraciones patológicas, así como recomendar posibles tratamientos y medidas de control (Moro y Guerrero, 1971).

Durante la temporada de parición de la alpaca se presenta brotes severos de diarrea en las crías llegando a una mortalidad que fluctúa entre un 20 y 30 %, estas diarreas neonatales, causantes de muertes y reportadas como colibacilosis y/o enteritis (Ameghino y DeMartini, 1994) han sido pocas estudiadas en el Perú. Las pocas informaciones existentes, evidencian la presencia de *Clostridium perfringens*, *Eimeria spp*, *Cryptosporidium spp* y *Escherichia coli* como potenciales patógenos productores de alteraciones entéricas (Rosadio *et al.*, 2010, Palacios *et al.*, 2004, Ramírez *et al.*, 1985).

En tal sentido identificar y entender mejor el mecanismo de patogénesis, fundamentalmente de los procesos entéricos responsables de la muerte de crías en los primeros meses de edad, es esencial para la prevención contra los agentes infecciosos, parasitarios y/o asociaciones enteropatógenos. Las crías enfermas como las sanas y los animales adultos pueden eliminar de forma constante o intermitente estos enteropatógenos al ambiente a través de las heces. Cuando la contaminación ambiental de enteropatógenos es muy elevada y/o la inmunidad del recién nacido es baja se produce la colonización del intestino y el desarrollo de las lesiones características del enteropatógeno de que se trate.

Generalmente, se acepta que el *C. perfringens* es parte de la flora normal intestinal, la patogenicidad clostridial puede ser consecuencia de un rápido crecimiento biológico debido a ciertas alteraciones del estado o integridad de la salud intestinal. En esta posibilidad, se plantea la existencia de ciertos factores biológicos y/o fisiológicos que deben incidir negativamente en la salud intestinal que alteren el crecimiento clostridial desencadenando patología intestinal. Consecuentemente esta búsqueda de potenciales patógenos intestinales a edades tempranas nos lleva a realizar la investigación sobre las infecciones con *Eimeria macusaniensis* que inciden negativamente en la salud intestinal.

Por ende la importancia que representa el estudio de posibles asociaciones enteropatógenos que repercuten en la salud intestinal de las crías de alpaca considerando esto, el objetivo de este trabajo es determinar la asociación de *Eimeria macusaniensis* y *Clostridium perfringens* en procesos diarreicos en crías de alpaca.

CAPÍTULO I

PROBLEMA

1.1. Planteamiento del Problema

El Perú cuenta con la mayor población de alpacas (*Vicugna pacos*) en el mundo con 3' 685 516 ejemplares (Censo, 2012), las cuales el 90% de ellas se encuentran en zonas alto andinas de Perú. En la región de Huancavelica ubicada en la sierra centro existe 308 586 alpacas (Censo, 2012), la cual constituye el 8,4% de la población del total nacional siendo la crianza de alpacas una importante actividad económica del poblador alto andino, la cual se desarrolla por encima de los 3 700 m.s.n.m; en donde las familias están organizadas en comunidades campesinas, bajo un sistema de crianza de rebaño mixto (alpacas, llamas y ovinos).

Los rebaños de alpaca se caracterizan por carecer de sistemas de crianza adecuada carente de tecnología y manejo sanitario con elevadas tasas de mortalidad en crías, incidiendo negativamente en la producción de carne y fibra y por ende en la economía del criador alpaquero. La ausencia de registros sanitarios es una problemática constante en el productor siendo catalogadas las diarreas, neumonías y septicemias las enfermedades que originan mayor mortalidad en crías de alpacas (Ameghino y DeMartini, 1991).

La diarrea es una de las principales causas de mortalidad en crías de alpaca a nivel de la Región de Huancavelica, bordeando un 20% (DIRCAMS, 2014), según los registros de mortalidad en el período de parición, correspondiendo uno de los factores limitantes para el buen desarrollo económico de la actividad alpaquera. Esta enfermedad afecta a los animales en los primeros meses de vida y que se caracteriza por la aparición de diarrea, progresiva deshidratación y acidosis, postración y pérdida de peso hasta caquexia y la muerte de los animales.

Las enfermedades diarreicas en crías de alpaca son procesos multifactoriales de alta morbilidad y mortalidad en cuya presentación y evolución intervienen la infección por agentes enteropatógenos de origen infeccioso, parasitario y otros factores dependientes del hospedador y del ambiente. La *E. macusaniensis* y *C. perfringens* pueden independientemente causar infecciones agudas fatales en las crías, sin embargo la coexistencia de ambos patógenos en los mismos ambientes intestinales puede incrementar las capacidad patológica de cualquiera de los agentes o uno de ellos predisponer a la infección del otro.

1.2. Formulación del problema

¿Existe asociación de *Eimeria macusaniensis* y *Clostridium perfringens* en procesos diarreicos en crías de alpaca en la comunidad de Santa Bárbara – Huancavelica?

1.3. Objetivos

General

Determinar la asociación de *Eimeria macusaniensis* y *Clostridium perfringens* en procesos diarreicos en crías de alpaca en la comunidad de Santa Bárbara – Huancavelica.

Específicos:

- ❖ Determinar la prevalencia de *Eimeria macusaniensis* en procesos diarreicos en crías de alpaca.
- ❖ Determinar la prevalencia de *Clostridium perfringens* en procesos diarreicos en crías de alpaca.
- ❖ Determinar el grado de asociación de la carga parasitaria de *Eimeria macusaniensis* con respecto a la presencia de *Clostridium perfringens* en crías de alpaca.
- ❖ Determinar el grado de asociación de la carga parasitaria de *Eimeria spp.* con respecto a la presencia de *Clostridium perfringens* en crías de alpaca.

1.4. Justificación

Debido a que la diarrea es una enfermedad de procesos multifactoriales que causa una alta morbilidad y mortalidad en crías de alpaca produciendo bajas significativas y llegando a descapitalizar la producción, es necesario conocer la presencia de agentes enteropatógenos de origen parasitario e infeccioso como la *E. macusaniensis* que afecta la mucosa y el epitelio de las glándulas cripticas (Guerrero *et al.*, 1967) y *C. perfringens* que causa infecciones agudas a nivel del intestino, para plantear medidas y tratamientos preventivos y de esta manera establecer antecedentes sobre asociaciones de parásito – bacteriológico patógenos en procesos diarreicos en crías de alpaca.

Existen pocos estudios que han aportado al conocimiento de las asociaciones entre patógenos (parásito – bacteriológico) que afectan a las crías de alpaca. La cual abre una brecha de estudio sobre las interacciones de estos microorganismos que desencadenan cuadros fatales en los primeros tres meses de vida. La presencia de eimeriosis en casos de animales muerto por enterotoxemia y/o diarreas fatales ha sido previamente reportada (Rosadio y Ameghino, 1994, Palacios *et al.*, 2006). Por lo que, la identificación de similares estructuras parasitarias asociadas a cambios patológicos intestinales en el 30% de los casos analizados, son más que sugerentes para proponer a las infecciones por *Eimerias spp*, como uno de los posibles factores desencadenantes y/o pre disponentes para el establecimiento de la enterotoxemia de la alpaca.

La mortalidad a causa de la diarrea en crías de alpaca no es una problemática exclusiva de la comunidad de Santa Bárbara sino también de todas comunidades alpaqueras de la región de Huancavelica, y el tratamiento que se utiliza cuando la enfermedad se instala en el hato muchas veces no es eficiente o la adecuada para controlar la morbilidad por esta enfermedad, llegado a este punto es importante que este trabajo de aporte en cierta manera a seguir una línea de investigación en el tema y de este modo promover el control de esta enfermedad.

En los últimos años ha estado creciendo la producción de camélidos sudamericanos especialmente la alpaca, debido a la demanda industrial internacional, de la fibra obtenida, es por eso que son necesarios estudios relacionados a su estado sanitario para mantener una sanidad intestinal adecuada, con una flora intestinal bien balanceada, es clave para lograr los mejores resultados productivos y la mejor conversión del alimento en el producto final, para que de este modo se pueda observar un comprobable crecimiento económico de cada uno de los productores a nivel de la Región de Huancavelica.

Es así que este trabajo de investigación busca determinar la asociación entre *Eimeria macusaniensis* y *Clostridium perfringens* en procesos diarreicos, con el único fin de establecer criterios confiables de diagnóstico basado en la investigación y posterior ha eso establecer una medida de prevención y control sanitaria en el manejo de crías de alpaca.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Baba *et al.*, (1997), quienes realizaron el trabajo con el objetivo de determinar si la infección con *Eimeria necatrix* aumenta la población clostridial a nivel del intestino en pollos, dando como resultado que cuando los pollos se inocularon con $1,0 \times 10^8$ *C. perfringens* y / o 2×10^4 *E. necatrix* (Oocistos esporulados), de forma independiente y los dos agentes al mismo tiempo y que luego examinaron en 3,5 y 7 días después de la inoculación los recuentos Clostridiales medias fueron significativamente más altos que los controles no infectados. Llegando a la conclusión de que la infección concurrente con *E. necatrix* y *C. perfringens* aumenta la población clostridial en el intestino de los pollos y tiene efectos sinérgicos sobre la mortalidad y edema en el intestino superior.

Jarvinen (1999), determinó la prevalencia de *Eimeria macusaniensis* en llamas (*Lama glama*), alpacas (*Lama pacos*) y guanacos (*Lama guanicoe*) en el medio Oeste, en donde encontró como resultado 12 % de 301 llamas, 7% de 115 alpacas y 7.4 % de 27 guanacos mostrando que la prevalencia fue significativamente mayor ($P = 0,009$) en los animales menores de 1 año, en comparación con los animales más viejos de llamas (22,1 vs 8,5%) y para todos *Lama spp.* combinado (17,1 vs. 8,4%). Llegando a la conclusión que la prevalencia en alpacas del medio oeste menores de un año de edad son inferiores a los reportado para alpacas de edad similar en América del Sur, pero la intensidad de Ooquistes similares, siendo indicadores que la infección con *Eimeria macusaniensis* es más común en *Lama spp.* en América del Norte que previamente reconocido.

Maldonado *et al.*, (2004), comparó 4 técnicas para la detección o el cultivo de *Clostridium spiroforme* a partir de heces de conejo con o sin lesiones de enteritis. En el laboratorio tras centrifugación de las heces (4 °C, 20.000x 15 minutos) se realizó una segunda impronta y un segundo cultivo en anaerobiosis estricta, a partir de la interface entre el sobrenadante y el pellet Encontrando como resultado que los 54 casos clínicos analizados para la presencia de *C. spiroforme*, 30 (55,5%) fueron negativos y 13 (24,1%) fueron positivos a las 4 técnicas simultáneamente. Llegando a la conclusión que al realizar una centrifugación previa del contenido cecal se incrementó la proporción de improntas positivas en un 14,8%. Sin embargo, en ninguno de estos casos se consiguió el aislamiento de *C. spiroforme*.

Espezua *et al.*, (2015), cuantificó *Clostridium perfringens* del intestino delgado de las crías de alpaca aparentemente sanas y muertas por síndrome enterotoxémico desde la primera a novena semana de vida. Encontrando como resultado que la colonización desde la primera a novena semana de vida, existe diferencia estadística ($p \leq 0,001$), la colonización de *C. perfringens* ocurrió a muy temprana edad desde los tres días a partir del duodeno (1,9 UFC/ml), yeyuno (5,8 UFC/ml) e íleon (8,4 UFC/ml). Los log UFC/ml en los tres segmentos intestinales aumentan claramente desde los 21 – 35 días, alcanzando 4,2 UFC/ml en duodeno en la cuarta semana, 6,2 UFC/ml y 6,8 UFC/ml en yeyuno e íleon respectivamente, durante la tercera semana. La mortalidad de crías por síndrome enterotoxémico ocurrió a los 19 a 38 días con 13,5 a 15,1 log UFC/ml en los tres segmentos intestinales concluyendo que la infección por *C. perfringens* en crías de alpaca ocurre a muy temprana edad a nivel del duodeno, yeyuno e íleon.

Díaz *et al.*, (2015), realizó análisis macroscópicos e histopatológicos en 51 muestras intestinales de crías de alpaca muertas con alguna enteropatía, según diagnóstico de campo. A la inspección macroscópica 37 (72,5%) eran compatibles con enteritis catarral, 10 (19,6%) con enteritis hemorrágica y 4 (7,9%) con enteritis necrótica. Encontrando como resultado que 27, 5% (14/51) de las muestras las lesiones estuvieron asociadas con presencia de estructuras inmaduras de parásitos intracelulares compatibles con *Eimeria spp.* las cuales provenían de crías de 1 a 16 semanas de edad, presentándose principalmente en la tercera semana de edad (5 de 14). Los parásitos se alojaban en los 14 casos en íleon (100%) y 5 en yeyuno e íleon (35,7%). Llegando a la conclusión de que muchos de los casos diagnosticados como complejos enteropáticos pueden ser consecuencia de infecciones coccidiales únicas o tal vez combinadas con patógenos secundarios.

Rodríguez *et al.*, (2012), determinó la prevalencia y los factores de riesgo que influyen en la presentación de eimerias en crías de alpacas en una granja experimental de Puno. Encontrando como resultado que 418/478 (87,5%) en las muestras se detectaron ooquistes de *Eimeria spp* (24,017 OPGH, IC 7,534; rango: 50-1'202,400), preferentemente *E. lamae* (60,4%), *E. macusaniensis* (50.4%), *E. alpaca* (45,6%), *E. punoensis* (30%) y *E. ivitaensis* (6,24%). Incrementándose con la edad, inicialmente se encontró en el 50% de 24 muestras de 1-30 días de edad (17,216 OPGH), y luego de 93% de 82 crías de 31-45 días (28,501 OPGH), 85% de 144 crías de 46-60 días (34,731 OPGH), 94% de 183 crías de 61-75 días (16,564 OPGH) y 80% de 45 crías de 76-90 días (17,376 OPGH). Las infecciones por *E. lamae* se detectaron muy tempranamente (41% en muestras de 1-30 días) alcanzando tasas de 66,7% (46-60 días), mientras que *E. macusaniensis* se inicia en el 4,2% de crías de 1-30 días y alcanza la máxima infección (65,6%) en el grupo de 61-75 días.

El análisis de regresión logística multivariada mostró que los rangos de edad de 1-30 días (OR=0,19, IC 95%: 0,08-0,48), 61 a 75 días (OR=2,49, IC95%: 1,22-5,04) y la separación de las crías (OR=0,2, IC 95%: 0,08-0,48) estuvieron asociados a la infección de *Eimeria* spp. Llegando a la conclusión que el 87,5% de la población de crías de alpaca estuvo infectada por especies de *Eimeria*, especialmente por *E. lamae* (60,4%) y *E. macusaniensis* (50,4%) y el mayor porcentaje de crías infectadas se presentó en animales de 31-75 días de edad, y las mayores cargas parasitarias se observaron en el grupo etario de 46-60 días.

Londoño *et al.*, (2010), describe el análisis histológico de 29 muestras intestinales de alpacas neonatas muertas por enterotoxemia en diversos establecimientos alpaqueros del sur peruano. De todas estas muestras se aislaron (se realizó caracterización morfológica y pruebas bioquímicas) y genotipificaron *Clostridium perfringens*, tipo A y todas mostraron diversas enteropatías. En el resultado se obtuvo 37,93% (11/29) de estos casos, sin embargo, las lesiones histopatológicas en yeyuno (n=4) e ileon (n=7) fueron más severas (enteritis necrotizante severa y difusa) con presencia de numerosas estructuras sexuales de *E. macusaniensis* en las glándulas crípticas degeneradas severamente, concluyendo que estas observaciones evidencian una posible interacción patológica entre eimeriosis e infección clostridial en algunos casos de enterotoxemia de las alpacas.

Palacios *et al.*, (2005), describió las alteraciones macro y microscópicas en tracto intestinal causantes de mortalidad en crías de alpacas diagnosticadas en el campo con procesos entéricos con el fin de ayudar la comprensión de la patogenia de la enteritis neonatal. Encontró un resultado de 37 casos compatibles con procesos bacterianos, donde 30 correspondieron a cuadros de enterotoxemia. En 4 casos se observó asociación entre *E. macusaniensis* y enterotoxemia. Llegando a la conclusión que las alteraciones entéricas en crías de alpacas varían en severidad (leve, moderado y severo) y tipo de inflamación (catarral, necrótico, hemorrágico, necrotico fibrinoso, etc), las lesiones encontradas son generales e inespecíficas al querer asociarse a noxas, ya sean estas virales o bacterianas;

Sin embargo, permite evaluar el daño entérico y contribuye a un mejor conocimiento de la patogénesis del complejo entérico neonatal en crías de alpacas.

Rosadio *et al.*, (2010), identificó los posibles agentes biológicos desencadenantes de la patología intestinal en crías de alpaca. En su resultado revela que en 33/108 (30,55%) de estos casos, tenían patologías constantes en las superficies luminales del yeyuno e íleon. El epitelio de las secciones afectadas se encontraba severamente necrosada asociadas con acortamientos y/o fusión de las vellosidades intestinales, así como una difusa congestión y/o hemorragias focalizadas de la mucosa en la mayoría de los casos. En las muestras patológicas se observaron presencia de abundantes estructuras parasitarias inmaduras correspondiente a *Eimeria macusaniensis* afectando la mucosa y el epitelio de las glándulas crípticas en yeyunos e íleon, llegando a la conclusión que estructuras parasitarias asociadas a cambios patológicos intestinales, son más que sugerentes para proponer a las infecciones por *Eimerias spp*, como uno de los posibles factores desencadenantes y/o pre disponentes para el establecimiento de la enterotoxemia de la alpaca.

Valencia *et al.*, (2010), determinó la prevalencia de *Eimeria macusaniensis* y *Eimeria ivitaensis* en crías de alpaca, encontrando como resultado prevalencia para *Eimeria macusaniensis* y *Eimeria ivitaensis* de $50,95 \pm 6,76$ % (107/201) y $12,38 \pm 4,45$ % (26/210) respectivamente. La prevalencia por edad; en crías perinatales no se encontró estos parásitos; en crías neonatales se reportó $77,14 \pm 9,83$ % (54/70) y $12,86 \pm 7,84$ % (9/70); para crías logradas se halló $75,71 \pm 10,05$ % (53/70) y $24,29 \pm 10,05$ % (17/70) para *Eimeria macusaniensis* y *Eimeria ivitaensis* respectivamente. La prevalencia por procedencia para *Eimeria macusaniensis* de la APAL-Lachocc fue $45,71 \pm 7,97$ % (48/150) y para CIDCS-Lachocc fue $56,19 \pm 9,49$ % (59/105); para *Eimeria ivitaensis* la APAL-Lachocc tuvo $4,76$ % (5/105) y en el CIDCS-Lachocc $20,00$ % (21/105). Concluyendo que la prevalencia de *Eimeria macusaniensis* es alta y la prevalencia de *Eimeria ivitaensis* es relativamente baja en la zona Lachocc; en relación a la edad la *E. macusaniensis* disminuyó ligeramente y la *E. ivitaensis* se incrementó con la edad; la APAL-Lachocc tuvo una prevalencia ligeramente menor al CIDCS-Lachocc.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. La alpaca

La alpaca (*Vicugna pacos*) es un camélido sudamericano muy apreciado por la calidad de su fibra y habita la zona alto andina de nuestro país así como en la Bolivia, Argentina y Chile (Bonavia *et al.*, 1996), es un animal de movimientos ágiles, de cuerpo robusto y balanceado.

2.2.2. Mortalidad en crías de alpaca

Fernández (1991), menciona que la mortalidad en crías de alpaca se puede clasificar en mortalidad perinatal (0-7días), mortalidad neonatal (7-30 días), y mortalidad en crías propiamente dicha (31-90 días). La mortalidad en crías de alpacas está comprendida entre 9,3 % y 57% (Ramírez *et al.*, 1980), sin embargo en algunas explotaciones este valor puede ser menor de 6 – 7 % (Fernández, 1991), dependiendo principalmente de las enfermedades prevalentes en la zona y del nivel técnico de crianza.

2.2.3. Diarrea en crías de alpaca

Las enfermedades que originan mayor mortalidad de las crías de alpacas son las diarreas, las neumonías y las septicemias (Ameghino y DeMartini, 1991). El término diarrea se refiere a un proceso específico que afecta a los animales en los primeros meses de vida y que se caracteriza por la aparición de diarrea, progresiva deshidratación y acidosis, postración y pérdida de peso hasta caquexia y la muerte de los animales. Las diarreas en crías son procesos de alta morbilidad y mortalidad muy variable.

2.2.4. Eimeriosis

2.2.4.1. Eimeriosis en Alpacas

En los CSAs se han identificado seis especies: *E. lamane*, *E. alpaca*, *E. macusaniensis*, *E. punoensis*, *E. peruviana* y *E. ivitaensis* (Guerrero, 1967; Guerrero *et al.*, 1971; Schrey *et al.*, 1991; Fowler, 1998). Las cinco primeras se han detectado también en CSAs en EEUU (Fowler, 1998).

La Eimeriosis afecta a animales jóvenes a partir de la tercera o cuarta semana de vida. Los períodos de prepatencia varían de 10 días de *E. punoensis* a 33- 34 días de *E. macusianensis* (Foreyt, 2001). La Eimeriosis se asocia típicamente con el hacinamiento y las malas condiciones higiénicas (Whitehead y Anderson, 2006).

Etiología

La Eimeria es un protozoo, el nombre del género fue asignado por el zoólogo alemán Theodor Eimer, en el año de 1874, sin embargo fue Antoni van Leeuwenhoek quien describe por primera vez los ooquistes de *Eimeria stiedae*, ubicados en los conductos biliares de conejo.

El término coccidiosis es conocido para todos los miembros de la sub clase Coccidia, es decir *Eimeria*, *Isospora*, *Cryptosporidium*, *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Neospora*, *Hammondia*, *Besnoitia* y *Frenkelia*, es por eso que siguiendo los nombres de las nomenclaturas y para evitar confusiones en nombres, a esta parasitosis se le debe llamar eimeriosis.

Cuadro 1. Eimerias notificadas en camélidos sudamericanos

Especie	Alpacas	Llamas	Guanacos	Vicuñas
<i>E. Alpacae</i>	+	+	+	+
<i>E. Lamae</i>	+	+	+	+
<i>E. macusaniensis</i>	+	+	+	+
<i>E. Peruviana</i>	-	+	-	-
<i>E. Punoensis</i>	+	+	+	+
<i>E. Ivitaensis</i>	+	-	-	-

Fuente: Leguía, 1999; Castillo, 2006.

Ciclo biológico

El ciclo de vida de las *Eimerias* es similar en todas las especies, con excepción de la duración de la misma y algunas particularidades. Se describen tres fases: esporogonia, esquizogonia y gametogonia (Fowler, 1998). Es de ciclo directo y altamente específico para cada especie animal así por ejemplo las *Eimerias* de los camélidos no pueden infectar a los ovinos u otra especie animal (Hidalgo y Cordero, 1999). El ooquiste, que es expulsado de los tejidos del hospedador, y sale al exterior con las heces. Es la fase de resistencia del ciclo biológico y en condiciones apropiadas forma el ooquiste maduro (Soulsby, 1987).

Se ha estudiado parcialmente el ciclo de *E. lamae* y *E. macusaniensis*. Los camélidos sudamericanos (CSA) se infectan al ingerir pasto o agua contaminados con ooquistes esporulados conteniendo ocho (8) esporozoitos, los cuales, luego de liberados en el estómago, penetran las células epiteliales o las glándulas cripticas del intestino (Leguía y Casas 1999), ya sea en cualquiera de las 2 localizaciones el esporozoíto comienza a redondearse lo que da inicio a la reproducción asexual o esquizogonia. En muchas especies, el desarrollo tiene lugar por encima del núcleo de la célula epitelial; en unas pocas por debajo de él y en algunas especies de bovinos (*E. alabanensis*) y ovinos (*E. ashata* y *E. intricata*) la localización es intranuclear (Soulsby, 1987).

Cuadro 2. Periodo prepatente y patente reportados en *Eimeria spp.* de camélidos sudamericanos.

Especie	Periodo prepatente	Periodo patente	Referencia
<i>E. punoensis</i>	9 días	7 días	Yrei, 1974
	10 días	24 días	Foreyt y Longerquist, 1992
<i>E. alpaca</i>	11 días	9 días	Guillermo, 1975
	16-18 días	9 días	Foreyt y Longerquist, 1992
<i>E. lamae</i>	15 -16 días	10 días	Guerrero <i>et al.</i> , 1970
<i>E. macusaniensis</i>	33 días	48 días	Guerrero <i>et al.</i> , 1972
	32 – 36 días	48 días	Rohbeck <i>et al.</i> , 2003
	37 – 40 días	20 – 23 días	

Fuente: palacios, 2004.

Patogenia

Las eimerias pueden atacar las células epiteliales de la vellosidad o de las criptas y en algunos casos una sola especie de eimeria, dependiendo de la fase de su desarrollo, puede afectar ambas poblaciones celulares (Hidalgo y Cordero, 1999). En alpacas, la *E.lamae*, *E. alpaca*, *E. punoensis*, parasitan las células epiteliales de la vellosidad intestinal, siendo la más patógena *E. lamae* (Guerrero *et al.*, 1970b) donde el número de generaciones de merontes y gamontes provocan lesiones necróticas en el ápice de las vellosidades (Guerrero *et al.*, 1970a), *E. macusaniensis* parasita las criptas de Lieberkuhn causando lisis y necrosis de la misma (Guerrero *et al.*, 1967; Rosadio y Ameghino, 1990).

E. ivitaensis, también se ubica en las criptas y sus formas endógenas causan necrosis y regeneración celular (Palacios, 2004) y es muy probable que a medida que las células se van desprendiendo del extremo apical de las vellosidades, estas no serán sustituidas por nuevas células procedentes de la cripta debido a la afección parasitaria a la que están siendo sujetas (Palacios, 2004).

Signos clínicos

Al infectar experimentalmente a una cría de alpaca con cien (100) y otra con cien mil (1000,000) ooquistes esporulados de *E. lamae*, en el primer caso no se observó presencia de signos clínicos y en el segundo el animal murió el mismo día que el parásito se hizo patente después de haber presentado signos como diarrea, deshidratación, anorexia y anemia (Guerrero *et al.*, 1970b). Sin embargo en la infección natural por *Eimeria* existe desde muy temprana edad, a los 15 días de nacidos (Melo y Hurtado, 1985). Los signos observados son diarrea, que algunas veces puede faltar sobre todo al inicio de la infección, fibra quebradiza, caquexia, deshidratación, cólico (Guerrero y Leguía, 1987).

Se ha observado, bajo condiciones de campo y en forma experimental, que la *E. lamae* y *E. macusaniensis* constituyen una asociación altamente patógena, ya que la primera destruye el epitelio intestinal y la segunda causa atrofia y necrosis de las glándulas cripticas. De acuerdo a la intensidad de la infección puede producirse retardo en la capacidad regenerativa y/o curativa del epitelio, o la pérdida completa de su capacidad funcional, predisponiendo al animal a morir por deshidratación, acidosis o invasión bacteriana secundaria.

El raspado de áreas lesionadas, examinado al microscopio, permite detectar abundantes estadios endógenos del parásito. La coccidiosis se presenta, generalmente, en forma subclínica, con o sin diarreas ligeras. En casos clínicos, el signo más característico es una diarrea ligeramente sanguinolenta y fétida, deshidratación, disminución del apetito, abundante sed, cólicos, pérdida de peso, debilidad, postración y muerte. (Leguía, 1999)

2.2.4.2. *Eimeria macusaniensis*

Taxonomía

La clasificación taxonómica de las eimerias es la siguiente:

- Reyno : Protista
- Sub Reyno : Protozoo
- Phylum : Apicomplexa.
- Clase : Sporozoea.
- Subclase : Coccidia.
- Orden : Eucoccidiidae.
- Suborden : Eimeriina.
- Familia : Eimeriidae.
- Género : *Eimeria*.
- Especie : *Eimeria macusaniensis*
Eimeria ivitaensis
Eimeria alpaca
Eimeria punoensis
Eimeria lamae
Eimeria peruviana

Ooquiste

Las formas más comunes de los ooquistes son las esféricas, subesféricas y ovoides o elipsoidales y varían de tamaño según la forma y la especie. La pared de los ooquistes está formada por dos capas y generalmente es clara y transparente, con un contorno doble bien definido. Ciertas especies presentan un micrópilo en un extremo, que frecuentemente es puntiagudo. Este micrópilo puede estar recubierto por un casquete y en ocasiones puede proyectarse de la pared quística hacia el exterior una estructura cupiliforme que es el casquete polar (Soulsby, 1987).

En el ooquiste esporulado presenta 4 esporocistos o esporoquistes conteniendo cada uno 2 esporozoitos. Los esporozoitos tienen un citoplasma granular y un núcleo central (Soulsby, 1987).

Cuadro 3. Características biométricas y morfológicas de ooquistes de camélidos sudamericanos.

Especie	Dimensiones (um)	forma	Características
<i>E. punoensis</i>	19,9x16,4 (17-22x14-18)	Elipsoidal a ovoide	Pared con dos membranas. Micrópilo con capsula micropilar aplanada. Presencia de gránulo(s) polar (es). Cuerpo de Stieda apenas perceptible. Residuo de esporoquiste con pocos gránulos en forma compacta en el centro.
<i>E. alpaca</i>	24,1x19,6 (22-26x18-21)	Elipsoidal	Pared con dos membranas. Micrópilo con capsula micropilar aplanada. Presencia de gránulo(s) polar (es). Cuerpo de Stieda apenas perceptible. Residuo de esporoquiste con pocos gránulos en forma compacta en el centro.
<i>E. peruviانا</i>	31,8x19,3 (27,9-37,5x18-22,5)	Ovoide	Pared con dos membranas, sin micrópilo. Residuo de ooquiste en forma de una masa redondeada y compacta. Cuerpo de Stieda bien perceptible. Presencia de algunos gránulos en los esporozoitos.
<i>E. lamae</i>	35,6x24,5 (30-40x21-30)	Elipsoidal a ovoide	Pared con dos membranas. Micrópilo con capsula micropilar prominente. Presencia de gránulo(s) polar (es). Cuerpo de Stieda bien perceptible. Residuo del esporoquiste con pocos gránulos en forma compacta en el centro.
<i>E. ivitaensis</i>	88,8x51,86 (88-98x49-59)	Elipsoidal truncado en forma de micrópilo	Pared con tres membranas. Membrana media gruesa, naturaleza granular y de color marrón oscuro. Ausencia de granulo polar. Esporoquistes con cuerpo de Stieda apenas perceptible y concentrado en la parte anterior. Residuo de esporoquiste irregularmente distribuido.
<i>E. macusaniensis</i>	93,6x67,4 (81-107x61-80)	Ovoide piriforme	Pared con tres membranas. Membrana gruesa y granular de color marrón oscuro. Esporoquistes con cuerpo de Stieda apenas perceptible y distribuidos homogéneamente. Residuo del esporoquiste en forma de una masa regular en el centro.

Fuente: Leguía, 1999.

Prevalencia

Guerrero *et al.*, (1970c) evaluó 160 muestras fecales de alpacas provenientes de Puno y Cuzco, hallando un 58% de animales positivos a coccidias, encontrándose las siguientes especies: *E. macusaniensis* 25%, *E. punoensis* 20%, *E. alpaca* 16,9% y *E. lamae* 15,6%. La mayor prevalencia de coccidias correspondió a crías menores de 2 meses de edad (90%) y con carga de 1 016 ooquistes por gramos de heces; considerándose las especies mas importantes *E. lamae* y *E. macusaniensis*.

Melo y Hurtado (1985), al evaluar 78 crías de alpacas para determinar la infección parasitaria desde el nacimiento hasta el destete, hallaron que la infección parasitaria ocurre a partir de los 16 días de edad aproximadamente y la mayor infestación se observó entre los 40 y 91 días de edad. Las primeras coccidias halladas fueron *E. lamae* y *E. alpaca* seguido luego por *E. punoensis* y *E. macusaniensis*. La coccidia que ocasionó mayor carga parasitaria fueron *E. lamae* seguido de *E. alpaca*, *E. punoensis* y *E. macusaniensis* los mismos que disminuyeron conforme avanzaba la edad.

De la evaluación de 391 crías de alpacas procedentes de 15 comunidades de Puno, se obtuvo una prevalencia de 19,43% para *E. punoensis*, 14,26 % para *E. alpaca* y 12,65% de *E. macusaniensis* (Martínez, 1992).

De un estudio realizado a 84 crías de alpacas, en el departamento de Junín, se halló que el 90% de animales resultaron positivos a una o mas especies de Eimerias. La prevalencia por especies fue: 82% para *E. punoensis*, 73% *E. alpaca*, 65% *E. lamae* y 11% *E. macusaniensis*. Se encontraron infecciones mixtas hasta 4 especies de Eimerias, siendo la mas frecuente formada por 3 especies *E. punoensis* – *E. alpaca* - *E. lamae* (42%) y finalmente la *E. lamae* fue la especie que obtuvo la mayor carga parasitaria con 6 629 ooquistes, seguida de *E. alpaca* 1 141, *E. punoensis* 1 045 y *E. macusaniensis* 7 (Romero, 1992).

Cuadro 4. Cronología de la Eimeriosis en camélidos sudamericanos

Casuística	Referencia
Brote de coccidiosis en alpacas de 25-35 días en una explotación en Perú.	Rosadio y Ameghino, 1994
<i>Eimeria spp.</i> en el 13 % de las crías de llamas y alpacas con diarrea de 21-60 días de edad en Oregón.	Cebra <i>et al.</i> , 2003
<i>Eimeria spp.</i> en el 12 % de las crías de llamas y alpacas con diarrea de 21-104 días de edad en Ohio.	Whitehead y Anderson, 2006
Ooquistes de <i>Eimeria spp.</i> en CSA sanos en Estados Unidos.	Schrey <i>et al.</i> , 1991; Jarvin <i>et al.</i> , 1999
<i>E. macusaniensis</i> en el 88,3 % y <i>E. ivitaensis</i> en el 5,2% de explotaciones de llamas en el norte de Argentina. En las especies silvestres vicuña y guanaco la prevalencia de <i>E. macusaniensis</i> fue menor (14,3% y 25,0%, respectivamente) y no se detectó <i>E. ivitaensis</i> .	Cafrune <i>et al.</i> , 2009
Coccidiosis atípica en una alpaca y una llama adultas con pérdida crónica de peso y con diagnóstico negativo por flotación fecal de ooquistes de <i>Eimeria</i> .	Chirgewe <i>et al.</i> , 2007

Fuente: Martin *et al.*, 2010

Lesiones

Las lesiones microscópicas descritas para *E. macusaniensis* consisten en el acortamiento y fusión multifocal de vellosidades, presencia masiva de diferentes estadios protozoales, observándose destrucción del epitelio de revestimiento de la cripta, con lesiones necróticas moderadas a severas (Rosadio y Ameghino, 1990). Se caracterizan por edema, infiltración eosinofílica y mononuclear y necrosis epitelial tanto en vellosidades como de criptas (dependiendo de la especie). En el caso de *E. macusaniensis* las lesiones mas severas se localizan en yeyuno medio y yeyuno final e ileon, parasita el ciego y parte del colon ascendente, además para *E. ivitaensis* en el yeyuno final e ileon. (Palacios, 2004).

2.2.5. Enterotoxemia

2.2.5.1. Enterotoxemia en Alpacas

Etiología

La enterotoxemia de las alpacas también conocida como diarrea bacilar o enfermedad de Moro es causada por las toxinas del *C. perfringens* (Moro, 1987), siendo involucrado mayormente el tipo A (Moro, 1987; Ramírez *et al.*, 1985; Ramírez y Ellis, 1988; Ramírez, 1991, Pérez, 2006) y, sólo en algunos casos, el tipo C (Moro, 1987) en la sierra sur del Perú.

Mientras, en Chile y en E.U.A. han sido reportados los tipos A y B, (Prehn *et al.*, 1999) y los tipos A (Fowler, 1998), C (Fowler, 1998; Whitehead, 2005) y, posiblemente, el D (Fowler, 1998), respectivamente, en casos de enterotoxemia en alpacas.

Epidemiología

La enterotoxemia de las alpacas se presenta en forma de brotes epizooticos durante la época de parición, y está relacionada a factores climáticos (principalmente abundantes lluvias) y deficiencias en el manejo e higiene del hato (Moro, 1987; Ramírez *et al.*, 1985; Ramírez, 1991; Ameghino y De Martini, 1991).

La enterotoxemia afecta principalmente a las crías de alpacas entre los 3 a 80 días de edad, siendo más vulnerables entre las 2 a 3 semanas de edad (Moro, 1987; Ramírez *et al.*, 1985; Ameghino y De Martini, 1991; Fowler, 1998). Así mismo, se ha observado que las crías en buena condición corporal son más susceptibles a desarrollar la enfermedad (Ramírez *et al.*, 1985; Moro, 1987; Ameghino y DeMartini, 1991). Esto presumiblemente debido a su ingesta prematura de forraje contaminado del entorno.

Los meses de Enero a Marzo, periodo de intensa precipitación fluvial, sumada al hacinamiento de los animales favorecerían a la presentación de epizootias de enterotoxemia, debido a que la alta humedad del suelo propician la presencia, multiplicación y modificación biológica de esporas a células vegetativas de *C. perfringens*. Asimismo, la extrema variación entre temperaturas máxima (14° C) y mínima (3° C) durante el día que soportan las crías de alpacas en el altiplano generan un gran estrés en ellos (Ramírez *et al.*, 1985).

Patogenia

La principal vía de ingreso del *C. perfringens* es la oral. Es probable que las crías ingieran una masiva cantidad de esporas y/o células vegetativas de clostridios (Ramírez *et al.*, 1985). Posteriormente, en el lumen intestinal un ligero pH alcalino y el incremento de carbohidratos en la dieta (cambio de dieta, inicio de consumo de forraje) (Ramírez y Ellis, 1988) o una excesiva ingestión de leche (Ameghino y De Martini, 1991) generarían un ambiente óptimo para la multiplicación y/o esporulación del *C. perfringens* y la síntesis de la(s) toxina(s) responsable(s) del cuadro fatal (Ramírez y Ellis, 1988; Ameghino y De Martini, 1991; Pérez, 2006). Hasta el momento, no se conoce cuál(es) es (son) el(los) factor(es) de virulencia de *C. perfringens* responsable(s) de la enfermedad.

Signos clínicos

La muerte súbita puede ser muchas veces el único signo encontrado. Los signos clínicos y su intensidad dependerán de la cantidad de toxinas presentes en el organismo. Las crías afectadas muestran depresión, anorexia, permanecen postradas y alejadas de su madre con las orejas dirigidas hacia atrás, los ojos cerrados y los miembros estirados. El cuadro progresa y las crías aparecen con los miembros anteriores estirados, la cabeza apoyada sobre el suelo, el abdomen distendido y la emisión de quejidos, posiblemente debido al dolor abdominal.

Algunas ingieren abundante cantidad de agua (polidipsia) y otras desarrollan apetito depravado (polifagia) que se manifiesta por la ingestión de arena, piedrecillas, etc. del suelo. La temperatura tiende a ser normal, pero a veces sobrepasa los 40° C, y suelen echarse ventralmente en los arroyos y charcos de agua. La temperatura disminuye notablemente (hipotermia) en el estado agónico. El cuadro toxémico en su etapa final, se acompaña de alteraciones nerviosas tales como convulsiones y opistótonos. Finalmente, el animal entra en coma y muere (Ramírez *et al.*, 1985; Moro, 1987; Ameghino y De Martini, 1991; Ramírez, 1991; Fowler, 1998).

2.2.5.2. *Clostridium perfringens*

Taxonomía

La clasificación taxonómica del *Clostridium perfringens* según el Manual de Bacteriología Sistemática de Bergey (Garrity *et al.*, 2001) es:

Dominio : *Bacteria*
Phylum : *Firmicutes*
Clase : *Clostridia*
Orden : *Clostridiales*
Familia : *Clostridiaceae*
Género : *Clostridium*
Especie : *Clostridium perfringens*

Habitad

El *C. perfringens* tipo A se encuentran ampliamente distribuidos como parte de la flora normal del suelo y del tracto intestinal de los animales de sangre caliente; mientras que los otros tipos (B, C, D y E) son menos comunes en el tracto intestinal y pueden ocasionalmente ser encontrados en el ambiente, en áreas donde las enfermedades producidas por estos microorganismos son enzoóticas (Joclik y Willett, 1991; Songer, 1996).

Morfología

Microscópicamente *C. perfringens* se presenta como un bacilo Gram positivo grueso, recto, solitario o en pares, y rara vez en cadenas (Gillespie y Timoney, 1981). Las dimensiones de este microorganismo son de 0,8 – 1.5 µm de ancho por 4–8 µm de largo (Gillespie y Timoney, 1981; Nicolet, 1986).

La longitud varía de acuerdo al estado de proliferación bacteriana, y a la composición iónica y nutricional del medio. Así, los cultivos jóvenes que proliferan con rapidez pueden tener forma casi cocoide o cúbica, mientras que los cultivos viejos evidencian células más elongadas (Joclik y Willett, 1991). Macroscópicamente desarrolla colonias de superficie larga, redonda, lisa, irregular y ligeramente opaca. Otros tipos de colonias observadas, son aquellas con centro opaco, levantado y de borde plano transparente, que son radialmente estriadas (Cruickshank, 1965).

Fisiología

C. perfringens es un microorganismo anaerobio tolerante y puede sobrevivir, e incluso proliferar, con tensiones de oxígeno que son inhibitorias para otros clostridios, los cuales son anaerobios estrictos (Joclik y Willett, 1991). Los clostridios no producen catalasa y sólo sintetizan niveles bajos de superóxido dismutasa. Se cree que una de las causas que sean anaerobios es porque no tienen otra manera de liberarse de H₂O₂ y O₂ que son tóxicos para ellos (Madigan *et al.*, 2001). *C. perfringens* puede proliferar en un rango de pH de 5,5 a 8,0, una actividad acuosa mínima de 0,95, y un rango de temperatura entre 20 a 50° C, con un óptimo de 45° C.

2.3. Hipótesis

Ho: No existe una asociación de *Eimeria macusaniensis* y *Clostridium perfringens* en procesos diarreicos en crías de alpaca en la comunidad de Santa Bárbara – Huancavelica.

Ha: Existe una asociación de *Eimeria macusaniensis* y *Clostridium perfringens* en procesos diarreicos en crías de alpaca en la comunidad de Santa Bárbara – Huancavelica.

2.4. Variables de Estudio

- ❖ Variable 1: Presencia de *Eimeria macusaniensis*.
- ❖ Variable 2: Presencia de *Clostridium perfringens*.

2.5. Definición Operativa de Variables

Cuadro 5. Operativa de las variables e indicadores

VARIABLE	DIMENSIÓN	INDICADOR	MEDICIÓN
Variable 1: Presencia de <i>Eimeria macusaniensis</i>	❖ Identificación de <i>Eimeria macusaniensis</i> .	Positivo (+) Negativo (-)	Nominal
	❖ Carga parasitaria de <i>Eimeria macusaniensis</i>	Alto Moderado Bajo Nulo	Ordinal
	❖ Carga parasitaria de <i>Eimeria spp. (OPGH)</i>	Alto Moderado Bajo Nulo	Ordinal
Variable 2: Presencia de <i>Clostridium perfringens</i>	❖ Identificación de <i>Clostridium perfringens</i>	Positivo (+) Negativo (-)	Nominal

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Ámbito de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en dos sectores (Pallcapampa y Carnicería), ubicada en la comunidad de Santa Bárbara del Distrito, Provincia y Departamento de Huancavelica, que se encuentra a una altura entre 3800 - 4500 m.s.n.m. El área de estudio presenta una temperatura promedio anual que varía entre - 4 y 21 °C., la máxima superior a 25 °C., y la mínima es -10 °C. El promedio de precipitación total por año es de 700 milímetros, la configuración topográfica es variada, desde suave y pendiente ladera convexa hasta montañoso.

El cuadro edáfico se encuentra conformado por suelos profundos y medianamente profundos, de textura media, con un horizonte superficial a bastante conspicuo, negro baja y amarillo en la parte alta. La zona tiene pasturas naturales predominadas por: crespillo (*Calamagrostis vicunarum*), ichu (*Stipa ichu*), pacu pacu (*Aciachne pulvinata*), cuncuna (*Distichia muscoides*) entre otros, que son la base fundamental para la alimentación de los camélidos.

3.2. Tipo de Investigación

El presente trabajo de investigación es de tipo Básico, porque se va a estudiar fenómenos o hechos en los que el investigador no interviene manipulado ningún evento, y solo describe lo observado y su frecuencia; además se realiza su análisis respectivo.

3.3. Nivel de Investigación

El nivel de investigación del presente estudio es Descriptiva, correlacional, por cuanto describe los fenómenos clínicos en una circunstancia temporal y geográfica determinada, sustentada en la comparación de sus resultados en la realidad.

3.4. Método de Investigación

El presente trabajo se sustenta en los siguientes métodos:

❖ **Método científico**

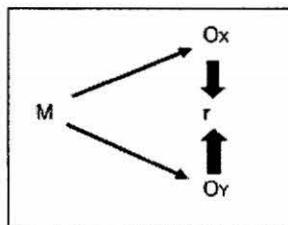
Es el método que nos permitió el proceso de investigación en forma general, secundado por sus leyes, principios y categorías. Además es el camino metodológico que tiene la ciencia para la construcción de nuevos conocimientos para utilizarlos a su vez en la construcción de otros.

❖ **Método descriptivo**

El método descriptivo consiste en identificar, describir, analizar e interpretar sistemáticamente un conjunto de hechos relacionados con otras variables. A través de este método se podrá identificar las posibles relaciones entre las variables y plantear las posibles soluciones y demostrar la hipótesis.

3.5. Diseño de Investigación

La investigación tendrá un diseño no experimental descriptivo correlacional.



Donde:

M= Tamaño de muestra

O_x= Presencia de *Eimeria macusaniensis*

O_y= Presencia de *Clostridium perfringens*

r = Relación entre la presencia de *Eimeria macusaniensis* y presencia de *Clostridium perfringens*.

3.6. Población, Muestra y Muestreo

❖ Población

Para esto, se consideró la población de los dos sectores (Pallcapampa y Carnicería) de la comunidad de Santa Bárbara, según el padrón alpaquero existe una natalidad de 850 crías siendo esta el material biológico a muestrear.

❖ Muestra

Para el cálculo del tamaño de muestra se ha utilizado la siguiente formula.

$$n = \frac{N * Z_{1-\alpha/2}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{1-\alpha/2}^2 * p * q}$$

Dónde:

n = Tamaño de muestra.

p = Representa la población que tiene la característica de interés (0,2).

$Z_{1-\alpha/2}$ = Coeficiente de confianza (1,96).

d = Nivel de precisión para generalizar los datos (0,05).

q = Población que no tiene la característica de interés (0,8).

N = Tamaño de población (850 crías).

$$n = \frac{(850) (1,96)^2 (0,2) (0,8)}{(0,05)^2 (850-1) + (1,96)^2 (0,2) (0,8)} = 190$$

❖ Muestreo

El tipo de muestreo que se realizó es el muestreo aleatorizado simple por la presencia de característica de interés, presencia de diarrea en las crías de alpaca.

3.7. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

3.7.1. Técnicas

A. Coproparasitoscópicas

Para determinar la presencia de *Eimeria macusaniensis* se utilizará el método de flotación en solución sacarosa con una densidad de 1,25 a 1,27 y el método de McMaster para determinar el número de huevos por gramo de heces (OPGH).

Método de Flotación

- ❖ Separar de la muestra 2 g. de heces en un recipiente (mortero).
- ❖ Agregar 15 ml de solución azucarada.
- ❖ Disolver muy bien las heces con una cucharilla hasta que quede una pasta uniforme.
- ❖ Pasar la mezcla por un colador en un recipiente limpio.
- ❖ Llenar un frasco de penicilina con el líquido filtrado hasta el borde dejando un menisco convexo.
- ❖ Eliminar con un palillo las burbujas o sustancias que flotan.
- ❖ Colocar un cubreobjetos y esperar 10-15 min como máximo.
- ❖ Retirar cuidadosamente el cubreobjetos y colocarlo sobre un portaobjetos y observar al microscopio con el objetivo de 10X.

Método de Mc Master

- ❖ Pesar 2 g. de heces.
- ❖ Agregar 28 ml de solución sacarosa.
- ❖ Agitar fuertemente hasta homogenizarla.
- ❖ Pasar la solución por un colador (exprimir el sedimento).
- ❖ Completar el tubo con la misma solución sacarosa.
- ❖ Agitar nuevamente y tomar con un gotero o pipeta parte de la solución.

- ❖ Humedecer con agua corriente la cámara de MacMaster para evitar la presencia de burbujas, y llenarla con la solución esperar 5 minutos.
- ❖ Observar al microscopio y hacer el conteo separando por géneros parasitarios, de las áreas demarcadas en la cámara.

$$OPGH = (C1 + C2) \times 50$$

B. Análisis Bacteriológico

Para determinar la presencia de *Clostridium perfringens* se realizó:

Coloración de Gram

- ❖ Fijar las muestras de *Clostridium perfringens*
- ❖ Cubrir las extensiones (frotis previamente fijadas) con solución de Violeta cristal y Teñir durante 2 minutos.
- ❖ Verter la solución de Violeta cristal y lavar con agua (destilada)
- ❖ Cubrir la extensión con solución de Lugol y dejarlo actuar durante 2 minutos.
- ❖ Verter el Lugol y lavar con agua (destilada).
- ❖ Decolorar con Alcohol Acetona y lavar con agua
- ❖ Teñir durante 1 minuto con solución Safranina
- ❖ Lavar con agua y secar.

Cultivo de Microorganismo

El medio de cultivo permite el crecimiento e incremento del número de células de la bacteria (*Clostridium perfringens*).

- ❖ Fundir el medio base TSA
- ❖ Llevar el medio TSA al autoclave a 121 °C por 15 minutos
- ❖ Añadir 5 ml (5 %) de sangre ovina al medio TSA a 37 °C
- ❖ Plaquear el medio Agar Sangre para la solidificación en las Placas Petri
- ❖ Se realiza el control de calidad del agar sangre a 37 °C por 24 h

- ❖ Las placas cultivadas con la bacteria se sitúa en la Jarra Gaspak con el Anerogen y el indicador de anaerobio a 42 °C por 24 – 48 h.
- ❖ Realizar la coloración Gram para la identificación a través de la tinción y morfología del *Clostridium perfringens*.
- ❖ Realizar la prueba bioquímica de confirmación del *Clostridium perfringens* de SH₂, Indol, movilidad y Lactosa.

3.7.2 Instrumentos de Recolección de Datos

A. Coproparasitoscópicas

Los parámetros a considerar en los métodos parasitarios para la identificación y cuantificación de la *Eimeria macusaniensis* son:

Cuadro 6. Parámetros de identificación de *Eimeria macusaniensis*

	Características			Medida		
	Especie	Dimensiones (µm)	Forma	Presencia		Carga Parasitaria
Método de Flotación	<i>E. macusaniensis</i>	93.6x67.4 (81-107x61-80)	Ovoide piriforme	(+)	(-)	Alto Moderado Bajo Nulo
Método Mc Master	Especie			Carga parasitaria		
	<i>Eimeria spp.</i>			Alto Moderado Bajo Nulo		

Fuente: Elaboración propia

B. Análisis Bacteriológico

Parámetros a considerar para la identificación de *Clostridium perfringens* son:

Cuadro 7. Parámetros identificación de *Clostridium perfringens*

	Coloración GRAM		Prueba de confirmación				
	Gram (+)	Gram (-)	Medio SIM			Medio TSI	
	Violeta oscuro	Anaranjado	H ₂ S	Indol	Motilidad	F. azucares	H ₂ S
<i>C. perfringens</i>	+	-	+	-	-	+	+

Fuente: Elaboración propia

3.8. Procedimiento de Recolección de Datos

A. A Nivel de Campo

Procedimiento para la Obtención de Muestras

A nivel de los centros de producción de la comunidad de Santa Bárbara se realizó la recolección de muestras de heces de animales, con presencia de diarrea directamente del recto del animal a través de la técnica del cuchareo en bolsas de polietileno (debidamente rotuladas) para el análisis parasitológico y muestras de hisopado (hisopos en tubos falcón con Caldo Peptonado) para el análisis microbiológico. Las muestras recolectadas fueron trasladadas inmediatamente en un Cooler al laboratorio de Salud Animal.

B. A Nivel de Laboratorio

Procedimiento de Análisis Parasitológico de *Eimeria macusaniensis*

Se homogeneizó 2 g de heces en 60 ml de solución sacarosa (en un mortero para y una vagueta para heces acuosas), y se realizó el tamizado en frascos de penicilina dejándolos en reposo por 10 -15 minutos cubriendo con una lámina porta objetos y posteriormente observar con el microscopio con aumento de 10x, 40x identificándolas por la morfología que presenta.

Para el conteo de ooquistes se utilizó la técnica de McMaster esta técnica se fundamenta en el principio de flotación donde los ooquistes livianos presentes en la muestra de heces, expuestas a una solución sobresaturada como líquido de flotación, se separan de la masa fecal ubicándose en la superficie de dicho líquido. Con un gotero se extrae la mezcla para proceder el llenado de la cámara (2 celdas) y se deja en reposo durante 5 minutos. Luego se le realiza en conteo al microscopio de todos los huevos de *Eimeria spp.* que están dentro o sobre las líneas de la rejilla, el número de OPGH es calculado sumando el resultado del conteo de ambas rejillas el cual se multiplica por 50.

Preparación de Caldo Peptona para Transporte de Muestras de *C. perfringens*

Primero se realizó el pesado del Caldo peptona en la balanza analítica, la cantidad a preparar se relaciona con el número de muestras a transportar, pero en general se preparó 7,6 g en 380 ml de agua destilada, seguido se inicia con la dilución calentando en la estufa para homogenizar el medio cubierto el matraz con algodón y papel, luego se pasó a esterilizar en el autoclave a 121 °C por 15 minutos, concluido se dejó enfriar y se repartió a 2ml/tubo y se pasó a depositar los hisopos en el medio.

Preparación de Caldo Tioglicolato para Cultivo de *C. perfringens*

Primero se realizó el pesado del Caldo tioglicolato en la balanza analítica, la cantidad a preparar se relaciona con el número de muestras a analizar, pero en general se preparó 44,08 g en 1520 ml de agua destilada, seguido se inicia con la dilución calentando en la estufa para homogenizar el medio cubierto el matraz con algodón y papel, luego se pasó a esterilizar en el autoclave a 121 °C por 15 minutos, concluido se dejó enfriar y se repartió a 8ml/tubo y se pasó a depositar los hisopos en el medio de enriquecimiento, los tubos fueron puestos en la Jarra Gaspak a 42 °C por 48 h. Las muestras transcurridas el tiempo se realizaron la coloración Gram.

Preparación del Agar Sangre para Cultivo de *C. perfringens*

Inicialmente se realiza el pesado del medio TSA en la balanza, la cantidad a preparar se relaciona con el número de muestras a analizar, la totalidad que se preparo fue de 190 g en 4750 ml de agua destilada, la dilución del medio cubierto con algodón y papel se realizó en la estufa a punto de ebullición para llegar a homogenizar, seguidamente se pasó a esterilizar en el autoclave a 121 °C por 15 minutos, concluido se dejó enfriar a 37 °C para poder adicionarle sangre ovina (que representa el 5%), el medio diluido se pasa distribuir a las Placas Petri para la solidificación y realizar el control de calidad a 37 °C por 24 h.

Se pasaron a cultivar las muestras provenientes del caldo tioglicolato en el Agar Sangre a 42 °C por 72 h en la Jarra Gaspak con AnaeroGen y el indicador de Anaerobio, transcurrido el tiempo se toman en consideración las forma de las colonias y el tipo de Hemolisis característicos del *Clostridium perfringens* para posteriormente realizar la coloración Gram y visualizar en el microscopio la morfología de la Bacteria Gram positiva.

Preparación de Medios para Prueba de Confirmación de *C. perfringens*

La preparación de los medios diferenciales se inicia con el pesado en la balanza analítica, la cantidad a preparar es directamente proporcional al número de muestras a analizar.

- ❖ 49,09 g de TSI en 760 ml de agua destilada, (6,4 g de TSI/100 ml)
- ❖ 45,6 g de SIM en 1520 ml de agua destilada (3 g de SIM/100 ml)

Las muestras se homogenizaron en la estufa a punto de ebullición, luego se llevó a esterilizar en el Autoclave a 121 °C por 15 minutos; concluido el auto clavado se repartió en los tubos. La distribución de los medios TSI y SIM en los tubos fue de una cantidad adecuada y en forma lenta con el flameo correspondiente en el mechero; finalmente se puso los tubos con el medio TSI en posición de plano semi inclinado, acostado sobre un soporte de madera de aproximadamente 3 cm de altura para que enfríe; en cuanto al medio SIM luego del servido en los tubos se puso en posición vertical en las gradillas (por ser un medio semisólido).

3.9. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos

Concluido el trabajo de campo y obtenido la información requerida mediante los análisis correspondientes, se realizó la tabulación de las mismas, sometidos a un análisis de datos estadísticos mediante el programa IBM SPSS (22) por consiguiente se elaboró las tablas y graficas las cuales son la base para la interpretación y discusión.

Con la información organizada, se procedió a realizar el análisis a través de la estadística descriptiva, tales como: Tablas de resumen simple, tablas de contingencia, diagrama de barras y medidas de tendencia central; así como la estadística inferencial para la contrastación de la significancia estadística de la hipótesis, mediante el estadístico de prueba de Ji - Cuadrado.

$$X^2 = \sum \frac{(|f_o - f_e|)^2}{f_e}$$

Donde:

X^2 = Ji - Cuadrado

f_o = Frecuencia relativa observada

f_e = Frecuencia relativa esperada

V de Cramer

$$V = \sqrt{\frac{X^2}{n(q - 1)}}$$

V de Cramer = 0: Nada de relación

V de Cramer = 0.50: Relación moderada

V de Cramer = 0.70: Relación moderada alta

V de Cramer = 1: Relación perfecta

Coefficiente de Contingencia

$$C = \sqrt{\frac{X^2}{X^2 + n}}$$

$$Max(C) = \sqrt{\frac{Min(f - 1, c - 1)}{1 + Min(f - 1, c - 1)}} \quad C_c = \frac{C}{C_{max}}$$

Coefficiente de contingencia = 0: Independencia absoluta

Coefficiente de Contingencia = 0.50 Relación moderada

Coefficiente de Contingencia = 0,70 Relación moderada alta

Coefficiente de Contingencia = 1 Relación perfecta

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Presentación de resultados

Los resultados se analizaron sobre la prevalencia de *E. macusaniensis*, prevalencia de *C. perfringens*, Coinfección de *E. macusaniensis* y *C. perfringens* y sobre el grado de asociación de la carga parasitaria de *Eimeria spp* y presencia de *Clostridium perfringens*.

Tabla 1. Prevalencia de *E. macusaniensis* en crías de alpaca con procesos diarreicos

Grupo etario	<i>Eimeria macusaniensis</i>			
	Total muestras	Total positivos	Prevalencia %	± IC
Perinatal	15	-	-	-
Neonatal	48	-	-	-
Crías	127	104	81,88	6,69

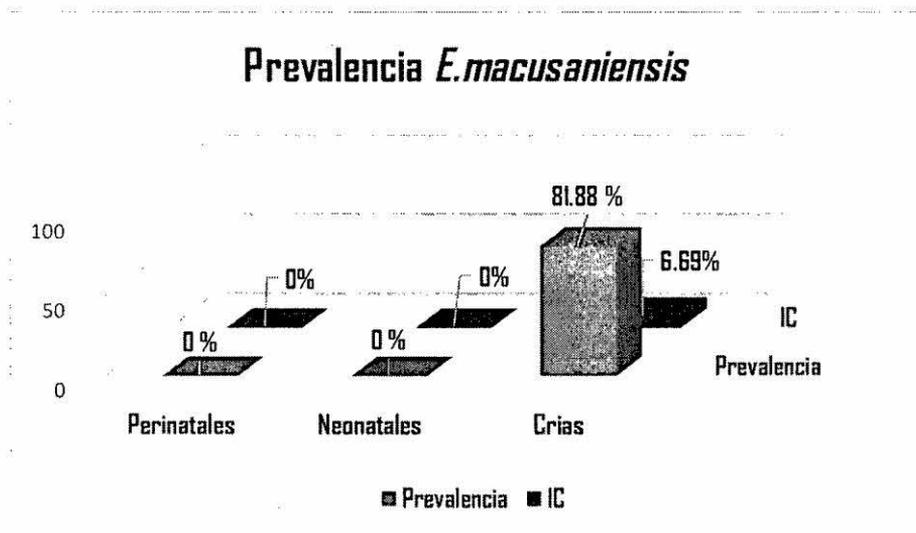


Tabla 2. Prevalencia de *C. perfringens* en crías de alpaca con procesos diarreicos

Grupo etario	<i>Clostridium perfringens</i>			
	Total muestras	Total positivos	Prevalencia %	± IC
Perinatal	15	6	40	24,79
Neonatal	48	3	6,25	6,84
Crías	127	45	35,43	8,31
	190	54	28,4	6,41

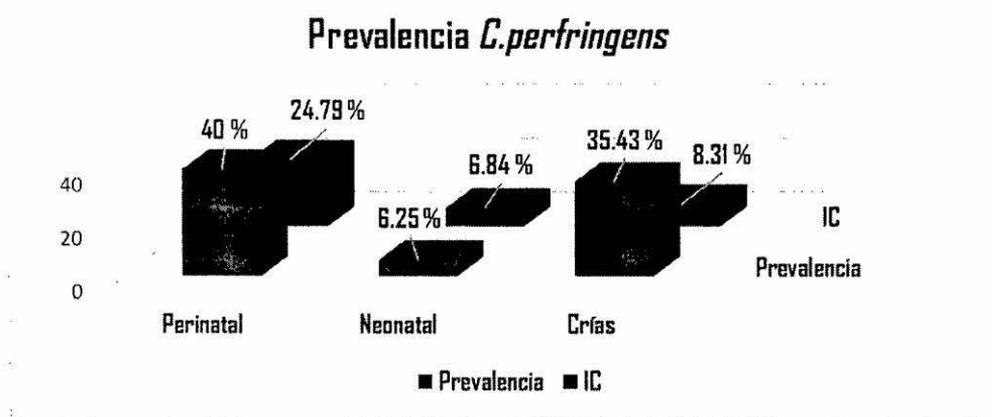


Tabla 3. Grado de asociación de la carga parasitaria de *E. macusaniensis* con respecto a la presencia de *C. perfringens* en crías de alpaca.

Carga parasitaria <i>E. macusaniensis</i>	Presencia de <i>C. perfringens</i>				Total	
	Positivo		Negativo			
	N°	%	N°	%	N°	%
Alto	17	8,9	7	3,7	24	12,6
Moderado	19	10	25	13,2	44	23,2
Bajo	9	4,7	27	14,2	36	18,9
Nulo	9	4,7	77	40,5	86	45,3
	54	28,4	136	71,6	190	100

En la tabla N° 3 se aprecia la asociación entre la carga parasitaria de *E. macusaniensis* y presencia de *C. perfringens* con un nivel de significancia ($p < 0,05$) con un valor de $X^2 = 39,77$ y grado de asociación (Coeficiente de contingencia) 0,57 siendo una relación moderada.

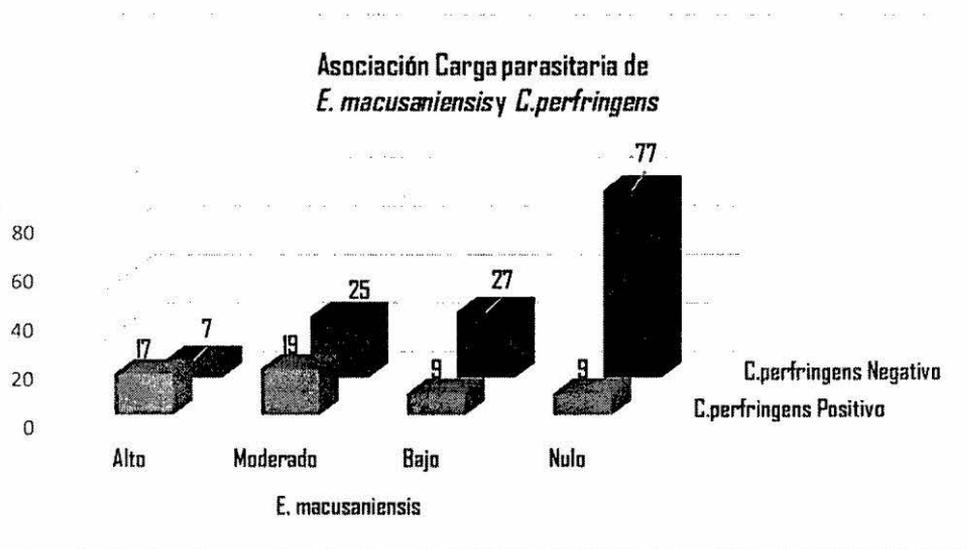


Tabla 4. Grado de asociación de la carga parasitaria de *Eimeria spp.* y presencia de *Clostridium perfringens* en crías de alpaca.

Carga parasitaria <i>Eimeria spp.</i>	Presencia de <i>Clostridium perfringens</i>				Total	
	Positivo		Negativo		N°	%
	N°	%	N°	%		
Alto	17	8,9	9	4,7	26	13,6
Moderado	19	10	26	13,7	45	23,7
Bajo	12	6,3	78	41,1	90	47,4
Nulo	6	3,2	23	12,1	29	15,3
	54	28,4	136	71,6	190	100

En la tabla N° 4 se aprecia la asociación entre la carga parasitaria de *E. spp.* y presencia de *C. perfringens* con un nivel de significancia ($p < 0,05$) con un valor de $X^2 = 32,5$ y grado de asociación (Coeficiente de contingencia) 0,53 siendo una relación moderada.

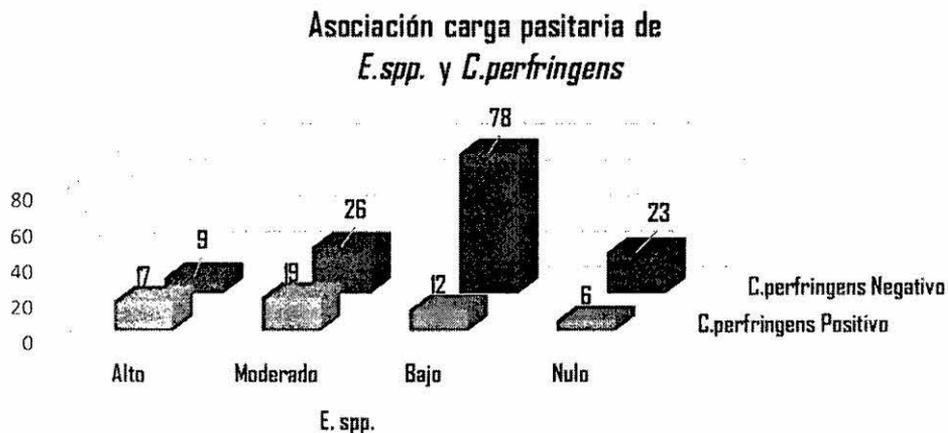


Tabla 5. Asociación de *Eimeria macusaniensis* y *Clostridium Perfringens* en crías de alpaca con procesos diarreicos de la comunidad de Santa Bárbara.

Presencia de <i>E. macusaniensis</i>	Presencia de <i>C. perfringens</i>				Total	
	Positivo		Negativo			
	N°	%	N°	%	N°	%
Positivo	45	23,7	59	31,1	104	54,7
Negativo	9	4,7	77	40,5	86	45,3
	54	28,4	136	71,6	190	100

En la tabla N° 5 se aprecia la asociación entre presencia de *E. macusaniensis* y presencia de *C. perfringens* con un nivel de significancia ($p < 0,05$) con un valor de $X^2 = 24,9$ y grado de asociación (V de Cramer) 0,36, siendo una relación moderada.

4.2. Discusión

4.2.1. Prevalencia de *E. macusaniensis* en crías de alpaca con procesos diarreicos.

La prevalencia de *E. macusaniensis* según grupo etario; perinatales, neonatales y crías resultaron 0 % (0/15), 0 % (0/48) y $81,88 \pm 6,69$ % (104/127) respectivamente, siendo superior a nivel de crías frente a lo reportado por Guerrero *et al.*, (1970 c) 25 % (40/60), en Puno; Martínez (1992) 12,65 % (50/391), en Puno; Romero (1992) 11% (10/84), en Junín; Valencia *et al.*, (2010) 50,95 % (107/201), en Huancavelica; Rodríguez *et al.*, (2012) 50,4 % (241/478), en Puno. La prevalencia superior encontrado podría ser explicada por el factor "diarrea" en donde los animales tienden a tener mayor carga parasitaria.

La prevalencia por grupos etarios demuestra la ausencia de *E. macusaniensis* en animales perinatales y neonatales, existiendo diferencias frente a lo reportado por Rodríguez *et al.*, (2012) 4,2% (1/24) en animales menores de 30 días. Indicativo de que el periodo prepatente de esta especie sería inferior a los reportado por Rohbeck *et al.*, (2003) 37- 40 días. En este contexto crías que nacen al inicio de la campaña de parición adquieren esta enfermedad y actúan como animales amplificadores eliminando grandes cantidades de ooquistes e incrementando el potencial de contaminación a las pasturas, sobre todo para las crías que nacen posteriormente y particularmente en los meses más húmedos y temperados (Febrero/marzo) en los andes (Rosadio *et al.*, 2010). No obstante, e independientemente de la alta prevalencia, podría considerarse a esta especie dentro de los principales agentes patogénicos involucrados en el desarrollo de cuadros entéricos fatales para las crías de alpaca (Rosadio y Ameghino, 1994; Leguia 1999; Cebra *et al.*, 2003).

4.2.2. Prevalencia de *C. perfringens* en crías de alpaca con procesos diarreicos.

La prevalencia de *Clostridium perfringens* según grupo etario; neonatales, perinatales y crías resultaron $40 \pm 24,79\%$ (6/15), $6,25 \pm 6,84\%$ (3/48) y $35,43 \pm 8,31\%$ (45/127) respectivamente, además se halló $28,4 \pm 6,41\%$ (54/190) prevalencia total porcentaje inferior al reportado por Londoño *et al.*, (2010) $37,93\%$ (11/29) y Rosadio *et al.*, (2010) $30,55\%$ (33/108), esta diferencia podría ser explicada por el tipo de muestras analizadas en donde los investigadores consideraron animales muertos con lesiones compatibles de la enfermedad de enterotoxemia, pero se asemeja mucho con la investigación realizada por Maldonado *et al.*, (2004) quien reporta la detección de *Clostridium spiriforme* a partir de heces de conejo con o sin lesiones de enteritis en un $24,1\%$ (13/54).

La prevalencia de *C. perfringens* en los tres grupos etarios demuestra que la colonización del este microorganismo en crías de alpaca ocurre a muy temprana edad, desde los 3 días a nivel del duodeno, yeyuno e íleon según lo reportado por (Espezua *et al.*, 2015). Esta colonización estaría relacionada con el nivel de contaminación ambiental y/o la inmunidad del recién nacido.

4.2.3. Asociación de la carga parasitaria de *Eimeria macusaniensis* con respecto a la presencia de *Clostridium perfringens* en crías de alpaca.

De acuerdo a los resultados obtenidos de asociación de la carga parasitaria de *E. macusaniensis* con respecto a la presencia de *C. perfringens* se encontró un grado de asociación de 0,57 (relación moderada) con un ($p < 0,05$), siendo positivos proporcionales a la carga parasitaria; Alta $70,83\%$ (17/24), Moderada $43,18\%$ (19/44) y baja $33,33\%$ (9/36), La *E. macusaniensis* parasita las criptas de Lieberkuhn causando lisis y necrosis de la misma (Guerrero *et al.*, 1967; Rosadio y Ameghino, 1990), estas alteraciones conllevan a que se genere la mala absorción, debido a que la capacidad digestiva y de absorción de la mucosa esta reducida a causa de la disminución de la superficie de las vellosidades y del número de células absorbentes.

Debido a las alteraciones descritas en el intestino delgado, se plantea que la *E. macusaniensis* sería un factor que incide negativamente en la salud intestinal, adicionalmente cambios de pH de contenido intestinal puede promover el crecimiento del *C. perfringens*, pues el bajo pH, en condiciones in vitro, inhibe el crecimiento bacterial y en pH alcalino se incrementa la producción de toxinas así lo explican (Taylor y Stewart, 1941, Kmet *et al.*, 1993). Los resultados de la carga parasitaria de *E. macusaniensis* (tabla N° 6) demuestra que las infecciones por esta especie es directamente proporcional a la carga de ooquistes por gramo de heces (OPGH); media de 4 352, rango 3 200 – 4 750; media de 2 407, rango 1 600 – 3 850; media de 1 261, rango 650 – 1 650 y media 703, rango 200 -2 150 en cargas parasitarias de alto, moderado, bajo y nulo respectivamente.

4.2.4. Asociación de la carga parasitaria de *Eimeria spp.* con respecto a la presencia de *Clostridium perfringens* en crías de alpaca.

El grado de asociación de la carga parasitaria de *Eimeria spp.* y presencia de *C. perfringens* encontrado en crías de alpaca con procesos diarreicos es 0,53 (relación moderada) con un ($p < 0,05$), y la relación OPGH y presencia de *C. perfringens* fue positiva reportada en el anexo (tabla N° 8); 65,38 % (17/26), 42,22% (19/45), 13,33 % (12/99) y 20,68 % (6/29) con media y rango; 4 338, 3850 – 4 750; 2 287, 1 550 – 3 200 y 890, 200 – 1 500 en Alto, Moderado, Bajo y Nulo respectivamente. Resultados que inciden que estas especies podrían ser factores predisponentes para la multiplicación de *C. perfringens* en el ambiente intestinal causando cuadros fatales, coincidiendo con lo mencionado por (Rosadio *et al.*, 2010) y asemejándose mucho con la investigación realizada por (Baba *et al.*, 1997) en pollos.

OPGH de *E. spp.* a nivel de crías con media y rango 96,06 % (122/127), 2 186, 250 – 4 750 reportados en el anexo (Tabla N° 7) son diferentes de los hallados por Rodríguez *et al.*, (2012) reportando 92,7 % con OPGH de 8 700, Guerrero *et al.*, (1970c) 90% con OPGH de 1 016 y Romero, (1992) 90 %. Estas diferencias podrían deberse a varios factores como, la resistencia individual, grado de contagio, presencia de enfermedades predisponentes y/o secundarias como *C. perfringens*.

4.2.5. Asociación de *Eimeria macusaniensis* y *Clostridium perfringens* en procesos diarreicos en crías de alpaca.

Los enteropatógenos muestran una asociación positiva con un grado de 0,36 (asociación moderada) con un ($p < 0,05$), estas observaciones evidencian una coinfección patológica en un 23,7% (45/190) del total de animales evaluados con procesos diarreicos, datos inferiores de coinfección reportados por Londoño *et al.*, (2010) 37,93 % (11/29), Rosadio *et al.*, (2010) 30,55 % (33/108) y Díaz *et al.*, (2015) 27, 5% (14/51) de animales con diversos cuadros patológicos a nivel intestinal, también estas asociaciones parásito bacteriológicas fue descrito por (Cebra *et al.* 2003) en crías de llamas y alpacas con diarrea menores de siete meses.

Estas asociaciones son más que sugerentes para proponer que ambos patógenos en los mismos ambientes intestinales pueden incrementar las capacidades patológicas de cualquiera de los agentes o uno de ellos predisponer a la infección del otro, coincidiendo con lo descrito por (Arakawa y Ohe, 1975; Kimura *et al.*, 1976; Dykstra y Reid, 1978) que mencionan que en la enteritis necrótica en pollos las infecciones por Eimeriosis estimulan la proliferación de *C. perfringens* en los intestinos.

Conclusiones

1. En animales con procesos diarreicos no presentaron prevalencia de *E. macusaniensis* en los grupos etarios perinatal y neonatal, pero si presentó una prevalencia alta en el grupo etario de crías.
2. En animales con procesos diarreicos se presentó la prevalencia de *C. perfringens* en los tres grupos etarios, la cual muestra que la colonización a nivel del intestino por este microorganismo ocurre a muy temprana edad.
3. Crías con alta carga parasitaria de *E. macusaniensis*, mostraron mayor frecuencia a ser positivas a la presencia de *C. perfringens*, con un grado de asociación moderado, cargas parasitarias que conllevarían a que se genere la mala absorción, disminución de la superficie de las vellosidades y el número de células absorbentes a nivel del intestino desencadenado la diarrea.
4. La carga parasitaria de *E.spp.* (OPGH) está asociada con la frecuencia a ser positivas a *C. perfringens* en crías con procesos diarreicos, de igual manera muestra una relación con el nivel de carga parasitaria de *E. macusaniensis* presente en los animales.
5. En crías de alpaca con procesos diarreicos existe una asociación entre *E. macusaniensis* y *C. perfringens* evidenciando una coinfección patológica en las muestras analizadas, sugerentes para proponer que ambos patógenos inciden negativamente en la salud intestinal desencadenado cuadros fatales.

Recomendaciones

1. Realizar estudios de investigación sobre el período prepatente de la *E. macusaniensis* y realizar análisis histológicos para determinar los daños generados a nivel de las células criptas según el grado de carga parasitaria de esta especie.
2. Las crías nacen con un sistema inmune bastante inmaduro por lo que se encuentran incapacitados para responder adecuadamente a infecciones tempranas de *C. perfringens*, por lo que se debe velar que el animal tome el calostro dentro de las 2 primeras horas de nacido.
3. Establecer medidas preventivas como; rotación de canchas, limpieza de letrinas y manejar un calendario sanitario, que permitan disminuir la infección por esta especie (*E. macusaniensis*) que es sumamente perjudicial para la salud intestinal en crías.
4. Capacitar a los productores sobre la problemática que representa la *E.spp.* que puede actuar con un factor desencadenante para la proliferación de *C. perfringens* desencadenando cuadros fatales de enteritis en crías de alpaca.
5. La asociación evidenciada de *E. macusaniensis* y *C. perfringens* en animales con procesos diarreicos es un indicador de la coexistencia de estos patógenos que merece ser ampliamente investigada, para poder llegar a establecer los daños que causan en el intestino y llegar a establecer las cepas de *C. perfringens* que tienen los genes codificantes de toxinas responsables de muerte por complejos diarreicos y enterotoxemia.
6. Realizar investigaciones en temas relacionados a la salud intestinal de las crías de alpaca siendo clave para el logro de mejoras en la producción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ameghino E. 1991. Causas de mortalidad en crías de alpacas. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos Sudamericanos. Saúl Fernández Baca (Ed). FAO, Santiago de Chile, Chile. 149-200 pp.
- Ameghino E, DeMartini J. 1991. Mortalidad en crías de Alpacas. Centro de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA). UNMSM.
- Baba E, Ikemoto T, Fukata T, Sasai K, Arakawa A. 1997. Poblacion Clostridial y las lesiones intestinales en pollos infectados con *Clostridium perfringens* y *Eimeria necatrix*. Veterinary microbiology. 54: 301-308 pp.
- Bonavia D. 1996. Los Camélidos Sudamericanos: Una inducción a su estudio. Lima, PE. Editora IFEA. 494-501 pp.
- Calzada J. 1972. Métodos Estadísticos para la Investigación. Tercera Edición. Lima-Perú. 56-58 pp
- Cebra CK, Mattson DE, Baker RJ, Sonn RJ, Dearing PL. 2003. Potential pathogens in feces from unweaned llamas and alpacas with diarrhea. J Am Vet Med Assoc. 223(12): 1806 p.
- Cruickshank R. 1965. Medical microbiology. 11 ed. Great Britain: E. & S. Livingstone Limited.
- Díaz G, Chero A, Purdy S, Lenin Maturrano I, Rosadio R. 2015. Presencia de *Eimeria spp.* en enteropatías fatales de alpacas neonatas. VII Congreso Mundial en Camélidos Sudamericanos. 104-108 pp.
- Espezua O, Rosadio R, Oscar Oros, Bustincio A, Chirinos A, Escalante I, Quisocala M, Huisa I. 2015. Cuantificación de *Clostridium perfringens* en crías de alpacas aparentemente sanas y muertas por síndrome enterotoxémico en el CIP "La Raya" UNA-Puno. VII Congreso Mundial en Camélidos Sudamericanos. 95-99 pp.
- Fernández S. 1991. Avances y perspectivas del conocimiento de los Camélidos Sudamericanos. Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. 15-35 pp.
- Fowler M. 1998. Medicine and Surgery of South American Camelids. 2 ed. Iowa State University Press. Ames, Iowa, 549 p.
- Foreyt WJ. 2001. Veterinary Parasitology Reference Manual. 5 ed. Iowa State University Press, 106-111 pp.

- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2005. situación actual de los camélidos sudamericanos en el Perú. Proyecto de cooperación técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los camélidos sudamericanos en la Región Andina. TCP/RLA/2914. Rome: FAO. 62 p.
- Garrity GM, Winters M, Searles DB. 2001. Taxonomic outline of the prokaryotic genera. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2 ed. U.S.A.: Bergey's Editorial Office.
- Gillespie J, Timoney J. 1981. Hagan and Bruner's infectious diseases of domestic animals. 7 ed. U.S.A.: International Standart.
- Guerrero C, Bazalar H, Leguia G. 1970a. Coccidiosis en rumiantes. Bol. Ext IVITA. 4:305-308 pp.
- Guerrero C, Alva J, Bazalar H, Tabacci L. 1970b. Infección experimental de alpacas con *Eimeria lamae*. Bol. Ext. I.V.I.T.A. Lima. 4: 79-83 pp.
- Guerrero C, Hernández J, Alva J. 1967c. Coccidiosis en Alpacas. Rev. De la Fac. Med. Vet. UNMSM. Lima - Perú. Vol: 21. 59-68 pp.
- Guerrero, C.; G. Leguía. 1987. Enfermedades infecciosas y parasitarias de alpacas. Rev. Cam. Sud. CISC-IVITA 4: 34-38 pp.
- Guerrero C. 1967. Coccidia (Protozoo: eimerida) of the Alpaca *Lama pacos*. J.Parasitol. 14: 613-616 pp.
- Guerrero, C. Hernandez J, Alva J. 1967. Coccidiosis en alpacas. Revista. Facultad de Medicina Veterinaria. Lima. 21. 59-68 pp.
- Guerrero C, Hernández J, Bazalar H, Alva J. 1971. *Eimeria macusaniensis* (Protozoo: Eimeridae) of the alpaca *Lama pacos*. J. Parasitol. 18:162-163 pp.
- Hidalgo, Cordero, 1999. Coccidiosis. En: Parasitología veterinaria. 1ª Ed. Editor M. Cordero del Campillo y M. Rojo. Ed. Mc. Graw Hill-Interamericana. Madrid. 958 p.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI), 2012. IV Censo Nacional Agropecuario (CENAGRO).
- Jarvinen A, 1999. Prevalencia de *Eimeria macusaniensis* (aplicomplexa: Eimeriidae) en medio Oeste de Lama spp. Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Estatal de Iowa – EE.UU. Parasitol. 85 (2):373 – 376 pp.
- Joclik WK, Willett HP. 1991. Zinsser Microbiología. 20 ed. Buenos Aires: Editorial. Médica Veterinaria.

- Leguía G. 1999. Enfermedades parasitarias de camélidos Sudamericanos. Ed. De Mar. Lima-Perú.189 p.
- Leguía G, Casas, 1999. Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de camelidos sudamericanos. Ed. De Mar. Lima.30 p.
- Maldonado J, Pages A, Alfonso M, Martinez E, Artigas C. 2004. Técnicas de aislamiento de *Clostridium spiroforme* a partir de casos de enteritis en conejos. Laboratorios Hipra – España.
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 2001. Biología de los microorganismos.8 ed. España: Editoreal Prentice Hall.
- Martinez C. 1992. Evaluación parasitaria del alpacas en comunidades del ámbito de la microregion Chucuito-Yunguyo. Tesis de Medico veterinario y zootecnista. Univ. Nac. Del Altiplano Puno. 76 p.
- Melo M, Hurtado E. 1985 Infestacion parasitaria enalpacas desde el nacimiento hasta el destete. Rev. de inv. Camelidos Sudamericanos ALLPAK'A Univ. Nac. Del altiplano. Puno. 1(2):78-86 pp.
- Moro M. 1987. Enfermedades infecciosas de las alpacas. Diarrea bacilar o enterotoxemia de las crías de las alpacas. Rev Camélidos Sudamericanos; 4:8-13 pp.
- Moro M, Guerrero C. 1971. La alpaca: enfermedades infecciosas y parasitarias. Bol Div IVITA, Lima. 63 p.
- Nicolet J. 1986. Compendio de bacteriología médica veterinaria. 1 ed. España: Editorial Acribia S.A.
- Palacios C, Perales R, Chavera A, López T. 2005. Caracterización anátomo-histopatológica de enteropatías causantes de mortalidad en crías de alpaca. Rev Inv Vet – Perú. 16(1): 34-40 pp.
- Pérez D. 2006. Genotipificación y subtipificación de *Clostridium perfringens* aisladas de crías de alpacas muertas por enterotoxemia [Tesis para optar el título de Médico Veterinario]. 2006. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Lima.
- Prehn N, Saez S, Arraigada M. 1999. Estudios microbiológicos y clínicos de enterotoxemia por *Clostridium perfringens* en camélidos sudamericanos. Res. II Cong. Mun. sobre Camélidos. Cusco: 140 p.

- Ramírez, A. Ludeña, H y Acosta, M. 1980. Mortalidad en alpacas del centro pecuario la Raya-Puno en siete años. Resumen III Reunión Asociación Peruano de Producción Animal (APPA). Lima-Perú.
- Ramírez, A.; D. Huamán; R. P. Ellis. Enterotoxemia de la alpaca. 1985. Programa colaborativo de apoyo a la investigación en rumiantes menores. Serie reporte técnico, Lima; 63:1-17 pp.
- Ramírez A, Ellis R. 1988. Nuevos conceptos sobre la enterotoxemia y colibacilosis en alpacas. Rev Camélidos Sudamericanos; 6:9-17 pp.
- Ramírez A. 1991. Enfermedades infecciosas. En: Avances y Perspectivas del Conocimiento de los Camélidos Sudamericanos. 1 ed. Santiago de Chile: FAO: 265-89 pp.
- Rodriguez A, Casas E, Luna L, Gavidea C, Zanabria V, Rosadio R. 2012. Eimeriosis en crías de alpaca prevalencia y factores de riesgo. Rev Inv Vet – Perú. 23(3): 289-298 pp.
- Rosadio, R.; Ameghino E. 1990. Coccidiosis en alpacas. En: Avances sobre investigaciones de salud animal en camélidos sudamericanos. Bol. Div. IVITA23: 48-50 pp.
- Rosadio R, Londoño P, Perez D, Castillo H, Veliz A, Llanco L, Yaya K, Maturrano L. 2010. *Eimeria macusaniensis* asociada a lesiones en alpacas neonatos muertos por Enterotoxemia. Veterinary Parasitology. 168: 116-120 pp.
- Romero M. 1992. Prevalencia y carga parasitaria de *Eimeria* sp. en crías de alpacas. Tesis de Bach. Med. Vet. U.N.M.S.M. Lima. 28 p.
- Soulsby 1987. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animals domesticos. 7ed. Mexico. Interamericana. 823 p.
- Songer JG. 1996. Clostridial enteric diseases of domestic animals. Clin Microbiol Rev; 9:216-234 pp.
- Schrey CF, Abbott TA, Stewart VA, Marquardt WC. 1991. Coccidia of the llama, *Lama glama*, in Colorado and Wyoming. Vet Parasitol. 40(1-2): 21-8 pp.
- Sharpe MS, Lord LK, Wittum TE, Anderson DE. 2009. Pre-weaning morbidity and mortality of llamas and alpacas. Aust Vet J. 87(1): 56-60 pp.
- Whitehead CE, Anderson DE. 2005. Neonatal diarrhea in llamas and alpacas. Small Rumin Res

ANEXOS

Tabla 6. Ooquistes por gramo de heces (OPGH) según carga parasitaria de *Eimeria macusaniensis*.

Carga parasitaria de <i>E. macusaniensis</i>	OPGH			
	f_o	%	Promedio	Rango
Alto	24	12,6	4 352	3 200 – 4 750
Moderado	44	23,2	2 407	1600 – 3 850
Bajo	36	18,9	1 261	650 – 1 650
Nulo	86	45,3	703	200 - 2150
Total	190	100		

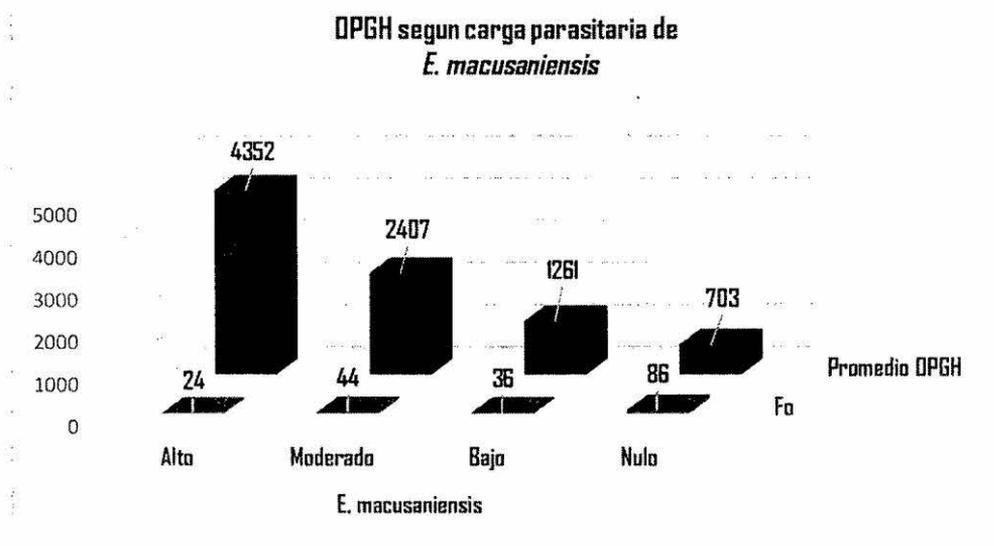


Tabla 7. Ooquistes de *Eimeria spp* por gramo de heces (OPGH) en crías de alpaca, según grupo etario de la comunidad de Santa Bárbara.

Grupo etario	Muestras Positivas		OPGH	
	N°	%	Promedio	Rango
Perinatal	0/15	-	-	-
Neonatal	39/48	81,25	748	200 – 2 150
Crías	122/127	96,06	2 186	250 – 4 750
Total	161/190	84,73		

E. spp (OPGH) según grupo etario

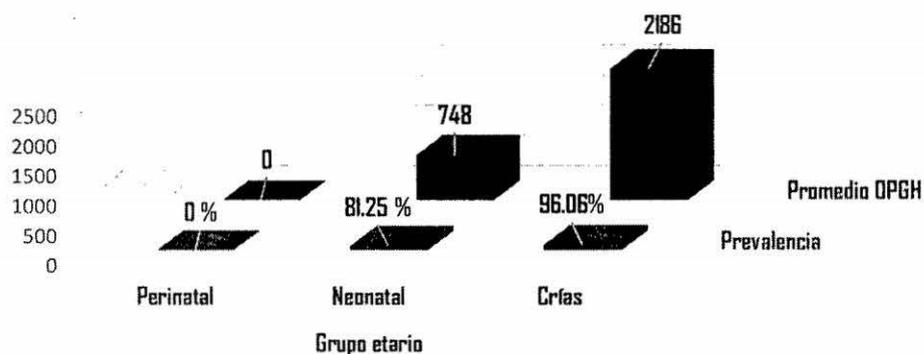
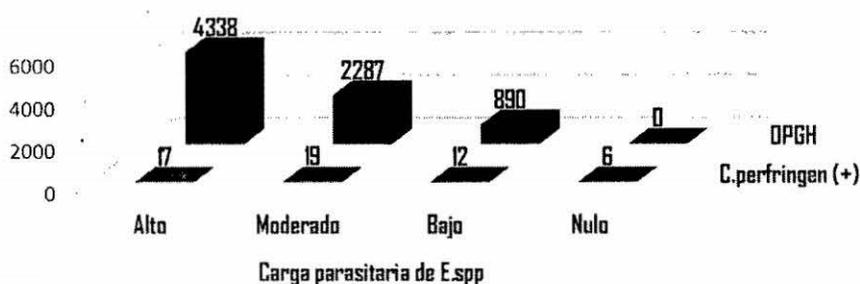


Tabla 8. Presencia de *Clostridium perfringens* según carga parasitaria de *Eimeria spp.* y OPGH.

Carga parasitaria de <i>E. spp</i>	<i>Clostridium perfringens</i>		OPGH	
	Total positivos	%	Promedio	Rango
Alto	17/26	65,38	4 338	3 850 - 4750
Moderado	19/45	42,22	2 287	1 550 - 3200
Bajo	12/90	13,33	890	200 - 1 500
Nulo	6/29	20,68	-	-

Presencia de *C. perfringens* según OPGH



REGISTRO DE DATOS

PRODUCTORES DE LA COMUNIDAD DE SANTA BARBARA

REGISTRO DE TOMA DE DATOS

	Sexo	Edad	Presencia <i>E. macusaniensis</i>	Carga parasitaria <i>E. macusaniensis</i>	Presencia <i>C. perfringens</i>	Carga parasitaria <i>E. spp.</i>	OPGH
1	HEMBRA	CRÍAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4250
2	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4150
3	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	ALTO	NEGATIVO	ALTO	4000
4	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4350
5	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4500
6	HEMBRA	CRÍAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4750
7	HEMBRA	CRÍAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4700
8	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	ALTO	NEGATIVO	ALTO	4350
9	HEMBRA	CRÍAS	POSITIVO	ALTO	NEGATIVO	ALTO	4050
10	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4700
11	HEMBRA	CRÍAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4550
12	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	ALTO	NEGATIVO	ALTO	4450
13	HEMBRA	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2750
14	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	2900
15	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2950
16	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2500
17	HEMBRA	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	1900
18	HEMBRA	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2000
19	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	2250
20	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2550
21	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	2750
22	HEMBRA	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	1650
23	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	1200
24	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2900
25	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	1200
26	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	1050
27	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2950
28	HEMBRA	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2150
29	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	1700
30	HEMBRA	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	2500
31	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	1850
32	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	900
33	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	950
34	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	600
35	MACHO	CRÍAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	2950
36	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	750

37	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	500
38	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	2400
39	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	200
40	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2850
41	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2600
42	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	350
43	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	400
44	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	750
45	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	600
46	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	950
47	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	1150
48	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	ALTO	3850
49	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	1000
50	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	950
51	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	2650
52	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	700
53	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	1600
54	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	650
55	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	500
56	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	POSITIVO	BAJO	350
57	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1500
58	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1450
59	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	POSITIVO	BAJO	1300
60	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	900
61	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1500
62	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1450
63	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1400
64	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	950
65	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	POSITIVO	BAJO	1200
66	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	MODERADO	2150
67	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	600
68	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	900
69	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	500
70	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	850
71	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	POSITIVO	BAJO	750
72	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	450
73	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1250
74	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	400
75	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	600
76	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1000
77	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	650

78	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	POSITIVO	BAJO	650
79	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1300
80	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
81	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	700
82	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
83	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1200
84	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
85	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
86	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1450
87	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
88	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1100
89	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
90	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
91	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	850
92	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	600
93	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1100
94	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
95	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
96	HEMBRA	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	900
97	MACHO	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	700
98	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	POSITIVO	BAJO	1450
99	HEMBRA	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	650
100	MACHO	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	900
101	MACHO	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	800
102	HEMBRA	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	700
103	MACHO	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	450
104	HEMBRA	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	250
105	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	850
106	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	MODERADO	1650
107	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	ALTO	NEGATIVO	ALTO	4100
108	MACHO	CRIAS	POSITIVO	ALTO	NEGATIVO	ALTO	4250
109	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	ALTO	NEGATIVO	MODERADO	3200
110	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	1750
111	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	1900
112	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1500
113	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	MODERADO	1550
114	MACHO	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	650
115	HEMBRA	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
116	MACHO	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
117	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1100
118	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1250

119	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	1750
120	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	1900
121	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	800
122	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	POSITIVO	BAJO	650
123	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1350
124	MACHO	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	850
125	HEMBRA	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
126	MACHO	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
127	MACHO	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	POSITIVO	NULO	0
128	HEMBRA	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
129	MACHO	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
130	HEMBRA	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	POSITIVO	NULO	0
131	MACHO	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
132	HEMBRA	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
133	MACHO	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
134	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4250
135	MACHO	CRIAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4150
136	MACHO	CRIAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4350
137	MACHO	CRIAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4500
138	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4750
139	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4700
140	MACHO	CRIAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4700
141	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4550
142	MACHO	CRIAS	POSITIVO	ALTO	POSITIVO	ALTO	4150
143	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	1900
144	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	2250
145	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	2750
146	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	1650
147	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	1700
148	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	2500
149	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	POSITIVO	MODERADO	2950
150	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	POSITIVO	BAJO	1350
151	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	POSITIVO	BAJO	1250
152	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	POSITIVO	BAJO	1300
153	HEMBRA	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	700
154	MACHO	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	450
155	HEMBRA	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	250
156	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	850
157	MACHO	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	650
158	HEMBRA	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
159	MACHO	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0

160	MACHO	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	850
161	HEMBRA	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
162	MACHO	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
163	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2150
164	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	1850
165	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2850
166	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2600
167	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	ALTO	3850
168	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	1600
169	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1500
170	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1450
171	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1500
172	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1450
173	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	POSITIVO	BAJO	350
174	MACHO	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	POSITIVO	NULO	0
175	HEMBRA	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	POSITIVO	NULO	0
176	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	POSITIVO	BAJO	350
177	MACHO	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	POSITIVO	NULO	0
178	HEMBRA	PERINATAL	NEGATIVO	NULO	POSITIVO	NULO	0
179	HEMBRA	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	700
180	MACHO	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	450
181	HEMBRA	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	250
182	MACHO	NEONATAL	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	850
183	MACHO	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	BAJO	650
184	HEMBRA	CRIAS	NEGATIVO	NULO	NEGATIVO	NULO	0
185	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2850
186	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	2600
187	MACHO	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	ALTO	3850
188	HEMBRA	CRIAS	POSITIVO	MODERADO	NEGATIVO	MODERADO	1600
189	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1500
190	MACHO	CRIAS	POSITIVO	BAJO	NEGATIVO	BAJO	1450

FOTOS

Foto 1. Preparación de Agar Sangre

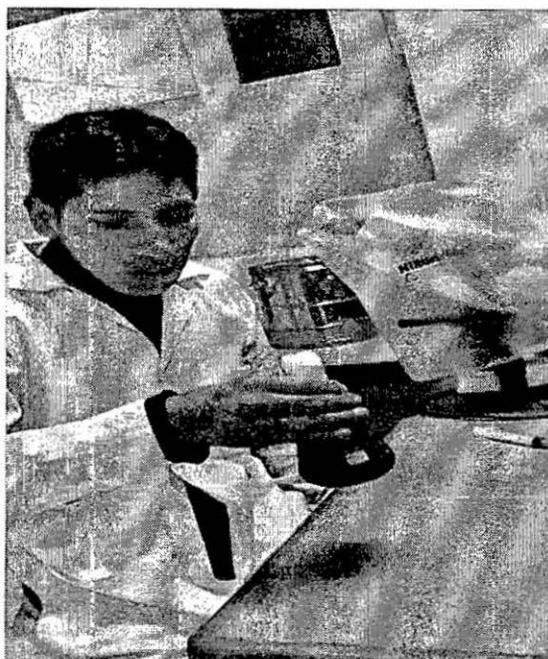


Foto 2. Plaqueo de Agar Sangre



Foto 3. Control de calidad de placas

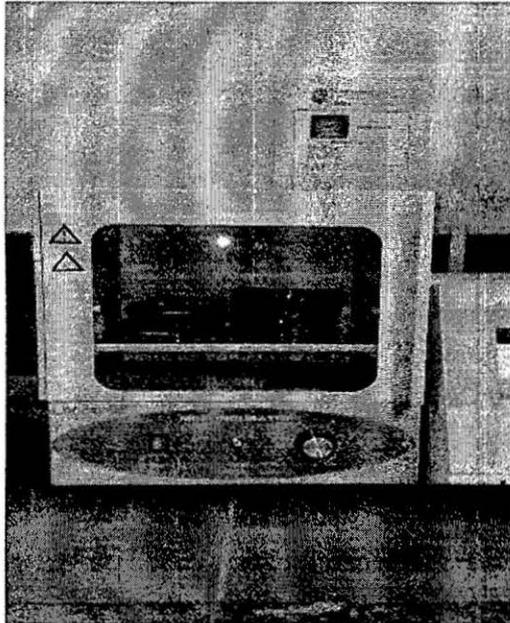


Foto 4. Siembra de *Clostridium perfringens* en Agar Sangre

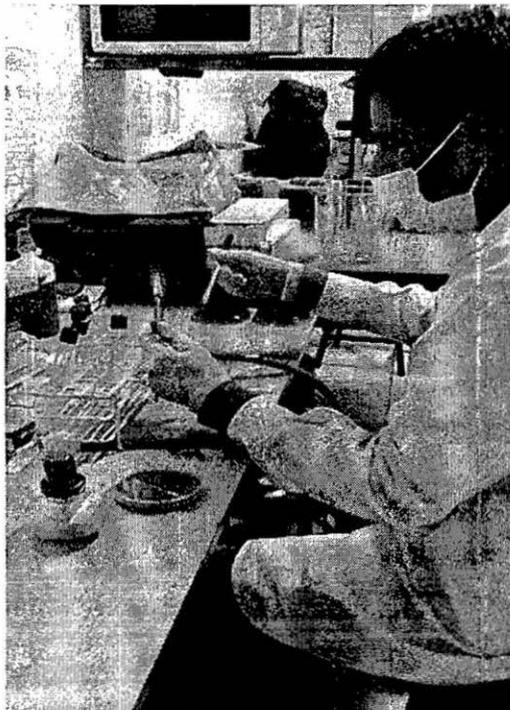


Foto 5. *C. perfringens* en Coloración GRAM

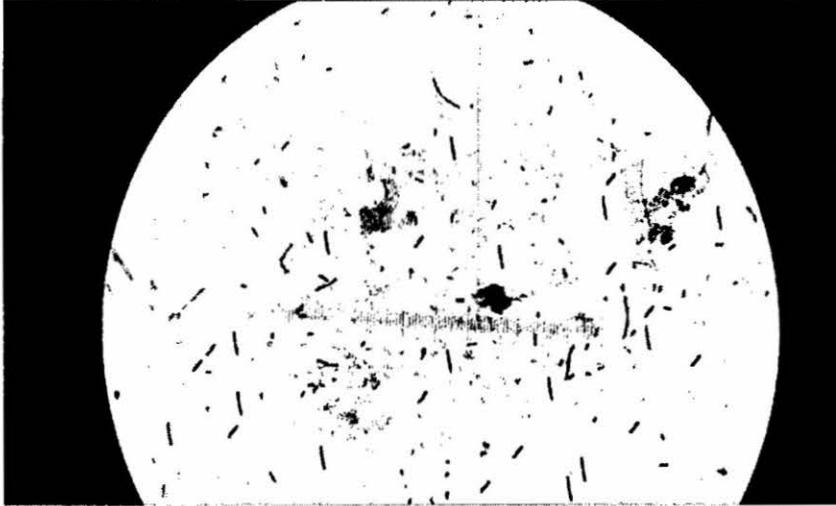


Foto 6. Recuento de *E. macusaniensis* en solución azucarada



Foto 7. *E. macusaniensis* en vista 10 X

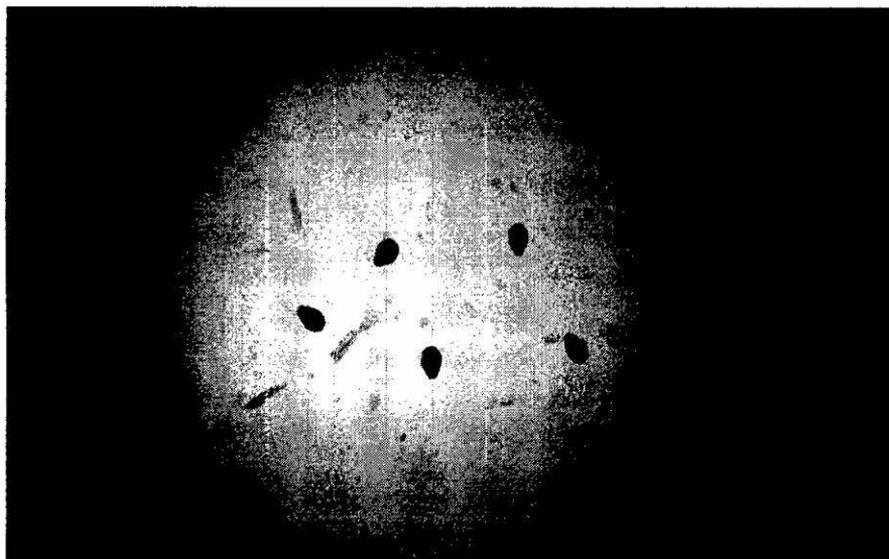


Foto 8. Recolección de muestras de animales con procesos diarreicos

