

EVIDENCIAS DE MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA CLÍNICA EN ALTA MONTAÑA DE CAMELIDOS SUDAMERICANOS, HUANCAVELICA-PERÚ

Autores:

Víctor Carhuapoma De la cruz
Nicasio Valencia Mamani
Víctor Guillermo Sánchez Araujo
TeresaHuaman Gonzales
Rufino Paucar Chanca
Epifanio Lizana Hilario
Jorge L. Huere Peña
Paul Herber Mayhua Mendoza
Rodrigo Huamán Jurado
William Salas Contreras
Cauti Siever Morales
Gissel Shian Auqui Acharte
Mario Esparza Mantilla

Libro resultado de investigación

CICI | CENTRO DE INVESTIGACIONES Y CAPACITACIONES INTERDISCIPLINARES

Autores Principales y Compiladores

Víctor Carhuapoma De la cruz

Candidato masters en Producción Animal
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
yachayruacc@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-4330-6099>

Nicasio Valencia Mamani

Doctor en Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
valenciang55@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-9408-7770>

Víctor Guillermo Sánchez Araujo

Doctor en Ciencias ambientales
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
victor.sanchez@unh.edu.pe .

 <https://orcid.org/0000-0002-7702-0881>

Teresa Huaman Gonzales

Doctora en Ingeniería Ambiental
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
teresa.gonzales@unh.edu.pe.

 <http://orcid.org/0000-0003-2945-3874>

Rufino Paucar Chanca

Doctor en Producción Animal
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
rufipc@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0001-6820-6185>

Epifanio Lizana Hilario

Ing. Zootecnista
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
epi_elh@outlook.com.pe

 <https://orcid.org/0000-0002-5909-2996>

Autores Principales y Compiladores

Jorge L. Huere Peña

M.Sc. Ingeniería de Sistemas
Universidad Nacional Mayor de San Marcos-Perú
jorge.huere@unh.edu.pe
 <http://orcid.org/0000-0002-3114-8134>

Paul Herber Mayhua Mendoza

Magister en Producción animal
Universidad Nacional
Huancavelica-Perú
paul.mayhua@unh.edu.pe
 <https://orcid.org/0000-0002-0831-8502>

Rodrigo Huamán Jurado

Doctor en Medio Ambiente y Desarrollo
Sostenible
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
rodrigo.hueman@unh.edu.pe .
 <https://orcid.org/0000-0003-1599-8996>

William Salas Contreras

Doctor en Ciencias Biológicas
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
wilysalasc@gmail.com .
 <https://orcid.org/0000-0001-7664-3000>

Cauti Siever Morales

Post Grado en Doctorado en Ciencias Biológicas
Universidad Nacional Mayor de San Marcos-Perú
Sieverm@hotmail.com
 <https://orcid.org/0000-0002-5396-8889>

Gissel Shian Auqui Acharte

Bachiller en Ingeniería Zootecnia
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
gisse2295@gmail.com
 <https://orcid.org/0000-0002-0474-8978>

Mario Esparza Mantilla

Post-Doctorado en Bioinformática
Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo-Perú
esparza@gmail.com
 <https://orcid.org/0000-0003-3604-6054>

Alain Fitzgerald Castro Alfaro: Editor

2023 – Evidencias de microorganismos de importancia clínica en alta montaña de camélidos sudamericanos, Huancavelica-Perú

Primer Volumen

Autores: Víctor Carhuapoma De la cruz, Nicasio Valencia Mamani, Víctor Guillermo Sánchez Araujo, Teresa Huaman Gonzales, Rufino Paucar Chanca, Epifanio Lizana Hilario, Jorge L. Huere Peña, Paul Herber Mayhua Mendoza, Rodrigo Huamán Jurado, William Salas Contreras, Cauti Siever Morales, Gissel Shian Auqui Acharte, Mario Esparza Mantilla.

Versión Digital ISBN: 978-958-53117-6-3

Evidencias de microorganismos de importancia clínica en alta montaña de camélidos sudamericanos, Huancavelica-Perú

Coordinadora: Nora González Pérez –Cartagena –Colombia

Portada y diagramación: Mariapaula Valeria Ramírez Guerrero

Prohibida la reproducción total o parcial por cualquier medio sin la autorización escrita del titular de los derechos patrimoniales

Cartagena –Colombia, septiembre 2023

EVIDENCIAS DE MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA CLÍNICA EN ALTA MONTAÑA DE CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS, HUANCAVELICA-PERÚ

Víctor Carhuapoma De la cruz

Nicasio Valencia Mamani

Víctor Guillermo Sánchez Araujo

Teresa Huaman Gonzales

Rufino Paucar Chanca

Epifanio Lizana Hilario

Jorge L. Huere Peña

Paul Herber Mayhua Mendoza

Rodrigo Huamán Jurado

William Salas Contreras

Cauti Siever Morales

Gissel Shian Auqui Acharte

Mario Esparza Mantilla

Colombia

Latinoamérica

Contenido

RESUMEN

1. TOXICIDAD DE MACROQUISTES DE <i>SARCOCYSTIS AUCHENIAE</i> H. WILD EN RATONES DOMÉSTICOS (<i>MUS MUSCULUS</i>).....	9
Resumen	9
Palabras clave	10
Abstract.....	10
Keywords	10
1.1 Introducción	11
1.2 Metodología.....	12
1.3 Resultados.....	13
1.4 Discusión	15
1.5 Conclusiones	15
1.6 Referencias bibliográficas.....	16
2 RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE <i>SALMONELLA</i> SPP, <i>ESCHERICHIA COLI</i> AISLADAS DE ALPACAS (<i>Vicugna pacos</i>) CON Y SIN DIARREA	19
Resumen	20
Palabras clave	20
Abstract.....	20
Keywords	21
2.1 Introducción	21
2.2 Metodología.....	23
2.3 Resultados.....	25
2.4 Discusión	27
2.5 Conclusiones	31
2.6 Referencias bibliográficas.....	31
3. EFECTO DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> Y <i>SALMONELLA</i> SPP EN EL CRECIMIENTO Y MORTALIDAD DE CRÍAS DE ALPACAS (<i>Vicugna pacos</i>)	37
Resumen	37
Palabras clave	38
Abstract.....	38
Keywords	39

3.1	Introducción	39
3.2	Metodología	40
3.3	Resultados	42
3.4	Discusión	43
3.5	Conclusiones.....	46
3.6	Referencias bibliográficas	46
4.	CARACTERIZACIÓN DE NEUMONÍAS EN ALPACAS (<i>Vicugna pacos</i>) EN COMUNIDADES ALTOANDINAS DE HUANCAMELICA, PERÚ.....	49
	Resumen	51
	Palabras clave	51
	Abstract.....	51
	Keywords	52
4.1	Introducción	52
4.2	Metodología.....	54
4.3	Resultados	57
4.4	Discusión	62
4.5	Conclusiones	64
4.6	Referencias bibliográficas.....	64
5.	BACTERIAS FIBROLÍTICAS AISLADAS DE RUMEN DE ALPACA, OVINO Y VACUNO CON CAPACIDAD BIODegradadora DE CELULOSA	69
	Resumen	70
	Palabras clave	71
	Abstract.....	71
	Keywords	72
5.1	Introducción	72
5.2	Metodología.....	73
5.3	Resultados	75
5.4	Discusión	78
5.5	Conclusiones	81
5.6	Referencias bibliográficas.....	81

RESUMEN

La crianza de los camélidos sudamericanos (alpacas) es una actividad de gran importancia socioeconómica para las familias alto andinas del Perú, por su gran aporte de carne con alto valor proteico y su fibra de gran demanda en mercado textil, sin embargo, esta especie sufre elevadas mortalidades con pérdidas económicas al criador por agentes bacterianos y parasitarios. Escasos estudios se han validado científicamente en esta especie, así mismo existen bacterias celulolíticas en las alpacas con potencial degradador de la celulosa que pueden ser aprovechadas para producir inóculos de bacterias ruminales en la alimentación de rumiantes, desde esa percepción el libro de capítulo denominado: Evidencias de microorganismos de importancia clínica en alta montaña de camélidos sudamericanos, Huancavelica-Perú, que es resultado de trabajos de investigación titulados: Resistencia antibiótica de *Salmonella* spp, *Escherichia coli* aisladas de alpaca (*Vicugna pacus*) con y sin diarrea; Efecto de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp en el crecimiento y mortalidad de crías de alpacas (*Vicugna pacus*); Caracterización de neumonías en alpacas (*Vicugna pacus*) en comunidades altoandinas de Huancavelica, Perú; Bacterias fibrolíticas aisladas de rumen de alpaca, ovino y vacuno con capacidad biodegradadora de celulosa; Toxicidad de macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* H. wild en ratones domésticos (*Mus musculus*). Que contienen aportes científicos de algunos microorganismos que afectan en la salud animal y otros pueden tener aplicaciones biotecnológicas (biofermentadores, biodegradadores, catalizadores biológicos) en camélidos sudamericanos y otros rumiantes.

Palabras Clave: alpaca, bacterias entéricas, fibrolíticas, microorganismos, microbiota, patógenos.

Capítulo I

TOXICIDAD DE MACROQUISTES DE *SARCOCYSTIS AUCHENIAE* H.
Wild EN RATONES DOMÉSTICOS (*Mus musculus*)

1. TOXICIDAD DE MACROQUISTES DE *SARCOCYSTIS AUCHENIAE* H. Wild EN RATONES DOMÉSTICOS (*Mus musculus*)

TOXICITY OF MACROCHISTES OF *SARCOCYSTIS AUCHENIAE* H. Wild IN DOMESTIC MICE (*Mus musculus*)

Víctor Carhuapoma De la cruz

Universidad Nacional Huancavelica Perú

yachayruacc@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-4330-6099>

Nicasio Valencia Mamani

Universidad Nacional Huancavelica Perú

valencian955@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-9408-7770>

Víctor Guillermo Sánchez Araujo

Universidad Privada del Norte

victor.sanchez@unh.edu.pe

 <https://orcid.org/0000-0002-7702-0881>

Resumen

El protozoo *Sarcocystis aucheniae* es el agente causal de la sarcocistosis de los camélidos sudamericanos (SAC) y las infecciones se caracterizan por la presencia de quistes en los músculos que son similares en tamaño y apariencia a los granos de arroz, no obstante están demostrados su inactivación de la toxina de *Sarcocystis*, de ahí se diserta en el presente capítulo la determinación de la toxicidad del inóculo lisado de Macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* (LMSA) en ratones caseros (n=36), a concentraciones de 5 y 10% (0, 50 y 100 µg de proteína por gramo de p.v.) y a dosis de 0.5 y 1.0 ml. Para contrastar la toxicidad de los inóculos se evaluó la temperatura rectal, frecuencia respiratoria y tasa de supervivencia; así como alteraciones macroscópicas e histopatológicas en hígado, riñón, corazón y pulmón. Todos los ratones tratados murieron entre las 4 y 20 horas de la inoculación, presentando hipotermia, disnea y

bradipnea. El riñón y el hígado fueron los órganos más afectados, mostrando severa hiperemia, degeneración tisular e hiperplasia. Los ratones del grupo testigo no presentaron alteraciones visibles ni muerte. Los resultados evidenciaron toxicidad y letalidad del inóculo lisado de Macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* en los ratones.

Palabras clave: Sarcocystis, Macroquistes, inóculo, ratón, letalidad.

Abstract

The protozoan *Sarcocystis aucheniae* is the causative agent of sarcocystosis of South American camelids (SAC) and infections are characterized by the presence of cysts in the muscles that are similar in size and appearance to rice grains, However, their inactivation of *Sarcocystis* toxin has been demonstrated, hence the determination of the toxicity of the inoculum lysate of *Sarcocystis aucheniae* macrocysts (LMSA) in house mice (n=36), at concentrations of 5 and 10% (0, 50 and 100 µg of protein per gram of p.v.) and at doses of 0, 50 and 100 µg of protein per gram of p.v.). v.) and at doses of 0.5 and 1.0 ml. To contrast the toxicity of the inocula, rectal temperature, respiratory frequency and survival rate were evaluated, as well as macroscopic and histopathological alterations in liver, kidney, heart and lung. All treated mice died between 4 and 20 hours after inoculation, presenting hypothermia, dyspnea and bradypnea. The kidney and liver were the most affected organs, showing severe hyperemia, tissue degeneration and hyperplasia. Mice in the control group showed no visible alterations or death. The results showed toxicity and lethality of the inoculum lysate of *Sarcocystis aucheniae* macrocysts in mice.

Keywords: Sarcocystis, macrocystis, inoculum, mouse, lethality

1.1. Introducción

La crianza de los camélidos domésticos (alpacas y llamas) es una de las actividades de mayor importancia e impacto en el desarrollo socioeconómico de la población altoandina en el Perú. Se tiene el caso de Huancavelica, donde el 74% de la población vive en la zona rural y el 85% se dedica a esta actividad (Salvá et al., 2009). La carne de camélidos es rica en proteínas, correspondiendo 21.3% a la carne de alpaca y 24.8% a la carne de llama; además, contienen poca grasa y presentan un bajo contenido de colesterol (Saadoun y Cabrera, 2008).

Los camélidos de las zonas altoandinas se ven afectados por diversas enfermedades, entre ellas el parasitismo causado por *Sarcocystis aucheniae* (Guerrero et al., 2004; Uzuriaga et al., 2008). El género *Sarcocystis* incluye especies altamente patógenas para bovinos, ovinos, camélidos, caballos y cabras (Sam et al., 1998); además, se le encuentra parasitando animales silvestres como tejones, ratas, búfalos y monos, entre otros (Sam et al., 1998). La infección causada por *S. aucheniae* se traduce en importantes pérdidas económicas de la producción alpaquera derivada no solo por la disminución de la productividad animal, sino por la pérdida del valor comercial del animal y por los decomisos de las carcasas (Saadoun y Cabrera, 2008).

Mansilla (1993), sostiene que las sarcosistiosis es una enfermedad zoonótica parasitaria, donde las formas larvarias del parásito se localizan en los músculos y sistema nervioso central, sin aparente reacción del animal infectado. Se presume que ocurre la ruptura de algunos quistes en algún momento de la infección con probable liberación de productos tóxicos, pero no hay información científica sobre este en los procesos de sarcocistiosis crónica (Godoy et al., 2007). La actividad neurotóxica fue demostrada por Hiepe et al. (1981), denominando al producto como sarcocistina. Este producto ha sido considerado como una endotoxina de acción en músculo cardíaco y tejido nervioso gastrointestinal (Franklin et al., 2003). Estudios preliminares utilizando proteína de bradizoitos de *Macroquistes* sonificados (5 mg/ ml) de *S. aucheniae* demostraron su acción letal en conejos (Sam et al., 1988; Jurado, 2009). Asimismo, existen evidencias de trastornos gastroentéricos en personas que consumieron carne cruda infectada con *S. aucheniae* y *S. hominis* (Lesk, 2000).

Los antecedentes mencionados no reportan sobre la concentración y la dosis letal del efecto de extractos de *Sarcocystis* en cobayos, ratas y conejos. Tampoco se dispone de información sobre el efecto biológico de *S. aucheniae* a nivel celular (histopatología) ni existen estudios en ratones domésticos, llamados también caseros (*Mus musculus*), hospederos intermediarios del parásito. Debido a esto, se planteó el presente estudio con el objetivo de determinar el grado de toxicidad del inóculo de lisado de Macroquistes de *S. aucheniae* en ratones caseros.

1.2. Metodología

El presente estudio se realizó por un periodo de seis meses, en el Laboratorio Central de Investigación, Área de Sanidad Animal, Universidad Nacional de Huancavelica, ubicado cerca de la ciudad de Huancavelica, Perú. La zona se encuentra a 3780 msnm, con temperaturas de 15 a 18 °C y de 8 a 5 °C.

Se obtuvieron Macroquistes de *S. aucheniae* de alpacas infectadas naturalmente y que fueron sacrificadas en el camal local. Se recolectó la zona muscular del cuello y se llevó al laboratorio. La carne fue fileteada y con pinzas y bisturí se extrajeron Macroquistes enteros que fueron sometidos a solución salina fosfatada (PBS) y conservados a 4 °C. El lisado de Macroquistes (LMS) se obtuvo mediante el método descrito por Céspedes (2013) y Sam et al (1988).

Se utilizaron 36 ratones domésticos (*Mus musculus*) machos, de 4 a 6 meses de edad, con peso promedio de 150 g y provenientes de las zonas altoandinas de la comunidad de Santa Bárbara, Huancavelica. Los ratones fueron instalados en jaulas y desparasitados. Luego fueron inoculados, vía subcutánea, con un lisado de Macroquistes de *S. aucheniae* en dosis de 0.5 y 1 ml con una concentración de 100, 50 y 0 µg de proteína de Macroquistes por gramo de peso vivo para los tratamientos 1, 2 y 3, respectivamente (n=12 ratones por tratamiento). En el grupo testigo se inyectó únicamente suero fisiológico.

Las evaluaciones se realizaron a los 4, 8, 10, 12 y 20 horas pos inoculación. Se registró la temperatura rectal con un termómetro digital, la frecuencia respiratoria con ayuda de un estetoscopio, y el porcentaje de supervivencia. Se sacrificó un ratón por tratamiento en cada periodo de evaluación mediante incisión primaria, según Aluja (2002). El protocolo fue certificado por el Comité de Ética de Educación y Ciencias de la Salud para la Investigación de la Universidad Nacional de Huancavelica con resolución N° 0691-2014-CECSI-UNH. En la necropsia se tomaron muestras de pulmón, hígado, riñón y corazón para el examen histopatológico. Los tejidos fueron teñidos con hematoxilina-eosina. Se hicieron cortes de 4-5 micras de espesor y la lectura histopatológica se hizo en microscopio óptico, según Vilca et al (2013).

Se utilizó el diseño completamente al azar y la prueba de Tukey ($p < 0.05$) para la comparación de medias. Los datos se procesaron en el programa de SAS v. 7.

1.3. Resultados

Los ratones sometidos al tratamiento 1, con inóculo 10% y a dosis 1 ml, presentaron una mayor toxicidad y mortalidad al lisado del inóculo de Macroquistes, presentando temperatura corporal disminuida y alteración en la frecuencia respiratoria, llegando a morir entre las 4 y 6 h de la inoculación (Tabla 1). Los ratones del tratamiento 2 con inóculo 5% y a dosis 0.5 ml, presentaron los efectos tóxicos y mortalidad a partir de las 8 a 10 h de la inoculación, muriendo dentro de las 20 horas de la inoculación. En ambos tratamientos se observó inestabilidad, anorexia, postración y diarrea intensa. Los ratones del tratamiento 3 (testigo, inoculados con suero fisiológico) no presentaron signos clínicos de toxicidad.

Tabla 1. Toxicidad y letalidad de dos concentraciones y dos dosis del lisado de Macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* en ratones domésticos (n=12 por tratamiento).

Tratamientos	Dosis	Frecuencia respiratoria (Resp/min)	Temperatura rectal (°C)	Supervivencia (%)
T1 - Inóculo 10%	0.5 ml	64,2 ± 2,0 ^b	19,5 ± 2,3 ^b	0
	1.0 ml	31,3 ± 3,5 ^a	10,1 ± 1,3 ^a	0
T2 - Inóculo 5%	0.5 ml	116,3 ± 2,5 ^c	32,8 ± 3,3 ^c	0
	1.0 ml	142,3 ± 1,2 ^c	39,2 ± 0,8 ^c	0
T3 – Suero fisiológico	0.5 ml	156,4 ± 1,8 ^c	38,1 ± 0,8 ^c	100
	1.0 ml	155,3 ± 2,6 ^c	38,1 ± 0,1 ^c	100

^{a,b,c} Superíndices diferentes dentro de columnas indican diferencia estadística (p<0.05)

Los ratones de los tratamientos 1 y 2 que recibieron el inóculo presentaron diversas alteraciones morfológicas e histopatológicas, tales como congestión, necrosis, alteraciones vasculares y degeneración celular. Asimismo, en los riñones hubo presencia de tumefacción turbia del epitelio tubular cortical renal y severa congestión e hinchazón aguda del epitelio de los tubulis, en el hígado se apreció congestión y pérdida de la citoarquitectura trabecular, en tanto que en pulmones y corazón se observó alteraciones morfológicas como incremento de tamaño y cambio de color tisular. En suma, el riñón y el hígado fueron los órganos más afectados. Por otro lado, los ratones del tratamiento testigo no presentaron alteraciones evidentes (Tabla 2).

Tabla 2. Alteraciones morfológicas (%) de órganos internos de ratones inoculados con un lisado de Macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* (n=12 por tratamiento).

Tratamientos	Dosis	Hígado	Riñón	Corazón	Pulmón
T1 - Inóculo 10%	0.5 ml	24,3	42,0	14,0	12,5
	1.0 ml	22,4	41,5	10,2	16,4
T2 - Inóculo 5%	0.5 ml	14,5	34,6	8,9	12,3
	1.0 ml	16,8	36,2	10,8	14,4
T3 – Suero fisiológico	0.5 ml	0	0	0	0
	1.0 ml	0	0	0	0

1.4. Discusión

Los signos de toxicidad y letalidad encontrados en los ratones domésticos por efecto de la inoculación del LMS fueron compatibles con los reportados por Sam et al (1998) y Granados et al. (2007). Las alteraciones clínicas y hallazgos histopatológicos observados en los tratamientos 1 y 2 se deben a las propiedades hemolíticas, hemaglutinantes y neuoparalizantes de los Macroquistes (Franklin et al., 2003).

El tiempo de supervivencia por efecto del inóculo fue similar a las 12-27 h observadas por Vilca et al. (2013) al inocular conejos inoculados con lisados de Macroquistes obtenidos de carne de alpaca sometida a procesos de ahumado y curado.

Los signos clínicos y las alteraciones histopatológicas en los ratones de los grupos tratados fueron similares a los observados en el estudio de Sam et al (1998) utilizando extractos de *S. aucheniae* en conejos a dosis de 50 mg/ml, así como en otros trabajos (Leguía et al., 1990; Mansilla, 1993; Céspedes et al., 2013). Las lesiones en riñones e hígado fueron similares con el reporte de Céspedes et al (2013).

El mayor grado de lesiones observado en riñón e hígado fue consecuencia de la actividad neurotóxica, que altera las membranas celulares y libera mediadores inflamatorios que producen hipertermia (Lesk, 2000; Godoy et al., 2007).

1.5. Conclusiones

El inóculo de lisado de Macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* fue tóxico y letal para los ratones domésticos, quienes no sobrevivieron por más de 20 horas de la inoculación; así mismo, el mayor grado de lesiones histopatológicas se observó en el riñón y el hígado.

1.6. Referencias bibliográficas

- Aluja A. (2002). Técnicas de necropsia en animales domésticos. México DF: El Manual Moderno.
- Céspedes V., Cristhian, Vilca L., Miguel, Ramos D., Daphne, Sam T., Rosa, & Lucas L., Juan. (2013). Saneamiento y detoxificación de carne de alpaca (*Vicugna pacos*) con sarcocistosis mediante tratamientos físicos y químicos de uso doméstico. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 24(3), 404-406. doi: 10.15381/rivep.v24i3.2591
- Franklin, R. P., MacKay, R. J., Gillis, K. D., Tanhauser, S. M., Ginn, P. E., & Kennedy, T. J. (2003). Effect of a single dose of ponazuril on neural infection and clinical disease in *Sarcocystis* neurona-challenged interferon-gamma knockout mice. Veterinary parasitology, 114(2), 123-130. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(03\)00127-4](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(03)00127-4)
- Guerrero C. Hernández J, Alva J. (2004). *Sarcocystis* en alpacas. Rev. Fac Med Vet Lima 21: 69-76.
- Godoy Z., R., Vilca L., M., Gonzáles Z., A., Leyva V., V., & Sam T., R. (2007). Saneamiento y detoxificación de carne de llama (*Lama glama*) infectada con *Sarcocystis aucheniae* mediante cocción, horneado, fritura y congelado. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 18(1), 51-56. <https://doi.org/10.15381/rivep.v18i1.1275>
- Granados Z., L., Vilca L., M., & Sam T., R. (2007). Saneamiento y detoxificación de carne de llama (*Lama glama*) infectada con *Sarcocystis aucheniae* mediante métodos químicos: marinado, ahumado, curado seco y curado húmedo. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 18(1), 57-63. <https://doi.org/10.15381/rivep.v18i1.1277>
- Jurado J. (2009). Respuesta inmune en conejos a dos tamaños de *Sarcocystis aucheniae*. Tesis pregrado. Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.
- Lesk A. (2000). Introduction to protein architecture: the structural biology of proteins. UK: Cambridge Institute for Medical Research, University of Cambridge.
- Leguía G, Guerrero C, Sam R, Rosadio R. (1990). Patología de *Sarcocystis aucheniae* en alpacas infectadas experimentalmente. MV Rev. Ciênc Vet 6(3): 11-13.
- Mansilla D. (1993). Efecto histopatológico del lisado de Macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* en ratones, conejos y cobayos. Tesis pregrado. Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.

- Sam R, Mansilla I, Morales C, Ramírez A. (1998). Efecto tóxico de Macroquistes de *Sarcocystis aucheniae* en ratones, cobayos y conejos. Rev. Inv. Pec IVITA 9(2): 11-18.
- Saadoun, A., & Cabrera, M. C. (2008). A review of the nutritional content and technological parameters of indigenous sources of meat in South America. Meat science, 80(3), 570–581. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.03.027>
- Salvá, B. K., Zumalacárregui, J. M., Figueira, A. C., Osorio, M. T., & Mateo, J. (2009). Nutrient composition and technological quality of meat from alpacas reared in Peru. Meat Science, 82(4), 450-455. <https://doi.org/10.1016/J.MEATSCI.2009.02.015>
- Uzuriaga S, M., Sam T., R., Manchego S., A., & Alvarado S., A. (2008). Desarrollo de estadios asexuales de *Sarcocystis aucheniae* en cultivo de células. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 19(1), 49–53. <https://doi.org/10.15381/rivep.v19i1.1193>
- Vilca L., M., Durán O., J., Ramos D., D., & Lucas L., J. (2013). Saneamiento y eliminación de la toxicidad de carne de alpaca (*Vicugna pacos*) con sarcocistiosis mediante ahumado y curado. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 24(4), 537–543. <https://doi.org/10.15381/rivep.v24i4.2740>

Capítulo II

RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE SALMONELLA SPP, ESCHERICHIA
COLI AISLADAS DE ALPACAS (*Vicugna pacus*) CON Y SIN DIARREA

2. RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE SALMONELLA SPP, ESCHERICHIA COLI AISLADAS DE ALPACAS (*Vicugna pacus*) CON Y SIN DIARREA

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF SALMONELLA SP, ESCHERICHIA COLI ISOLATED FROM ALPACAS (*Vicugna pacus*) WITH AND WITHOUT DIARRHEA

Victor Carhuapoma De la cruz

Universidad Nacional Huancavelica Perú

yachayruacc@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-4330-6099>

Nicasio Valencia Mamani

Universidad Nacional Huancavelica Perú

valencian955@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-9408-7770>

Teresa Huaman Gonzales

Universidad Nacional Huancavelica Perú

claudia.cortez@upn.pe

 <http://orcid.org/0000-0003-2945-3874>

Rufino Paucar Chanca

Universidad Nacional Huancavelica Perú

rufipc@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0001-6820-6185>

Epifanio Lizana Hilario

Universidad Nacional Huancavelica Perú.

epielh@outlook.com.pe

 <https://orcid.org/0000-0002-5909-2996>

Jorge L. Huere Peña

Universidad Nacional Mayor de San Marcos Perú.

jorge.huere@unh.edu.pe

 <http://orcid.org/0000-0002-3114-8134>

Resumen

A nivel mundial, el problema de resistencia a antibióticos es considerado de prioridad sanitaria pública y veterinaria. Por ello en el presente capítulo se evaluó la presencia de resistencia antibiótica frente a *Salmonella* sp., y *Escherichia coli* provenientes de crías de alpacas con y sin diarrea. La investigación fue de tipo descriptivo transversal múltiple. Se recolectaron 300 muestras de heces por hisopado rectal de crías de alpacas entre 10 a 60 días nacidas con y sin cuadros diarreicos provenientes de Comunidades Campesinas de Huancavelica-Perú. La presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. Se identificó mediante pruebas bioquímicas la susceptibilidad antibacteriana por método Kirby Bauer y se evaluaron 8 antibióticos usuales del mercado veterinaria. El 100% de muestras con diarreas fueron positivas a *Escherichia coli*, 40,0% *Salmonella* spp., 20% *Escherichia coli*-*Salmonella* spp. y muestras sin diarrea 57,0% positivas a *Escherichia coli*, 24,0% *Salmonella* spp., 19,0% *E. coli*-*Salmonella* spp. Las cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. fueron resistentes a Ampicilina ($10,4 \pm 0,3$), ($9,3 \pm 0,2$); Novomicina ($11,1 \pm 0,2$), ($11,2 \pm 0,1$); Tetraciclina ($8,2 \pm 0,1$), ($9,2 \pm 0,3$); Penicilina ($9,1 \pm 0,4$), ($11,1 \pm 0,3$); Gentamicina ($10,1 \pm 0,4$), ($10,2 \pm 0,3$) provenientes de muestras con diarrea y en muestras sin diarrea resistentes a Gentamicina ($10,3 \pm 0,1$), ($8,2 \pm 0,1$); Tetraciclina ($9,2 \pm 0,4$), ($8,2 \pm 0,4$); Ampicilina ($11,2 \pm 0,1$), ($9,3 \pm 0,2$); Penicilina ($10,2 \pm 0,4$), ($10,1 \pm 0,3$). Las cepas de *Salmonella* spp., y *Escherichia coli* aisladas de crías de alpacas con y sin diarreas evidencian resistencia antibacteriana a múltiples antibióticos usados en la veterinaria.

Palabras clave: Alpaca, *Salmonella* spp, *Escherichia Coli*, resistencia antibiótica.

Abstract

Globally, the problem of antibiotic resistance is considered a public health and veterinary priority. Therefore, in this chapter we evaluated the presence of antibiotic resistance against *Salmonella* sp. and *Escherichia coli* from alpaca offspring with and without diarrhea. The research was of a multiple cross-sectional descriptive type. Three hundred stool samples were collected by rectal swabbing from alpaca calves between 10 and 60 days old with and without

diarrhea from rural communities of Huancavelica-Peru. The presence of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. was identified by means of biochemical tests for antibacterial susceptibility by Kirby Bauer method and 8 usual antibiotics in the veterinary market were evaluated. 100% of samples with diarrhea were positive to *Escherichia coli*, 40.0% *Salmonella* spp., 20% *Escherichia coli*-*Salmonella* spp. and samples without diarrhea 57.0% positive to *Escherichia coli*, 24.0% *Salmonella* spp, 19.0% *E. coli*-*Salmonella* spp. The strains of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. were resistant to Ampicillin (10.4 ± 0.3), (9.3 ± 0.2); Novomycin (11.1 ± 0.2), (11.2 ± 0.1); Tetracycline (8.2 ± 0.1), (9.2 ± 0.3); Penicillin (9.1 ± 0.4), (11.1 ± 0.3); Gentamicin (10.1 ± 0.4), (10.2 ± 0.3) from samples with diarrhea and in samples without diarrhea resistant to Gentamicin (10.3 ± 0.1), (8.2 ± 0.1); Tetracycline (9.2 ± 0.4), (8.2 ± 0.4); Ampicillin (11.2 ± 0.1), (9.3 ± 0.2); Penicillin (10.2 ± 0.4), (10.1 ± 0.3). The strains of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* isolated from alpaca calves with and without diarrhea showed antibacterial resistance to multiple antibiotics used in veterinary medicine.

Keywords: alpaca, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, antibiotic resistance.

2.1. Introducción

La crianza de alpacas para las familias alto andinas del Perú es una actividad de gran importancia socioeconómica, ya que aportan carne de alto valor proteico con bajo contenido de colesterol, y su fibra de gran demanda en mercado nacional y mundial (Rosadio et al., 2012; Siuce et al., 2015). Más del 85% de la crianza de alpacas en el Perú está distribuida en las Comunidades Campesinas y en pequeños productores que viven en condiciones de extrema pobreza y con carencias de asesoramiento técnico, afrontando grandes pérdidas económicas por problemas patológicos y elevadas mortalidades por etiologías parasitarias, bacterianas y vírales (Lucas et al., 2016). Las elevadas tasas de mortalidad en las crías de alpacas llegan de 12 a 50%, principalmente a causa de problemas diarreicos enteropatógenos de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. (Ramírez, 1990; Rosadio et al., 2012), y la resistencia de los antibacterianos frente a *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. es de preocupación mundial por las serias

repercusiones que implica en la salud pública y la producción animal, concebidos por condiciones del uso inadecuado e indiscriminado de los antibacterianos (Yagui, 2018).

Desde el enfoque en la producción animal, el uso de los antibióticos se ha incrementado rápidamente, generando un riesgo de bacterias resistentes (Centeno et al., 2018), debido a que estas bacterias posiblemente sufrieron modificaciones genéticas de su mecanismo de resistencia como inactivación enzimática, receptores alterados y transporte del antibiótico alterado, lo cual hacen la permanencia de genotipos bacterianos resistentes a *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. y un agravante mayor es que existen escasos estudios orientados a la producción animal que posiblemente podrían estar relacionados con lo reportado en la salud humana (Schwarz et al., 2017).

La *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* son patógenos de importancia clínica en la Salud Animal en los andes del Perú, por ser el agente causal de patologías que cursan con disfunción intestinal, generando el complejo diarreico neonatal en las alpacas, lo cual hace complejo su tratamiento terapéutico (Silvera et al., 2012; Rosadio et al., 2012). Diversos estudios reportan un aumento de la resistencia antimicrobiana y mínimas posibilidades de sensibilidad a diferentes antibióticos frente a microorganismos patógenos de *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* en las especies de aves, porcinos, cobayos, bovinos y animales de silvestria como los monos, generando grandes pérdidas del valor genético y socioeconómicas en los criadores (Oha, 2012; Medina et al., 2017; Siever, 2018).

No existen estudios relacionados sobre el uso de antibióticos en el área de veterinaria frente a *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* provenientes de crías de alpacas con y sin enteropatías diarreicas, a pesar de que mundialmente Perú constituye una actividad de gran importancia para el mercado textil y cárnico, siendo estos microorganismos de importancia clínica emergentes en la producción de alpacas. Se presume que pueden existir casos de cepas con fenotipos de resistencia similares en alpacas a las que existen en las especies de pollos, porcinos, bovinos y especies domésticos (Ortiz, 2011), lo cual posibilitaría que el uso de diferentes antibióticos antibacterianos en el tratamiento terapéutico en las crías de alpacas con

enteropatías diarreicas (La salmonelosis y *Escherichia coli*) no sean eficaces en las comunidades de zonas alto andinas del Perú.

Ante los aspectos sostenidos, nace la necesidad de evaluar la resistencia antibiótica de *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* en crías de alpacas con y sin enteropatías diarreicas, lo cual permitirá en un futuro que se implementen acciones para la reducción del uso de antimicrobianos; de igual forma, prevenir la generación y diseminación de bacterias resistentes a los antibióticos a través una aplicación de buenas prácticas sanitarias y del buen uso de antimicrobianos.

2.2. Metodología

Para la investigación se muestrearon por conveniencia y según el teorema del límite central un total de 300 muestras de crías de alpacas con cuadros diarreicos y 300 muestras de crías sin cuadros diarreicos de raza Huacaya, en edades comprendidas entre 10 a 60 días de nacidas sin distinción de sexo, debido a que no se conoció la población de natalidad de crías porque es progresivo y temporal. Se tomaron en cuenta 6 Comunidades Campesinas alpaqueras de Huancavelica-Perú, ubicadas por encima de los 4 200 msnm, con temperaturas que oscilan entre de 5,6 a 8,5 °C. La actividad se llevó a cabo entre los meses de enero a marzo de 2018, de igual forma se tomaron en cuenta el acta de autorización comunal y el consentimiento informado por los dueños de los rebaños bajo estudio.

Las muestras fueron recolectadas por triplicado por animal muestreado mediante el hisopado rectal en criobales estériles suspendidos en medio de transporte Stuart (búfer peptonada) en horarios de madrugada (6.00 am a 7.30 am) sin la presencia de rayos solares y con eficiente manejo de bioseguridad, rotulados y registrados (Carhuapoma et al., 2018), y fueron transportados en un medio refrigerante a temperatura 8-12 °C (caja tecnopor con hielo biológico) al Laboratorio de Salud Animal (Área de Microbiología) de la Universidad Nacional de Huancavelica- Perú, para proceder a los estudios bacteriológicos.

El aislamiento de los microorganismos enteropatógenos presentes en las muestras de hisopados rectales se realizó en un pool de inóculos (triplicado muestreado), en tubos con tapa rosca enriquecidas con caldo de infusión cerebro corazón (BIH), haciendo grupos de 300 inóculos sin cuadros diarreicos y 300 inóculos con cuadros diarreicos e incubados a 37 °C/24. Los inóculos enriquecidos se sembraron independientemente por agotamiento en medios selectivos de agar MacConkey y Eosina azul de metileno (EMB) para *Escherichia coli* y *Salmonella-Shigella* (SS), Xilosa lisina desoxicolato XHD para *Salmonella* spp., incubándose a 37 °C/48 h en referencia a la norma ISO 6579:2002.

Para la óptima identificación y diferenciación de las cepas de *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* se realizó la caracterización microscópica (coloración Gram) y macroscópica como: forma, consistencia y elevación (Murcia, 2018). Las colonias sospechosas se inocularon en medios de agar Hierro tres azúcares (TSI), Lisina (LIA), Citrato de Simmons (HS₄), sulfuro-indol-motilidad (SIM), catalasa y Voges Proskauer e se incubaron a 37°C / 24 horas. Los resultados obtenidos fueron cotejados mediante el Manual of Systematic Bacteriology (Bergey's, 2008) y el Manual de Procedimientos de Laboratorio Zurita2013 para su identificación.

En referencia a los resultados del aislamiento, se seleccionaron cultivos positivos a *Escherichia coli* (300), *Salmonella* spp. (120) provenientes de muestras con diarreas y *Escherichia coli* (172), *Salmonella* spp. (72) sin diarreas; a partir de ello se prepararon pool de inóculos madre para *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y se replicaron a 320 inóculos independientemente para cada microorganismo en estudio enriquecidas en caldo infusión Cerebro Corazón (BIH) e incubados a 37 °C /12 horas (Carhuapoma et al., 2018).

La sensibilidad antibiótica se realizó mediante el Método de Kirby Bauer, para ello se cultivaron cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. con un hisopo estéril de manera homogénea en placas Petri con Agar Mueller Hilton, para un total de 320 cultivos por cada microorganismo distribuidos a 40 cultivos por antibiótico como repeticiones (observaciones de independencia de sensibilidad por antibiótico en estudio), con la finalidad de uniformizar el estudio, quedando los siguientes grupos: con enteropatías diarreicas, *Escherichia coli* (n= 320 [40

repeticiones / antibiótico]); *Salmonella* spp. (n=320 [40 repeticiones/antibiótico]); sin enteropatías diarreicas, *Escherichia coli* (n= 320 [40 repeticiones / antibiótico]); *Salmonella* spp. (n=320 [40 repeticiones / antibiótico]).

Los discos antimicrobianos se colocaron de manera independiente incubándose a 37 °C/24 horas, se probaron los antibióticos más utilizados en el mercado farmacéutico veterinario (A-Gentamicina (30µg), B-Novomicina (5µg), C-Tetraciclina(30µg), D-Enrofloxacina(10µg), E-Ampicilina(10µg), F-Amikacina(30 µg), G- Ceftriaxona (30µg) y H- Penicilina(10µg)), posterior a ello se leyeron los halos de inhibición del crecimiento y los resultados se interpretaron en referencia a los puntos de corte propuestos por el manual de European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, 2018).

La prevalencia de microorganismos de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. presentes en crías de alpacas con y sin diarreas se realizó mediante la comparación de medias y la distribución de frecuencia (estadística descriptiva), a través de una investigación descriptiva transversal múltiple. Con el fin de determinar la sensibilidad antibiótica entre antibióticos y microorganismos se realizó el análisis de varianza y la prueba de Tukey ($P < 0.01$) mediante el diseño de arreglo factorial múltiple de 8×2 , utilizando el programa SPSS v. 20.

2.3. Resultados

De un total de 300 muestras analizadas de crías de alpacas con diarreas, se encontraron positivos el 100% (300/300) a *Escherichia coli*, 40,0% (120/300) *Salmonella* spp. y 20% (120/300) asociados a *Escherichia coli*-*Salmonella* spp. con mayor porcentaje de presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. De igual forma, 300 muestras evaluadas de crías de alpacas sin presencia de diarreas se encontraron positivos en 57,0% (172/300) a *Escherichia coli*, 24,0% (24/300) a *Salmonella* spp. y 19,0% (56/300) asociados a *E. coli*-*Salmonella* spp. (Tabla 1), apreciándose con menor prevalencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. a las muestras de crías de alpacas con diarreas.

Tabla 1. Distribución porcentual de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. asociada de *Escherichia coli*-*Salmonella* spp., aislados de muestras con diarreas (n= 300) y sin diarreas (n= 300) en crías de alpacas.

Tipos de muestras	<i>Escherichia coli</i>				<i>Salmonella spp</i>				<i>E. coli-Salmonella spp</i>			
	P (+)	N (-)	% (+)	% (-)	P (+)	N (-)	% (+)	% (-)	P (+)	N (-)	% (+)	% (-)
Con diarrea	300	0	100	0	120	180	40	60	60	0	20	0
Sin diarrea	172	128	57	43	72	228	24	76	56	224	19	81

Leyenda: P (+) Positivo, N (-) Negativo.

Los microorganismos patógenos de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. encontrados en las muestras rectales de crías de alpacas con enteropatías diarreicas demostraron diferencias estadísticas ($P \leq 0.01$) de diámetros de halos de inhibición de resistencia frente a los antibióticos de Gentamicina, Novomicina, Tetraciclina, Ampicilina y Penicilina; demostrando multiresistencia antibiótica para ambos microorganismos, mientras que se observó sensibilidad antibiótica en ambos microorganismos en los antibióticos de Enrofloxacina, Amikacina y Ceftriaxona, demostrando diámetros de halos inhibición dentro del rango de los estándares sensibilidad (Tabla 2), de un total de 8 antibióticos evaluados.

Tabla 2. Medias y desviación estándar de resistencia antibiótica de *Escherichia coli* (n= 320) y *Salmonella* spp. (n= 320) provenientes de crías de alpacas con diarreas.

Tipos antibióticos	N	Cepas de <i>Escherichia Coli</i>			N	Cepas de <i>Salmonella sp</i>		
	320	S	I	R	320	S	I	R
A- GENTAMICINA	40	0,0	0,0	10,1± 0, 4 ^a	40	0,0	16,2± 0, 1 ^a	10,2± 0, 3 ^a
B- NOVOMICINA	40	0,0	0,0	11,1± 0,2 ^b	40	0,0	16,4± 0,5 ^b	11,2± 0,1 ^b
C- TETRACICLINA	40	0,0	16,2± 0, 2 ^a	8,2± 0,1 ^{ab}	40	0,0	15,1± 0, 2 ^a	9,2± 0,3 ^{ab}
D- ENROFLOXACINA	40	20,2± 0,3 ^{ab}	16,1± 0,6 ^b	0,0	40	19,3± 0,1 ^b	14,3± 0,1 ^b	0,0
E- AMPICILINA	40	0,0	14,1± 0,1 ^{ac}	10,4± 0,3 ^c	40	0,0	16,2± 0,2 ^{ac}	9,3± 0,2 ^c
F- AMIKACINA	40	23,1± 0, 4 ^a	0,0	0,0	40	19,1± 0, 4 ^a	0,0	0,0
G -CEFTRIAXONA	40	21,3± 0, 3 ^a	15,2± 0,2 ^{ac}	0,0	40	23,3± 0, 3 ^a	0,0	0,0
H -PENECILINA	40	0,0	0,0	9,1± 0,4 ^{ab}	40	0,0	0,0	11,1± 0, 3 ^a

a, b, c Superíndices diferentes dentro de columnas indican diferencia estadística a la prueba de Tukey ($P \leq 0.01$).

La *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. aisladas de muestras de heces de crías de alpacas sin enteropatías diarreicas presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) de resistencia antibiótica frente a Gentamicina, Tetraciclina, Ampicilina, Penicilina y Novomicina, y fueron sensibles a Novomicina, Enrofloxacin, Amikacina y Ceftriaxona (Tabla 3).

Tabla 3. Medias y desviación estándar de resistencia antibiótica de *Escherichia coli* (n= 320) y *Salmonella* spp. (n= 320) provenientes de crías de alpacas sin diarreas.

Tipos antibióticos	N	<i>Escherichia Coli</i>			N	<i>Salmonella</i> spp		
	320	S	I	R	320	S	I	R
A- GENTAMICINA	40	0,0	16,2± 0,2 ^b	10,3± 0,1 ^a	40	0,0	17,2± 0,2 ^a	8,2± 0,1 ^b
B- NOVOMICINA	40	22,1± 0,3 ^b	14,4± 0,5 ^b	0,0	40	0,0	14,4± 0,2 ^b	10,3± 0,3 ^a
C- TETRACICLINA	40	0,0	16,2± 0,2 ^a	9,2± 0,4 ^{ab}	40	0,0	16,2± 0,4 ^a	8,2± 0,4 ^{ab}
D- ENROFLOXACINA	40	20,2± 0,3 ^{ab}	15,2± 0,2 ^b	0,0	40	20,1± 0,2 ^{ab}	14,3± 0,2 ^b	0,0
E- AMPICILINA	40	0,0	15,2± 0,3 ^{ac}	11,2± 0,1 ^c	40	0,0	17,1± 0,4 ^{ac}	9,3± 0,3 ^c
F- AMIKACINA	40	22,1± 0,4 ^a	14,2± 0,3 ^{ac}	0,0	40	21,1± 0,4 ^a	0,0	0,0
G -CEFTRIAXONA	40	20,3± 0,3 ^a	16,2± 0,1 ^{ac}	0,0	40	22,3± 0,3 ^a	0,0	0,0
H -PENECILINA	40	0,0	0,0	10,2± 0,4 ^a	40	0,0	0,0	10,1± 0,3 ^a

a, b, c Superíndices diferentes dentro de columnas indican diferencia estadística a la prueba de Tukey ($p < 0.01$). S Sensible, I Intermedio, R Resistencia.

2.4. Discusión

Los altos índices de prevalencia de *Escherichia coli* (100%,57%), *Salmonella* spp. (40%,19%) y la asociación *Escherichia coli*-*Salmonella* spp. (20%, 19%) en las muestras rectales de crías de alpacas con y sin enteropatías diarreicas se deben posiblemente a que los productores de alpaca no están realizando un uso terapéutico eficiente y de manera responsable, y se asume que esto podría estar relacionado al uso de productos antibacterianos de mala calidad, lo cual hace difícil el control patológico, incrementando su incidencia. Lo anterior coincide con lo reportado por Carhuapoma et al. (2018) y Carhuapoma et al. (2019), además las prevalencias de estos microorganismos patógenos bacterianos estarían muy relacionados a animales que nacen con bajos niveles inmunológicos y de madres con

condiciones caquécticas, lo cual les hace que sean muy susceptibles a *Escherichia coli* y *Salmonella* spp., siendo una patología de importancia clínica en la crianza de alpacas (Rosadio et al., 2012).

Lucas et al. (2016) identificaron *Escherichia coli* (8,0%), coronavirus (53,3%), rotavirus (36,6%), *Salmonella* spp. (18,3%) y asociados de bacterias y parásitos 23,3%, virus y bacterias 11,7% y triples asociados 38,3% en crías de alpacas con cuadros diarreicos. De igual forma, Morales y col., (2017), aislaron *Escherichia coli* 47.78% en alpacas con diarrea y 58,33% sin diarrea, mientras que Chuquizuta et al (2017) detectaron *Escherichia coli* (40,84%), *Salmonella* spp. (39.27%) en cuyes gazapos muertos, y Carhuapoma et al. (2018) encontraron la presencia de *Escherichia coli* en 80% en crías de alpacas con diarreas. Carhuapoma et al. (2019) reportan presencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. 12% en machos y hembras, asociados de *Escherichia coli*-*Salmonella* spp. en un 10%, para un total de 104 crías con diarreas; los resultados encontrados en este estudio resultan ser de mayor prevalencia en ambos microorganismos frente a los reportados.

Cebra et al. (2003), mencionaron que la salmonela en diarreas de alpacas no es una causa común, pero Whitehead y Anderson, (2006) detectaron diversas especies de *Salmonella* en animales con casos de diarreas; posteriormente, Lucas et al (2016) y Carhuapoma et al. (2019) manifiestan que la presencia de salmonela en cuadros diarreicos en alpacas es muy frecuente en rebaños mixtos (aves, cuyes, porcinos). Lo anterior indica que esta bacteria es facultativa, lo cual hace que su ciclo de transmisión epidemiológica sea muy viable y su patogenia sea frecuente en los animales domésticos, así como en las crías de alpacas.

Zambrano et al. (2013) identificaron *Salmonella* spp. en 23,5% y 32,4% en muestras de superficie corporal e hisopado cloacal en pollos de engorde. De igual forma, Salvatierra et al (2015) presenciaron *Salmonella* spp. $6,3 \pm 2,4\%$ en carcasas del vientre y 1,8% en sub-muestras de piel de cabeza en porcinos, y Talavera et al. (2011) reportaron el 1,34% de *Salmonella* del grupo B (*Typhimurium*) en muestras de hígados de pollo para la venta. Los resultados encontrados en la investigación son similares con algunos reportados, pero difieren a otros debido a que se encontraron mayor porcentaje Enteropatógenos de *Escherichia coli*, *Salmonella*

spp. y de *Escherichia coli*-*Salmonella* spp. en crías de alpacas; por ello, la existencia de *Salmonella* spp. y *E. coli*-*Salmonella* spp. se debe a agentes causales de patologías que cursan con disfunción intestinal, generando el cuadro diarreico agudo neonatal en las alpacas (More et al., 2011; Mancera et al., 2004; Ruiz et al., 2014) por ser la *Salmonella* un potencial de infección que pertenece a la familia enterobacteriaceae (Tacchini et al., 2010; Ríos, 2012) y al existir muy pocos estudios de casos clínicos de infestación de salmonelosis en alpacas, a pesar de que esta patología zoonótica es de importancia clínica para la salud pública y se presume que podría estar presentes en los serovares *Typhimurium* e *Enteritidis*, debido a las características bioquímicas, macromicroscópicas, la colonización y a las manifestaciones clínicas visualizadas en el estudio.

La multi-resistencia antibiótica presentada por *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. frente a los antibacterianos de Gentamicina, Tetraciclina, Ampicilina, Penicilina y Novomicina, evidencian que los antibióticos probados posiblemente sufrieron modificaciones de su mecanismo de acción como: inactivación enzimática de antibióticos, impermeabilidad de la membrana o pared celular, expulsión por mecanismos activos del antibiótico y modificación del sitio blanco del antibiótico en la bacteria, como se reporta en la literatura, lo cual reduce las opciones terapéuticas (Mancera et al., 2004; Schwarz et al., 2017; Ríos, 2012; Gatica y Rojas, 2018).

Además, las altas tendencias de resistencia de 8 antibióticos probados en el estudio estarían relacionados a la aplicación deficiente y el uso inapropiado de los antibióticos que vienen practicando los productores de alpacas en sus rebaños, además de la masiva distribución irresponsable de fármacos por los programas nacionales fomentados por profesionales no calificados, lo cual hace la tendencia progresiva de resistencia antibiótica en forma bidireccional entre el humano y el animal. Lucas et al. (2016), reportan que la *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* serían posiblemente resistentes a los antibacterianos de primera línea como la Fosfomicina, Enrofloxacin, Ciprofloxacina, Gentamicina, Oxitetraciclina, Penicilina, Ceftazidima y Trimetoprim sulfametoxazol porque son de uso más frecuente en veterinaria e indiscriminadamente desde muchos años atrás en las especies de bovinos, pollos, gorrinos y cuyes, por ello no sería recomendable el uso como antibióticos de primera elección para el

tratamiento del complejo diarreico en las crías de alpacas sin antes realizar las pruebas de susceptibilidad en laboratorios (Pinto et al., 2010; Siuce et al., 2015; Carhuapoma et al., 2019).

Barboza y Suarez, (2012), encontraron resistencia antibiótica en un 30% en Gentamicina, Norfloxacin y Tetraciclina en *Salmonella* spp. aisladas de casos de Tifosis aviar. Cordero et al (2002), reportaron multi-resistencia en 84.4% a Tetraciclina, Gentamicina, Ampicilina y Amikacina en bacterias Gram positivas y negativas de 11 antibióticos probados, y Fuente et al., (2015) encontraron una resistencia del 91% en cepas de *Salmonella* spp. a Ampicilina, Nitrofurantoína y 55% a Cefalotina y Cloranfenicol, mientras que Quesada et al (2016) reportaron multi-resistencia de *Salmonella* spp. a los antibióticos de ácido Nalidíxico, Estreptomicina, Tetraciclina, Cloranfenicol, Ampicilina, Trimetoprim/sulfametoxazol, Gentamicina, Ciprofloxacina y Cefalosporinas. Estos reportes resultan similares a los resultados encontrados en este estudio, ya que coinciden casi con todos los antibióticos estudiados y estos mismos comportamientos de resistencia se pueden generar en los animales de sangre caliente (Castillo et al., 2014), por ello, la resistencia antibiótica de *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* podría ser una alarma epidemiológica en el campo veterinario (Rivera et al., 2012), ocasionados por falta de práctica en las pruebas de sensibilidad en los laboratorios antes de realizar los tratamientos en los animales y por la deficiente capacidad de conocimiento farmacológico de técnicos operarios y médicos veterinarios (Barboza y Suarez, 2012; Carhuapoma et al., 2018).

La sensibilidad antibiótica demostrada por las cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. aisladas de hisopado rectales de crías de alpacas con y sin enteropatías diarreicas frente a los antibacterianos de Enrofloxacin, Amikacina, Novomicina y Ceftriaxona, se debe a que posiblemente lo antimicrobianos no fueron de uso prolongado o indiscriminado en los rebaños (Carhuapoma et al., 2018), y que posiblemente no hayan generado la modificación de sus mecanismos de acción antibiótica, así como los genes de DNA girasa y topoisomerasa IV (Romeu Álvarez et al., 2012; Lee et al., 2003; Ruiz et al., 2014; Schwarz et al., 2017). De igual forma, Barrios et al (2016) encontró la *Escherichia coli* sensibles a Trimetoprim (98%), Gentamicina (95%) y fosfomicina (88%), Ciprofloxacino (85%), Cefadizina (79%) y resistente a Nitrofurantoína (85%) provenientes de crías de alpacas sanas y enfermas, resultados que

difieren con los resultados reportados en este estudio; por lo tanto, según los resultados encontrados en el estudio los 4 antibacterianos (Enrofloxacina, Amikacina, Novomicina y Ceftriaxona) que resultaron sensibles podría permitir ser específicos en el uso terapéutico de alpacas con y sin enteropatías diarreicas.

2.5. Conclusiones

Los aislamientos de *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* de crías de alpacas con y sin cuadros de diarrea mostraron multi-resistencia a los antibióticos más usados del mercado farmacéutico-veterinario, y solo 4 antibióticos resultaron susceptibles. Por lo tanto, se deben realizar estudios comparativos en las zonas altas andinas alpaqueras del Perú para la prevención y diseminación de la resistencia antibacteriana.

2.6. Referencias bibliográficas

- Barboza, D. y J. Suarez (2012). Sensibilidad a la Fosfomicina ante los diferentes agentes patógenos aislados en animales domésticos en Venezuela. En: Memorias de la XVI Reunión Científico Técnica de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico (AAVLD). Mar del Plata (Buenos Aires) Argentina. Buenos Aires (CF).
- Barrios-Arpi, Manuel, Siever Morales & Eglinton Villacaqui-Ayllon (2016). Susceptibilidad Antibiótica de Cepas de *Escherichia coli* en Crías de Alpaca con y sin Diarrea. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 27.2, 381-387. Online: <https://bit.ly/3a8CiKs>.
- Bergey's (2008). Manual of systematic bacteriology. Second Edition Volume Three The Firmicutes.
- Carhuapoma, DV, Mayhua MP, Valencia MN & Lizana HE. (2018). Antibacterial in vitro of effect *Urtica dioica* and *Piper angustifolium* in alpacas (*Vicugna pacus*) with diarrheal enteropathies. En: MOJ Anat Physiol 5, 160-162. Online: <https://bit.ly/2T4HLw1>.
- Carhuapoma, D., V., Valencia M., N., Chanca P., R., Mayhua M., P. H., Huaman J., R., & Lizana-Hilario, E. (2019). Efecto de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp en el crecimiento y mortalidad de crías de alpacas (*Vicugna **pacos***). En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 30.2, 946-953. Online: <https://bit.ly/2l2EeZ2>.

- Castillo, G., Koga, Y., Alvarado, A., Tinoco, R., & Fernández, D. (2014). Aislamiento e identificación bioquímica de cepas de *Pasteurella multocida* y *Gallibacterium anatis* en aves de producción con signos respiratorios. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 25.4, 516-522. Online: <https://bit.ly/2T4F4eo>.
- Cebra, C. K., Mattson, D. E., Baker, R. J., Sonn, R. J., & Dearing, P. L. (2003). Potential pathogens in feces from unweaned llamas and alpacas with diarrhea. En: Journal of the American Veterinary Medical Association 223.12, 1806-1808. Online: <https://bit.ly/2T6SrKS>.
- Centeno, S, Guillermo Salvatierra y Sonia Calle (2018). Detección de fenotipos de resistencia ACCSuT, BLEE y AmpC en Cepas de *Salmonella enterica* aisladas de infecciones en animales. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 29.2, 580-587. Online: <https://bit.ly/2HZbWOO>.
- Cordero Ruíz, DM, García Pérez, AL, Barreal González, RT, Jiménez Armada, J., & Rojas Hernández, N. (2002). Comportamiento de la infección nosocomial en las unidades de terapia en un período de 5 años. En: Revista cubana de Higiene y Epidemiología 40.2, 79-88. Online: <https://bit.ly/32w3Bf7>.
- EUCAST (2018). Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST Version 8.0. Inf. téc. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.
- Fuente M., Castañeda C., Cortes, V. y Espino, A. 2015. (2015). Análisis comparativo de la susceptibilidad de cepas de *Salmonella* sp aisladas de vegetales (*Lactuca sativa*) contra antibióticos, bacteriocinas de *Bacillus thuringiensis* y nisina. En: XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Guanajato- Facultad de Ciencias Biológicas. Salamanca España, págs. 1-4.
- Gatica Eguiguren, María de los Angeles y Hernán Rojas (2018). Gestión sanitaria y resistencia a los antimicrobianos en animales de producción. En: Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública 35, 118-125. Online: <https://bit.ly/2Vu4svw>.
- Lee, Y. J., Kim, K. S., Kwon, Y. K., & Tak, R. B. (2003). Biochemical characteristics and antimicrobials susceptibility of *Salmonella gallinarum* isolated in Korea. En: Journal of veterinary science 4.2, 161-166. Online: <https://bit.ly/2PvHlay>.
- Lucas L., J. R., Morales C., S., Barrios A., M., Rodríguez G., J., Vásquez C., M., Lira M., B., Torres L., B., Casas A., E., & Espinoza B., J. (2016). Patógenos involucrados en casos fatales de diarrea en crías de alpaca de la Sierra Central del Perú. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 27.1, 169-175. Online: <https://bit.ly/2looGll>.
- Mancera Martínez, A., Vázquez Navarrete, J., & Heneidi Zeckua, A. (2004). Fagotipificación de aislamientos de *Salmonella enteritidis* obtenidos de aves en México. En: Técnica Pecuaria en México, 42 (2), 287-294. Online: <https://bit.ly/3caGXNH>.

- Medina, Claudia, Siever Morales y Miluska Navarrete (2017). Resistencia antibiótica de enterobacterias aisladas de monos (*Ateles*, *Callicebus* y *Lagothrix*) en semicautiverio en un centro de Rescate, Perú. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 28.2, 418-425. Online: <https://bit.ly/3a7L2jW>.
- Morales C., S., Siu C., E., Ramírez R., P., & Navarro O., A. (2017). Determinación de serotipos de *Escherichia coli* aisladas de crías de alpacas (*Vicugna pacos*) con y sin diarrea en Huancavelica. En: REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria 18.9, 1-14. Online: <https://bit.ly/2T4MNbT>.
- More B, Juan, Manchego S, Alberto, Sandoval C, Nieves, Ramírez V, Mercy, Pezo C, Danilo, Chiok C, Kim Lam, & Rivera G, Hermelinda. (2011). Detección genómica y expresión de péptidos antimicrobianos (α -y β defensinas) en mucosa intestinal de crías de alpaca (*vicugna pacos*). En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 22.4, 324-335. Online: <https://bit.ly/385VOpB>.
- Murcia, M. (2018). Identificación de Enterobacterias. acceso 20de agosto del 2018. Disponible en:
file:///C:/Users/FAUSTO/Downloads/1682472836.Bact_identificaci%C3%B3n_bioqu%C3%ADmica_enterobacterias.pdf.
- Oha, R (2012). Anatomía patológica de las diarreas infecciosas en crías de alpaca (*Lama pacos*) en la SAIS Aricoma Ltda. 57». Tesis doct. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista: Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional del Altiplano, Puno. Perú.
- Ortiz, S (2011). Evaluación de algunos métodos de control de la mortalidad en crías de alpaca (*Lama pacos*) en explotaciones familiares. Tesis doct. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Pinto Jiménez, Chris Evelyn, Carmen Martín Espada y María Dolores Cid Vázquez (2010). Camélidos Sudamericanos: estado sanitario de sus crías. En: Revista Complutense de Ciencias Veterinarias 4.1, 37-50. Online: <https://bit.ly/2SQAVdJ>.
- Quesada, Adriana, Reginatto, Gabriel A, Ruiz Español, Ayelen, Colantonio, Lisandro D, & Burrone, María Soledad. (2016). Resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. En: Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública 33, 32-44. Online: <https://bit.ly/2Tpnmke>.
- Ramírez, A. (1990). «Colibacilosis entérica en crías de alpacas». En: Avances sobre investigación en salud animal camélidos sudamericanos. UNMSM. Bol Div No 23, pág. 64.
- Ríos, W (2012). Determinación del perfil de resistencia antibiótica de *Salmonella entérica* aislada de cerdos faenados en un matadero de Lima Metropolitana. Tesis doct. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

- Rivera Calderón, Luis Gabriel, Motta Delgado, Pablo Andrés, Cerón Urbano, Magda Farley, & Chimonja Coy & Faiber Andrés. (2012). Resistencia de la Salmonella a los antimicrobianos convencionales para su tratamiento. En: Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia 7.1, 116-129. Online: <https://bit.ly/2w9bw5V>.
- Romeu Álvarez, Beatriz, Salazar Jiménez, Paloma, Lugo Moya, Daysi, Rojas Hernández, Nidia M, & Eslava Campos, Carlos A. (2012). Susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos de *Escherichia coli* procedentes de ecosistemas dulceacuícolas. En: Revista Cubana de Medicina Tropical 64.2, 132-141. Online: <https://bit.ly/32iPiKC>.
- Rosadio A., R., Yaya L., K., Véliz A., Álvaro, & Quispe, T. (2012). Efecto protector de una vacuna polivalente anticlostridial sobre la mortalidad neonatal en alpacas. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 23.3, 299-306. Online: <https://bit.ly/2Tko2of>.
- Ruiz, D., Martha C Suárez y Catalina Uribe (2014). Susceptibilidad antimicrobiana in vitro de cepas de Salmonella spp. en granjas de ponedoras comerciales del departamento de Antioquia. En: Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 19.3, 297-305. Online: <https://bit.ly/2T7yz91>.
- Siever Morales, C. (2018). Identificación, serotipificación y resistencia de cepas de Salmonella entérica aisladas de cuyes (*Cavia porcellus*) clínicamente enfermos. En: REDVET - Revista electrónica de Veterinaria 19.1.
- Salvatierra R., G., Pinto J., C., Inga E., E., Siuce M., J., & Calle E., S. (2015). Detección de Salmonella sp en carcasas porcinas en camales de Lima, Perú. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 26.4, 682-688. Online: <https://bit.ly/3ab3Q1L>.
- Schwarz, Stefan, Anette Loeffler y Kristina Kadlec (2017). Bacterial resistance to Antimicrobial agents and its impact on veterinary and human medicine. En: Advances in Veterinary Dermatology 8, 95-110. Online: <https://bit.ly/386SElc>
- Silvera E, Perales R, Rodríguez J, López T, Gavidia C, Agapito J, Palacios C. (2012). Presencia de *Escherichia coli* O157 en crías de alpacas (*Vicugna pacos*). En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 23.1, 98-104. Online: <https://bit.ly/2TykQZl>.
- Siuce J., Manchego, A., Sandoval, N., More, J., Chiok, K., Pezo, D. y Rivera, E. (2015). Expresión de defensinas en yeyuno de crías de alpacas (*Vicugna pacos*) con enteropatías. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 26.2, 317-327. Online: <https://bit.ly/2T1ZaWa>.
- Tacchini A, María Del Mar, Caraffini F, Ana, Montamat C, María Soledad, Spitale A, Natalia, Bosio D, Yanina, & Minguez G, Angel. (2010). Empiema causado por *Salmonella typhimurium*. En: Revista chilena de enfermedades respiratorias 26.2, 91-94. Online: <https://bit.ly/3cecGxx>.
- Talavera Rojas, Martín, Reyes Rodríguez, Nydia Edith, Lagunas Bernabé, Salvador, Fernández Rosas, Pomposo, Morales Erasto, Vladimir, & Soriano Vargas E. (2011). Variabilidad

genética de aislamientos de *Salmonella typhimurium* (grupo B) obtenidos de hígados de pollo destinados para consumo humano. En: Revista mexicana de ciencias pecuarias 2.4, Online: <https://bit.ly/3c6Y1Ei>.

Whitehead, Claire E y David E Anderson (2006). Neonatal diarrhea in llamas and alpacas. En: Small Ruminant Research 61.2-3, 207-215. Online: <https://bit.ly/3abW6g4>.

Yagui, M. (2018). Resistencia antimicrobiana: nuevo enfoque y oportunidad. En: Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública 35.1, 7-8. Online: <https://bit.ly/3814xtb>.

Capítulo III

EFFECTO DE *ESCHERICHIA COLI* Y *SALMONELLA* SPP EN EL
CRECIMIENTO Y MORTALIDAD DE CRÍAS DE ALPACAS (*Vicugna*
Pacos)

3. EFECTO DE *ESCHERICHIA COLI* Y *SALMONELLA* SPP EN EL CRECIMIENTO Y MORTALIDAD DE CRÍAS DE ALPACAS (*Vicugna pacos*)

EFFECT OF *ESCHERICHIA COLI* AND *SALMONELLA* SPP ON THE GROWTH AND MORTALITY OF BABY ALPACAS (*Vicugna pacos*)

Victor Carhuapoma De la cruz

Universidad Nacional Huancavelica-Perú

yachayruacc@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-4330-6099>

Nicasio Valencia Mamani

Universidad Nacional Huancavelica-Perú

valencian955@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-9408-7770>

Rufino Paucar Chanca

Universidad Nacional Huancavelica-Perú

rufipc@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0001-6820-6185>

Paul Herber Mayhua Mendoza

Universidad Nacional Huancavelica-Perú

paul.mayhua@unh.edu.pe

 <https://orcid.org/0000-0002-0831-8502>

Rodrigo Huamán Jurado

Universidad Nacional Huancavelica-Perú

rodrigo.hueman@unh.edu.pe

 <https://orcid.org/0000-0002-5909-2996>

Epifanio Lizana Hilario

Universidad Nacional Huancavelica-Perú

epi_elh@outlook.com.pe

 <https://orcid.org/0000-0002-5909-2996>

Resumen

La diarrea en crías de alpacas continúa siendo una de las principales causas de mortalidad, principalmente ocasionados por bacterias entéricas. Pese a los avances en las últimas décadas en el manejo y prevención de diarrea, sin embargo, no están demostrados si estas bacterias

pueden influir negativamente en los parámetros productivos en esta especie de ahí en el capítulo se orientó a evaluar el efecto de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp en el crecimiento y mortalidad de crías de alpacas (*Vicugna pacos*). Se seleccionaron 104 crías de alpacas Huacaya con procesos diarreicos y con edad promedio de 10.0 ± 2 días, peso de 9.6 ± 0.5 kg y altura a la cruz de 85.0 ± 0.5 cm. Se tomaron muestras de hisopados rectales y se cultivaron en medios de cultivo selectivos de agares MacConkey, EMB, SS, XHD y BIH, y se hicieron pruebas bioquímicas. Con base a los resultados positivos a *E. coli* y *Salmonella* spp se seleccionaron 80 crías que fueron distribuidas en cuatro grupos: G1, *E. coli* (n=23); G2, *Salmonella* spp (n=17); G3, *E. coli* – *Salmonella* spp (n=12); G4, Testigo (n=28), positivos a uno o a los dos gérmenes y tratados con tetraciclinas. Los animales fueron pesados y medidos (altura a la cruz) a las 4 y 8 semanas del estudio y la mortalidad fue registrada. El peso y la talla corporal fueron más afectados en G1, G2 y G3 que en G4 ($p < 0.01$). Asimismo, la tasa de mortalidad fue mayor en G1, G2 y G3 que en G4 para ambos sexos. *Salmonella* spp y *E. coli* se evidenciaron como agentes patógenos negativos para el crecimiento y mortalidad en crías de alpacas con diarrea.

Palabras clave: alpaca, diarrea, crecimiento, mortalidad.

Abstract

Diarrhea in alpaca calves continues to be one of the main causes of morbidity and mortality, mainly caused by enteric bacteria. Despite the advances in the last decades in the management and prevention of diarrhea, however, it has not been demonstrated whether these bacteria can negatively influence the productive parameters in this species. The aim of this study was to evaluate the effect of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp on the growth and mortality of alpaca (*Vicugna pacos*) offspring. A total of 104 Huacaya alpaca calves with diarrheic processes were selected with an average age of 10.0 ± 2 days, weight of 9.6 ± 0.5 kg and height at the withers of 85.0 ± 0.5 cm. Rectal swab samples were taken and cultured on MacConkey, EMB, SS, XHD and BIH selective agars culture media, and biochemical tests were performed. Based on the positive results for *E. coli* and *Salmonella* spp, 80 offspring were selected and distributed into

four groups: G1, *E. coli* (n=23); G2, *Salmonella* spp (n=17); G3, *E. coli* - *Salmonella* spp (n=12); G4, Control (n=28), positive for one or both germs and treated with tetracyclines. The animals were weighed and measured (height at withers) at 4 and 8 weeks of the study and mortality was recorded. Body weight and body size were more affected in G1, G2 and G3 than in G4 ($p < 0.01$). Also, the mortality rate was higher in G1, G2 and G3 than in G4 for both sexes. *Salmonella* spp and *E. coli* were evidenced as negative pathogens for growth and mortality in alpaca pups with diarrhea.

Keywords: alpaca, diarrheal, increase, mortality

3.1. Introducción

Las elevadas tasas de mortalidad por causas infecciosas en las alpacas (*Vicugna pacos*), especialmente en sus crías, son uno de los factores limitantes para el desarrollo económico de las actividades pecuarias en la zona altoandina (Rosadio et al., 2012b). Las pérdidas de crías de alpacas por causas de enteritis infecciosa bacteriana se generan dentro de los primeros cuatro meses de vida, alcanzando cifras que superan el 50% de mortalidad (Siuce et al., 2015); donde *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* enteropatógena y *Salmonella* spp se encuentran usualmente involucradas como agentes causales en el denominado complejo bacterodiarreico neonatal (Mamani y Huanca, 2011).

Este síndrome cursa con disfunción intestinal, usualmente asociado a diarrea, debido a la sobre estimulación de la función secretora de las criptas epiteliales (salmonelosis, colibacilosis), incremento de la permeabilidad (enteritis clostridial) e hipermotilidad (Siuce et al., 2015). La salmonelosis en la alpaca no ha sido muy estudiada, pero los reportes existentes permiten presumir que *Salmonella* spp estaría asociada a la enteritis infecciosa bacteriana (Oha, 2012).

Estos agentes bacterianos generan un impacto económico negativo al productor, impidiendo el crecimiento sostenido de la actividad alpaquera al disminuir la producción neta de animales y la cantidad de animales que contribuyan con la variabilidad genética. Los casos

clínicos en las crías de alpacas se presentan con deshidratación progresiva, acidosis, postración, pérdida de peso y muerte (Ortiz, 2011). No obstante, no se dispone de trabajos científicos que determinen su nivel de participación en el complejo diarreico neonatal con respecto a los parámetros productivos (crecimiento, ganancia de peso vivo, supervivencia) de la alpaca.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de *E. coli* y *Salmonella* spp sobre el crecimiento y mortalidad de crías de alpacas. Asimismo, identificar las bacterias enteropatógenos presentes.

3.2 Metodología

El estudio se realizó en el predio «Rumi Huasi» del sector de Huamanrazu de la Comunidad Campesina de Santa Bárbara, en Huancavelica, Perú. La zona está situada entre 4200 y 4500 msnm, con temperatura promedio anual de 5.6 °C. Los estudios bacteriológicos se realizaron en el Laboratorio Central de Investigación, Área de Salud Animal, de la Universidad Nacional de Huancavelica. La fase de campo tuvo una duración de dos meses y se realizó durante las épocas de lluvias (febrero-marzo). Se seleccionaron 104 crías de alpacas Huacaya, sin distinción de sexo, con edad promedio de 10.0 ± 2 días, peso de 9.6 ± 0.5 kg y altura a la cruz de 85.0 ± 0.5 cm. Todos los animales seleccionados ingresaron al estudio preliminar con cuadros clínicos de diarrea entre 3 y 8 días (tabla 1).

Tabla 1. Crías de alpacas con enteropatías diarreicas positivos a *Escherichia coli*, *Salmonella* spp y *E. coli* – *Salmonella* spp (n=104).

Patógeno	Machos		Hembras	
	n	%	n	%
<i>Escherichia coli</i>	19	12,2	18	11,6
<i>Salmonella</i> spp	18	11,6	17	11,0
<i>Escherichia coli</i> – <i>Salmonella</i> spp	16	10,3	16	10,3

Se recolectaron muestras de heces por triplicado de las 104 crías. Las muestras fueron tomadas por el método de hisopado rectal y suspendidas en medio de transporte Stuart. Se hizo un pool con las tres muestras de cada animal, las cuales fueron cultivadas en medios selectivos de agar: MacConkey y eosina azul de metileno (EMB) para *E. coli* y *Salmonella-Shigella* (SS), xilosa lisina desoxicolato XHD para *Salmonella* spp y enriquecidas con caldo de infusión cerebro corazón (BIH). Para la identificación y diferenciación de las cepas se realizó la caracterización morfológica (forma elevación, margen) y microscópica (coloración Gram), así como pruebas bioquímicas convencionales (agar-hierro-triple azúcar [TSI], agar de hierro de lisina [LIA], sulfuro-indol-motilidad [SIM] y catalasa).

Con base a los resultados de laboratorio, se seleccionaron las crías positivas a *E. coli*, *Salmonella* spp y *E. coli* - *Salmonella* spp (n=104 crías; Cuadro 1) a las 72 horas de la identificación bacteriológica. Para la evaluación de peso y talla solo se consideraron los animales que sobrevivieron al proceso diarreico, quedando los siguientes grupos: G1, *E. coli* (n=23 [13 machos y 10 hembras]); G2, *Salmonella* spp (n=17 [9 machos y 8 hembras]); G3, *E. coli* y *Salmonella* spp (n=12 [6 machos y 6 hembras]); G4, Testigo tratado, *E. coli*, *Salmonella* spp y *E. coli* y *Salmonella* spp (n=28 [14 machos y 14 hembras]).

Todos los animales fueron desparasitados con un anticoccidiostático (Toltrazuril) y puestos en cuarentena en potreros reservados para este propósito al inicio del estudio. Los animales del grupo testigo (G4) fueron tratados con tetraciclinas vía i. m. a dosis 1 ml/10 kg de peso vivo durante tres semanas con el fin de controlar la diarrea.

El peso, talla corporal (altura a la cruz) y mortalidad fueron registrados semanalmente y por ocho semanas. Las mediciones de campo se hicieron en las mañanas utilizando una balanza circular de 100 kg de capacidad y una cinta métrica. El porcentaje de mortalidad se calculó dividiendo el número de crías muertas entre el total de crías, expresado en forma porcentual. Para las evaluaciones de peso y talla corporal se consideraron a los animales que sobrevivieron durante el estudio. El protocolo fue certificado por el Comité de Ética de Educación y Ciencias de la Salud para la Investigación de la Universidad Nacional de Huancavelica con resolución N.º

0724-2015-CECSI-UNH. Los datos fueron analizados mediante el análisis de varianza y la prueba de Tukey ($p < 0.05$), utilizando el programa SPSS v. 20.

3.3 Resultados

Las crías de los grupos G₁, G₂ y G₃ ganaron menor peso que aquellas del grupo G₄ (testigo) durante las 8 semanas del estudio, tanto en hembras como en machos ($p < 0.01$; Tabla 2), siendo la asociación *E. coli* - *Salmonella* spp, las que causaron un mayor efecto negativo en el peso corporal. Similar tendencia fue observada a las cuatro semanas de evaluación en ambos sexos.

Tabla 2. Peso corporal (kg) de 80 crías de alpacas¹ con enteropatías producidas por *E. coli* y *Salmonella* spp (medias y desviación estándar).

Grupos	Hembras			Machos		
	Inicial	4 semanas	8 semanas	Inicial	4 semanas	8 semanas
G1 - <i>E. coli</i>	9,6±1,0 ^a	11,3±1,2 ^a	14,3±1,4 ^b	9,9±1,2 ^a	11,7±1,3 ^a	16,2±1,3 ^b
G2 - <i>Salmonella</i>	9,5±2,0 ^a	10,2±1,4 ^a	13,4±1,5 ^b	10,2±1,3 ^a	12,4±1,3 ^a	14,6±1,2 ^b
G3 - <i>E. coli</i> – <i>Salmonella</i>	9,2±1,8 ^a	11,2±1,6 ^a	12,6±1,4 ^b	9,9±1,4 ^a	11,9±1,2 ^a	13,4±1,4 ^c
G4 - Testigo ²	9,4±1,8 ^a	13,2±1,5 ^b	16,7±1,4 ^c	9,8±1,4 ^a	14,8±1,2 ^b	18,4±1,4 ^d

a, abc Superíndices diferentes dentro y entre columnas indican diferencia estadística ($p < 0.01$); 1 23 crías en G₁, 17 en G₂, 12 en G₃ y 28 en G₄; 2 Positivas a *E. coli*, *Salmonella* o ambas y tratadas con tetraciclinas.

La talla de las crías de los grupos G₁, G₂ y G₃ a las ocho semanas fue menor en comparación con las crías de G₄ (testigo) en ambos sexos ($p < 0.01$; Tabla 3). Similar tendencia fue observada a las cuatro semanas de evaluación. El porcentaje de mortalidad fue significativamente mayor en G₁, G₂ y G₃ con relación a G₄ (testigo) en ambos sexos (Tabla 4).

Tabla 3. Talla corporal (altura a la cruz) de 80 crías de alpacas¹ con enteropatías producidas por *E. coli* y *Salmonella* spp (medias y desviación estándar).

Grupos	Hembras			Machos		
	Inicial	4 semanas	8 semanas	Inicial	4 semanas	8 semanas
G1 - <i>E. coli</i>	59.0±1.3 ^a	64.0±1.2 ^a	70.0±1.1 ^b	60.0±1.1 ^a	65.0±1.2 ^a	71.0±1.3 ^b
G2 - <i>Salmonella</i>	60.0±1.4 ^a	65.0±1.4 ^b	68.0±1.5 ^a	61.6±1.3 ^a	66.0±1.3 ^b	69.0±1.2 ^a
G3 - <i>E. coli</i> – <i>Salmonella</i>	58.0±1.2 ^a	61.0±1.3 ^c	67.0±1.4 ^c	62.0±1.4 ^a	66.0±1.2 ^c	68.0±1.1 ^c
G4 - Testigo ²	61.0±1.0 ^a	72.0±1.2 ^d	85.0±1.1 ^d	63.0±1.2 ^a	78.0±1.2 ^d	84.0±1.1 ^d

^{a, abc} Superíndices diferentes dentro y entre de columnas indican diferencia estadística ($p < 0.01$);

¹ 23 crías en G1, 17 en G2, 12 en G3 y 28 en G4; ² Positivas a *E. coli*, *Salmonella* o ambas y tratadas con tetraciclinas.

Tabla 4. Mortalidad (%) en 104 crías¹ de alpacas con enteropatías producidas por *Escherichia coli* y *Salmonella* spp.

Grupo	Macho	Hembra
G1 - <i>E. coli</i>	14,3	23,1
G2 - <i>Salmonella</i>	23,1	33,3
G3 - <i>E. coli</i> - <i>Salmonella</i>	45,5	45,5
G4 - Testigo ²	6,7	6,7

¹ 27 crías (Muertos: 1 macho y 3 hembras) en G1, 25 crías (Muertos: 4 machos y 4 hembras) en G2, 22 crías (Muertos: 5 machos y 5 hembras) en G3, y 30 crías (Muertos: 1 macho y 1 hembra) en G4; ² Positivas a *E. coli*, *Salmonella* o ambas y tratadas con tetraciclinas.

3.4 Discusión

Los resultados de laboratorio indicaron mayor presencia de *E. coli*, *Salmonella* spp y la asociación *E. coli* - *Salmonella* spp en las crías de alpacas con enteropatías diarreicas en ambos sexos. La elevada prevalencia de estos patógenos se debería al proceso de colonización de las bacterias por su mecanismo de acción de intracelulares facultativos que ocurre en animales de

sangre caliente (di Conza et al., 2012) y por el deficiente control sanitario en los rebaños alpaqueros (More et al., 2011), donde se liberan las bacterias al medio ambiente (en especial al suelo, agua y pastos) cuando son expulsadas por vía fecal, constituyendo un riesgo de infección entérica (Rosadio et al., 2012b).

Lucas et al. (2016) identificaron *E. coli* en el 8%, *Salmonella* spp en el 18.3% (104/132) y asociación de bacterias y parásitos en el 23.3% de 60 crías de alpacas de 1 a 2.5 meses de edad con cuadros mortales de diarrea; siendo estos resultados mayores a los del presente estudio, donde se encontró positivos al 12% (18/104) de los machos y 11% de las hembras (17/104). Así mismo, Morales (2017) logró aislar *E. coli* en el 47.8% (43/90) de alpacas con diarrea y en el 58.3% (35/60) sin diarrea, en tanto que Chuquizuta y Morales (2017) aislaron *E. coli* en el 40.8% y *Salmonella* spp en el 39.3% de gazapos muertos en una granja de cuyes de crianza intensiva. Las elevadas tasas de prevalencia de *E. coli* y de *Salmonella* spp estarían relacionadas al uso innecesario y/o aplicación prolongada de antibióticos, así como a la aplicación de dosis incorrectas (Carhuapoma et al., 2018).

El mayor efecto negativo en el peso corporal encontrado en las crías del grupo G3 (*E. coli* – *Salmonella* spp) y G2 (*Salmonella* spp) se debe a que estas bacterias son enterohemorrágicas; de allí que causan deshidratación progresiva, acidosis, postración, pérdida de peso y muerte (Ortiz, 2011). Además, ocasionan una disfunción intestinal asociada a diarrea y sobreestimulación de la función secretora de las criptas epiteliales (Rosadio et al., 2012b). Los animales pierden el apetito y dejan de consumir la leche materna (Pinto et al., 2010). En condiciones de buena salud, las crías de alpacas alcanzan a tener pesos que oscilan entre 18 y 20 kg y talla corporal de 80 cm a los 2 meses de edad (Cuenca, 2012).

El mayor efecto negativo de la asociación *E. coli* – *Salmonella* spp podría significar que las cepas enteropatógenicas eae y bfp de *E. coli* estarían asociándose a la capacidad de adherirse a los enterocitos, inicialmente en forma laxa, a través del producto bfp y, posteriormente, en una forma más fuerte que elimina (cepillado) las microvellosidades intestinales a consecuencia de la proteína timina codificada por el gen eae (Rosadio et al., 2012b). Esto favorecería el cuadro diarreico y alteración de temperatura corporal por estimulación de las criptas epiteliales

(*Salmonella*, colibacilosis) (Mamani et al., 2009). Además, la asociación *E. coli* – *Salmonella* spp podrían generar procesos neumónicos en neonatos y crías de alpacas (Ortiz, 2011), lo cual generaría una menor ganancia de peso y talla de los animales (Valencia et al., 2015), como se observó en los grupos G2 y G3. Estos resultados concuerdan con el estudio de Cuenca (2012). Por otro lado, las crías de G4 presentaron un desarrollo corporal dentro de los márgenes esperados.

Silvera et al. (2012) llegaron a detectar en cuadros diarreicos de alpacas a las cepas stx-positivas de *E. coli*, las cuales producen infecciones intestinales a través de las verocitotoxinas. Esto estaría contribuyendo a disminuir el apetito y, consecuentemente, el menor peso y talla corporal de las crías. Por otro lado, se conoce que las crías hembras serían más sensibles frente a las cepas stx-positivas de *E. coli* (Pando, 2011). No se dispone de reportes científicos de la influencia negativa de la patogenicidad de *Salmonella* spp en los procesos fisiopatológicos, metabólicos y de desarrollo en las crías de alpacas (Chiok, 2012; Dionisio, 2012; Lucas et al., 2016), pero se presume que estos procesos estarían afectados por *Salmonella* spp y, por lo tanto, estarían directamente asociados al bajo peso y talla, así como a la alta mortalidad, tal y como ocurre en otras especies domésticos (Gallegos, 2013).

La alta tasa de mortalidad ocurrida en los grupos que presentaban la asociación *E. coli* – *Salmonella* spp y solo *Salmonella* spp podría confirmar a estos agentes dentro de los principales agentes potencialmente productores de diarreas en alpacas neonatas y crías (Mamani et al., 2009; Rosadio et al., 2012a) y estarían asociados a casos esporádicos y brotes de diarrea generando colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (Jurea et al., 2015), lo cual ocasiona enfermedad extraintestinal severa, caracterizada por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y falla renal aguda (Moredo et al., 2012). Las tasas de mortalidad encontradas por enteropatías fueron similares a otros reportes de la literatura científica (Gallegos, 2013; Valencia et al., 2015).

3.5 Conclusiones

Crías de alpacas con enteropatías diarreicas evidenciaron altos porcentajes de positividad a *Escherichia coli*, *Salmonella* spp y a la asociación *E. coli* - *Salmonella* spp.

La asociación *Escherichia coli* - *Salmonella* spp afectó significativamente el peso y talla corporal e incrementó la mortalidad en crías de alpacas con enteropatías diarreicas.

3.6 Referencias bibliográficas

- Carhuapoma DV, Mayhua MP, Valencia MN, Lizana HE. (2018). Antibacterial in vitro of effect *Urtica dioica* and *Piper angustifolium* in alpacas (*Vicugna pacos*) with diarrheal enteropathies. *MOJ Anat Physiol* 5: 160- 162. doi: 10.15406/mojap.2018.05.00182
- Chiok R. (2012). Expresión de citoquinas de la respuesta TH₁ (Ifn α e Il₂) y TH₂ (Il₄ e Il₁₀) en mucosa intestinal de crías de alpaca (*Vicugna pacos*) sanas y con enteropatía. Tesis de Maestría. Lima, Perú: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.
- Chuquizuta R. C, Morales CS. (2017): Identificación de agentes bacterianos aislados de gazapos muertos de cuyes en una granja de crianza intensiva en Lima, Perú. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* [Internet].18(12):1-13. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63654640041>
- Cuenca P. (2012). Caracterización fenotípica y sistema de producción de las alpacas en la Estación Experimental Aña Moyocancha. Tesis pregrado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.
- Di Conza, José A, Mollerach, Marta E, Gutkind, Gabriel O, & Ayala, Juan A. (2012). Dos aislamientos de *Salmonella Infantis* multirresistentes se comportan como hipoinvasivos pero con elevada proliferación intracelular. *Revista argentina de microbiología*, 44(2), 69-74. Recuperado en 08 de julio de 2023, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412012000200003&lng=es&tlng=es.
- Dionisio J. (2012). Cinética de expresión de inmunoglobulina A en el epitelio intestinal de crías de alpaca (*Vicugna pacos*). Tesis pregrado. Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú:
- Gallegos R. (2013). Índices productivos de alpacas del Centro de Investigación y Producción: La Raya. *Rev. Investig Alto Andina* 15: 255-262.
- Jure, María A, Condorí, Marina S, Pérez Terrazzino, Gabriela, Catalán, Mariana G, Campo, Alejandro López, Zolezzi, Gisella, Chinen, Isabel, Rivas, Marta, & Castillo, Marta. (2015). Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* O157 en productos cárnicos bovinos y

- medias reses en la provincia de Tucumán. Revista argentina de microbiología, 47(2), 126-131. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2015.03.006>.
- Lucas L., J. R., Morales C., S., Barrios A., M., Rodríguez G., J., Vásquez C., M., Lira M., B., Torres L., B., Casas A., E., & Espinoza B., J. (2016). Patógenos Involucrados en Casos Fatales de Diarrea en Crías de Alpaca de la Sierra Central del Perú. Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú, 27(1), 159–175. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i1.11465>
- Mamani Paredes, J., Condemayta, Z., & Calle Charaja, L. (2009). Causas de mortalidad de alpacas en tres principales centros de producción ubicados en puna seca y húmeda del departamento de Puno. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, 10 (8), 1-13.
- Mamani L, Huanca T. 2011. Manual de sanidad en rebaño mixto. Lima: Heifer Perú. 140 p.
- More B, Juan, Manchego S, Alberto, Sandoval C, Nieves, Ramírez V, Mercy, Pezo C, Danilo, Chiok C, Kim Lam, & Rivera G, Hermelinda. (2011). Detección genómica y expresión de péptidos antimicrobianos (α - y β -defensinas) en mucosa intestinal de crías de alpaca (*Vicugna pacos*). Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 22(4), 324-335. Recuperado en 08 de julio de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172011000400006&lng=es&tlng=es.
- Moredo, Fabiana A, Cappuccio, Javier A, Insarralde, Lucas, Perfumo, Carlos J, Quiroga, María A, & Leotta, Gerardo A. (2012). Caracterización genotípica de aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos de cerdos con diarrea posdestete y enfermedad de los edemas. Revista argentina de microbiología, 44(2), 85-88. Recuperado en 08 de julio de 2023, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412012000200005&lng=es&tlng=es.
- Morales C., S., Siu C., E., Ramírez R., P., & Navarro O., A. (2017). Determinación de Serotipos de *Escherichia coli* aislados de crías de alpacas (*Vicugna pacos*) con y sin diarrea en Huancavelica. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, 18 (9), 1-14.
- Oha R. (2012). Anatomía patológica de las diarreas infecciosas en crías de alpaca (*Lama pacos*) en la SAIS Aricoma Ltda. 57. Tesis pregrado. Univ. Nacional del Altiplano. Puno, Perú.
- Ortiz S. (2011). Evaluación de algunos métodos de control de la mortalidad en crías de alpaca (*Lama pacos*) en explotaciones familiares. Tesis pregrado. Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.
- Pando S. (2011). Evaluación de principales características productivas y reproductivas de alpacas Huacaya en el INIA Santa Ana - Huancayo periodo 2004-2008. Tesis pregrado. Univ. Nacional del Centro del Perú. Huancayo, Perú.
- Pinto CE, Martín C, Cid MD. (2010). Camélidos sudamericanos: estado sanitario de sus crías. Rev. Complutense Ciênc Vet 4: 37-50.

- Rosadio A., R., Yaya L., K., Véliz A., Álvaro, & Quispe, T. (2012a). Efecto protector de una vacuna polivalente anticlostridial sobre la mortalidad neonatal en alpacas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 23(3), 299–306. <https://doi.org/10.15381/rivep.v23i3.912>
- Rosadio A., R., Maturrano H., L., Pérez J., D., & Luna E., L. (2012b). El complejo entérico neonatal en alpacas andinas. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 23(3), 261–271. <https://doi.org/10.15381/rivep.v23i3.908>
- Silvera C., E., Perales C., R., Rodríguez B., J., López U., T., Gavidia C., C., Agapito P., J., & Palacios E., C. (2012). Presencia de *Escherichia coli* O157 en crías de alpacas (*Vicugna pacos*). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 23(1), 98–104. <https://doi.org/10.15381/rivep.v23i1.888>
- Siuce M., J., Manchego S., A., Sandoval C., N., More B., J., Chiok C., K.-L., Pezo C., D., & Rivera G., H. (2015). Expresión de defensinas en yeyuno de crías de alpacas (*Vicugna pacos*) con Enteropatías. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 26(2), 317–327. <https://doi.org/10.15381/rivep.v26i2.11093>
- Valencia N, Aquino H, Anccasi A. (2015). Causas de mortalidad en crías de alpacas en centros de producción con manejo tecnológico medio y bajo en el distrito de Huancavelica, Perú. En: VII Congreso Mundial en Camélidos Sudamericano. Puno, Perú.

Capítulo IV

CARACTERIZACIÓN DE NEUMONÍAS EN ALPACAS (*Vicugna pacos*)
EN COMUNIDADES ALTOANDINAS DE HUANCABELICA, PERÚ

4. CARACTERIZACIÓN DE NEUMONÍAS EN ALPACAS (*Vicugna pacos*) EN COMUNIDADES ALTOANDINAS DE HUANCATELICA, PERÚ

CHARACTERIZATION OF PNEUMONIA IN ALPACAS (*Vicugna pacos*) IN HIGH ANDEAN COMMUNITIES OF HUANCATELICA, PERU

Victor Carhuapoma De la cruz

*Candidato masters en Producción Animal
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
yachayruacc@hotmail.com*

 <https://orcid.org/0000-0002-4330-6099>.

Nicasio Valencia Mamani

*Doctor en Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
valencian955@gmail.com*

 <https://orcid.org/0000-0002-9408-7770>

Rufino Paucar Chanca

*Doctor en Producción Animal
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
rufipc@hotmail.com*

 <https://orcid.org/0000-0001-6820-6185>

William Salas Contreras

*Doctor en Doctor en Ciencias Biológicas
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
wilysalasc@gmail.com*

 <https://orcid.org/0000-0001-7664-3000>

Cauti Siever Morales

*Post Grado en Doctorado en Ciencias Biológicas
Universidad Nacional Mayor de San Marcos-Perú
Sieverm@hotmail.com*

 <https://orcid.org/0000-0002-5396-8889>

Resumen

Las patologías neumónicas son de importancia clínica en crianza de alpacas en los países latinoamericanos como el caso de Perú; sin embargo, el conocimiento de tipos neumónicos y las causas bacterianas es muy limitado. El presente capítulo es producto de la investigación que consistió en caracterizar las neumonías y las bacterias causantes de neumonías en neonatos de alpacas muertas en comunidades altoandinas de Huancavelica, Perú. Para el estudio se consideró una muestra de 365 crías muertas de alpacas menores de 45 días de edad, procedentes de 10 comunidades; se tomaron hisopados traqueales en 216 de ellas para estudios microbiológicos con buffer peptonada por resultar casos de neumonías. La identificación macroscópica de neumonías se hizo mediante el test foto documentador. Para estudios microbiológicos los hisopados nasales fueron cultivado en agar Colombia enriquecidas con sangre de alpaca para cepas de *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica*; mientras para el *Streptococcus pneumoniae* en agar Infusión Cerebro Corazón suplementadas con sangre de alpaca e identificadas mediante caracterización morfológica, microscópica, reacciones bioquímicas y optoquina. Se encontraron 59,8% de mortalidad por neumonía y 40,2% por otras causas, caracterizándose neumonía por inflamación 55,1%; 44,9% por lesión y subtipos: Exudativa 9,5%, Supurativa 3,8%, Proliferativa 42,3%, Lobar 17,8%, Intersticial 26,6%, aislándose cepas de *Streptococcus pneumoniae* 43,7%, *Mannheimia haemolytica* 14,9%, *Pasteurella multocida* 20,9%, asociadas con *Streptococcus pneumoniae*-*Pasteurella multocida* 10,7%. Por lo tanto, se evidenció una alta frecuencia de tipos, subtipos de neumonías asociados a bacterias Gram (+) como causales de neumonías en crías de alpaca con predominio en tres comunidades altoandinas de Huancavelica, Perú.

Palabras clave: Neumonías, inflamación, lesión, bacterias, alpaca.

Abstract

Pneumonic pathologies are of clinical importance in alpaca breeding in Latin American countries such as Peru; however, the knowledge of pneumonic types and bacterial causes is very

limited. The present chapter is the result of research that consisted of characterizing pneumonias and the bacteria causing pneumonias in neonates of dead alpacas in high Andean communities of Huancavelica, Peru. For the study, a sample of 365 dead alpaca calves under 45 days of age from 10 communities was considered; tracheal swabs were taken from 216 of them for microbiological studies with buffer peptonada to find cases of pneumonias. Macroscopic identification of pneumonias was made by means of the photo-documentation test. For microbiological studies, nasal swabs were cultured on Colombia agar enriched with alpaca blood for *Pasteurella multocida* and *Mannheimia haemolytica* strains; while for *Streptococcus pneumoniae* on Brain Heart Infusion agar supplemented with alpaca blood and identified by morphological and microscopic characterization, biochemical reactions and optokine. We found 59.8% mortality due to pneumonia and 40.2% due to other causes, characterizing pneumonia by inflammation 55.1%; 44.9% by lesion and subtypes: Exudative 9.5%, Suppurative 3.8%, Proliferative 42.3%, Lobar 17.8%, Interstitial 26.6%, isolating strains of *Streptococcus pneumoniae* 43.7%, *Mannheimia haemolytica* 14.9%, *Pasteurella multocida* 20.9%, associated with *Streptococcus pneumoniae*-*Pasteurella multocida* 10.7%. Therefore, a high frequency of types and subtypes of pneumonias associated with Gram (+) bacteria as causative of pneumonias in alpaca calves with predominance in three high Andean communities of Huancavelica, Peru, was evidenced.

Keywords: Pneumonia, inflation, injury, bacteria, alpaca

4.1 Introducción

La crianza de alpacas es fuente de ingreso económico de importancia para los productores alpaqueros de las comunidades andinas (Carpio, 1991), resultando la fibra de esta especie como un recurso indispensable para el criador por su alta demanda en la industria textil, pues es considerado como fibra especial (Morales et al., 2017). Así mismo las prendas elaboradas son calificadas como artículos de lujo en el mercado internacional (Rosadio et al., 2012), y su carne es conocida por su alto contenido proteico con bajo colesterol (Cirilo et al., 2012; Carhuapoma et al., 2020); por ello esta actividad es un componente indispensable para la economía de las familias de la zona altoandinas del Perú (Carhuapoma et al., 2020).

A pesar de las bondades presentadas en esta especie, existen multifactores que la predisponen a diversas enfermedades infecciosas respiratorias, tales como los cambios bruscos de microclimas extremos (Rosadio et al., 2011), el transporte, largos recorridos de pastoreo, hacinamiento, manejos inadecuados en las actividades productivas (sanitario, reproductivos, esquila), estrés y deficiencias inmunológicas (Svensson et al., 2003; Carbonero et al., 2011). Dentro de estas patologías que más afectan a las crías de alpacas con mayor frecuencia en la época de invierno (época de parición), está la neumonía en sus distintas presentaciones clínicas que no están reportadas y validadas científicamente en la perspectiva etiológica, sintomatológica y diagnóstica como del tratamiento y control (Cirilo et al., 2012; Guzmán et al., 2013), resultando en altos índices de mortalidad neonatal en alpacas, trayendo como consecuencia grandes pérdidas económicas y de valor genético (Cirilo et al., 2012; Morales et al., 2017), y en muchos casos los criadores suelen abandonar la actividad por resultar en una baja rentabilidad económica (Sicha et al., 2020; Carhuapoma et al., 2020); siendo el agente patógeno responsable la *Pasteurellosis* de virulencia clínica (Zanabria et al., 2000; Cozens et al., 2019), pero en las alpacas dicho patógeno no está muy estudiado científicamente como otras especies domésticas (Rosadio et al., 2011; Ramírez et al., 2012), lo cual hace muy complejo su tratamiento y control.

Existen reportes que indican que la *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* y *Streptococcus pneumoniae* suelen ser agentes responsables de procesos neumónicos en especies domésticas, tomando parte de la cavidad oral, tracto respiratorio, gastrointestinal (Boukahil y Czuprynski, 2018), logrando colonizarse exponencialmente en pulmones y alveolos y afectando principalmente a animales inmunocomprometidos (Cirilo et al., 2012), desarrollando manifestaciones clínicas de diferentes tipos y sub tipos neumónicos en bovinos, ovinos, porcinos, y aves con tendencias altas de mortalidades (Carbonero et al., 2011).

Se reportaron 2 sub-tipos de neumonía de manera superficial en camélidos sudamericanos, especialmente en alpacas, y se observó *Pasteurella multocida* como agente bacteriano involucrado en procesos neumónicos (Rosadio et al., 2011; Cirilo et al., 2012; Rímac et al., 2017), y que posiblemente formarían parte del microbiota nasal, como ocurre en otros

animales domésticos (Rosadio et al., 2012; Rímac et al., 2017). Sin embargo, existen escasos estudios sobre la caracterización de casos neumónicos, tipos, subtipos y la identificación de los agentes bacterianos, ocasionando altos casos de mortalidad en alpacas. En ese sentido, el objetivo de este estudio es caracterizar las neumonías y bacterias causantes de neumonías en alpacas neonatos muertas en comunidades altoandinas de Huancavelica Perú, con el fin de obtener mayor conocimiento de neumonías y sus agentes etiológicos para que se puedan desarrollar estrategias de control, prevención y minimizar mortalidades de alpacas, mejorando las condiciones socioeconómicas del criador de las zonas alto andinas, en vista que la crianza de alpacas resulta indispensable para su subsistencia.

4.2 Metodología

Área de Estudio: Los estudios de campo fueron de carácter convivencial entre los meses de enero a marzo del 2020 en las comunidades altoandinas de Pastales Huando, Cachimayo, Sacsamarca, Astobamba, Pucapampa, Asociación Lachocc, Santa Bárbara, Carhuancho, Choclococha y Matipaccana de Huancavelica Perú, situadas entre 4200 y 5200 msnm, con temperatura promedio anual de 5 – 8 °C; previo a ello se obtuvieron la autorización comunal y el acta de consentimiento informado del criador. Los estudios bacteriológicos se realizaron en el laboratorio de Salud Animal, en el área microbiología de la Universidad Nacional Huancavelica-Perú.

Caracterización de neumonías: Se recolectaron 365 crías muertas de alpacas Huacaya aparentemente por causas de neumonía con edades menores de 45 días de nacidas y menores a 12 horas post mortem sin distinción de sexo, excluyendo a animales con tratamientos farmacológicos. Se realizó necropsia independiente in situ a las 364 crías muertas de alpacas, según la técnica de necropsia en animales domésticos (Aldrete, 2002) bajo estricta medida de bioseguridad. La caracterización de casos de neumonía, tipos y subtipos neumónicos se realizó mediante inspección y visualización macroscópica de lesiones y procesos inflamatorios anato-

patológicos de estructura de pulmones, considerando alteraciones a nivel de lóbulos, parénquimas internos, cambio de morfología (color y/o consistencia, apariencia y distribución del exudado), focos hemorrágicos a través del uso del Test foto documentador de patologías neumónicas (Pijoan et al., 1999), registrando en fichas de registros según corresponda: neumonía reacción inflamatoria (exudativas, bronconeumonías supurativas, neumonía fibrinosa, neumonía proliferativa) y neumonía difusión de lesión (bronconeumonía, neumonía lobar, neumonía intersticial, neumonía embólica, neumonía granulomatosa), como se muestran en la Figura 1: a, b y c.

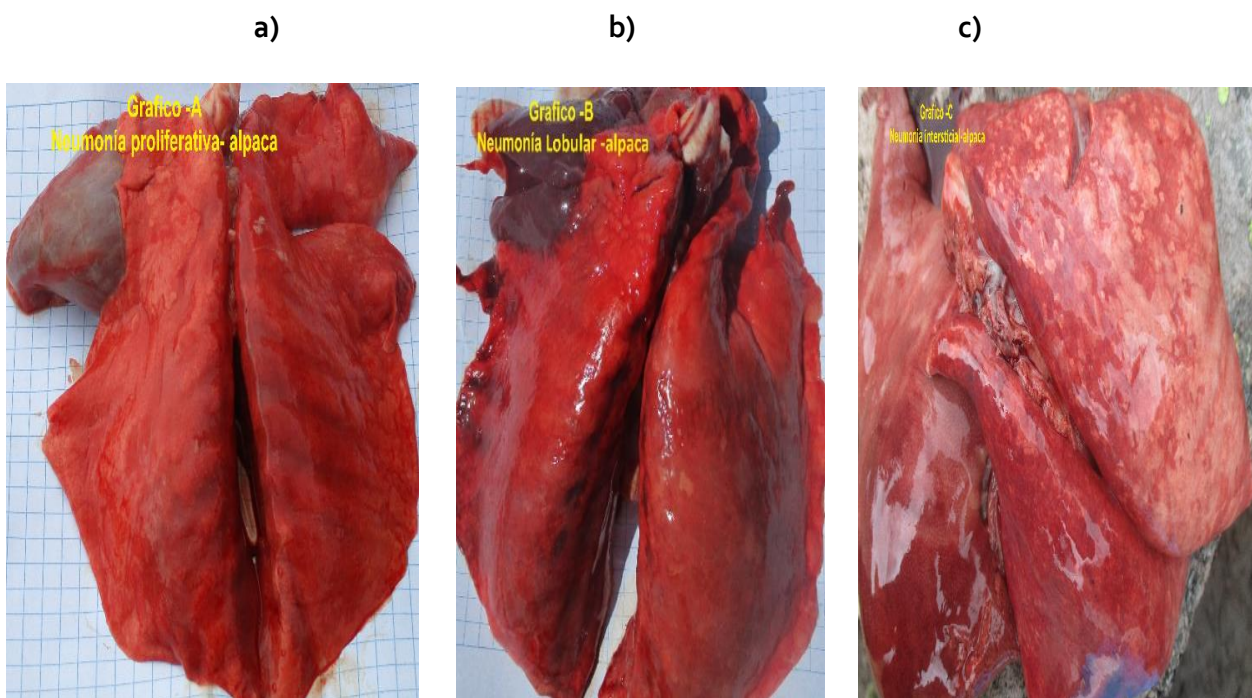


Figura 1. Caracterización de casos de neumonía en crías de alpacas. a) Neumonía proliferativa. b) Neumonía Lobular. c) Neumonía intersticial.

Estudios bacteriológicos: Se tomaron 216 muestras de líquidos traqueales mediante hisopado traqueal (Schaefer et al., 2012) en frascos estériles con búfer peptonada al 5% (10ml) de crías muertas positivas a neumonías de 10 comunidades altoandinas de Huancavelica-Perú (Figura 2: a, b y c, con estricta bioseguridad. Se rotularon y transportaron en un Termo Porta Vacunas atemperadas entre 8 – 10°C con hielo biológico (Gel Pack) al Laboratorio de Salud

Animal: área de microbiología-Universidad Nacional Huancavelica, para su estudio microbiológico.

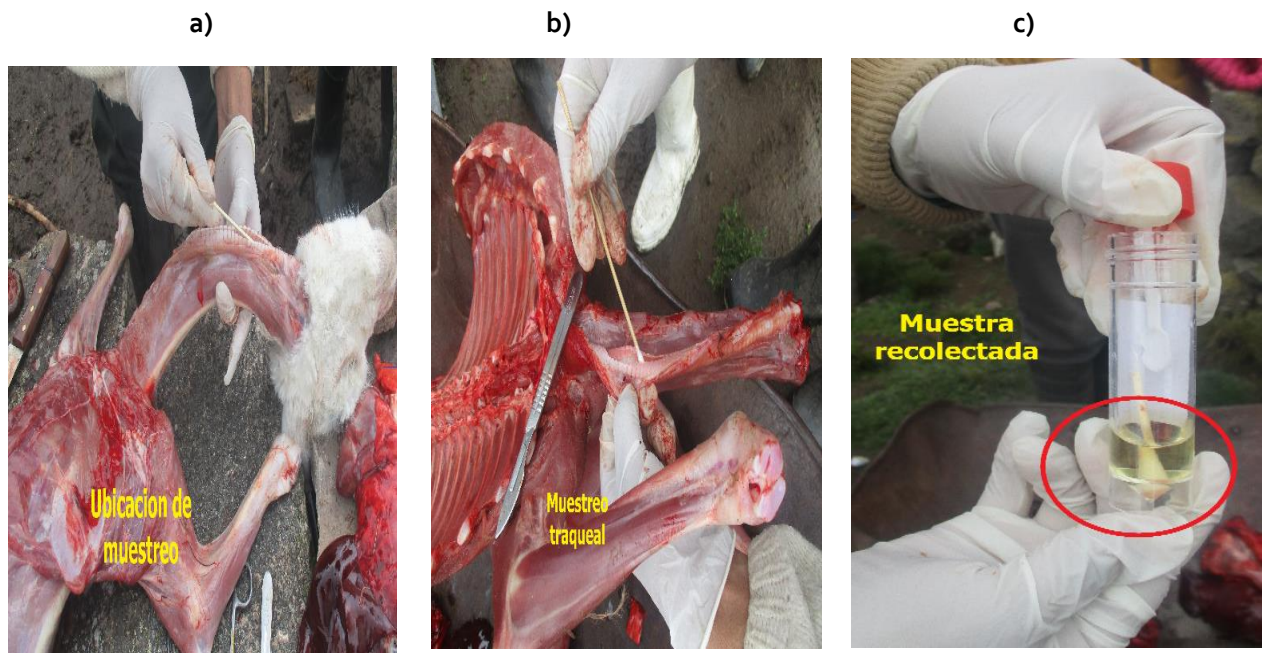


Figura 2. Toma de muestras por hisopado traqueal en alpacas: a) Ubicación de muestreo. b) Muestreo traqueal. c) Muestra recolectada.

Aislamiento e identificación bacteriana: Las 216 muestras de hisopados traqueales positivas a neumonías fueron inoculadas de manera independiente en caldo TSA (Tryptona Soya Agar) e incubadas a 37°C por 5 horas. Luego, se sembraron por agotamiento de manera individual en Agar Base Columbia para *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* en Agar de Infusión Cerebro Corazón (BIH), ambos enriquecidos con sangre de alpaca desfibrinada estéril al 5% (SAD), adicionando Gentamicina (0,75 µg/mL) como inhibidor de microorganismos y se incubaron a 37°C por 24 horas en procesos aeróbicos (Avril et al., 1990; Moore et al., 1994). Para el cultivo de *Streptococcus pneumoniae* se utilizó Agar Infusión Cerebro Corazón (BIH) enriquecido con sangre de alpaca desfibrinada estéril al 5% (SAD), añadiendo Gentamicina (0,75

µg/mL) y se incubó a 37°C por 48 horas en condiciones anaeróbicas en Jarra Gaspar, adicionando Anaerocult® P (Moore et al., 1994).

Se identificaron las cepas de *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* y *Streptococcus pneumoniae*, mediante sus características macroscópicas (forma, color, borde, elevación y consistencia), microscópica (tención Gram), hemolítica (β hemolítica, α hemolítica, y hemolítica), pruebas bioquímicas (TSI, LIA, SIMON, SIM), Catalasa (Fegan, Blackall y Pahoff, 1995) y prueba de susceptibilidad a optoquina (Rosadio et al., 2012).

Análisis estadístico: La investigación fue de carácter descriptivo con enfoque corte transversal prospectivo (Campbell y Stanley 1995). La frecuencia y la relación de los casos mortalidades de crías de alpacas, los tipos, subtipos de neumonía y bacterias neumónicas, se determinaron entre la cantidad de animales diagnosticados positivos frente al total crías de alpacas evaluados mediante la prueba de Chi cuadrado ($p < 0.05$), atreves del paquete estadístico SPSS Vers. 21.0 y expresándose los resultados en frecuencias porcentuales.

4.3 Resultados

En la investigación se encontró un 59,8% de mortalidad por neumonía entre las 10 comunidades. De ese total se encontraron 3 comunidades con mayor mortalidad por causa de neumonía, arrojando la comunidad de Choclococha un 10,0%, Pucapampa 8,3%, Carhuancho 7,6% (Tabla 1), apreciándose una relación entre las causas de mortalidad y comunidad ($p = ,000$) con un nivel de significancia según el análisis de Chi cuadrado ($p < 0,05$).

Tabla 1. Frecuencia de mortalidad de crías de alpacas (*Vicugna pacos*) por causas de neumonía en las Comunidades altoandinas de Huancavelica-Perú (n = 365).

Comunidad	Mortalidad por Neumonía		Mortalidad por otras causas	
	F	%	F	%
Pastales de Huando	24	7,0	7	2,0
Pucapampa	31	8,2	5	1,4
As. Lachocc	21	6,1	17	4,5
Santa Bárbara	26	7,1	9	2,4
Sacsamarca	15	4,1	27	7,3
Astobamba	12	3,3	20	5,4
Cachimayo	14	3,7	20	5,4
Carhuancho	28	7,6	10	2,5
Choclococha	35	10,0	8	2,2
Matipaccana	10	2,7	26	7,1
Total	216	59,8	149	40,2

Leyenda: F= Frecuencia de mortalidad; % = porcentaje de mortalidad.

Tabla 2. Frecuencia de tipos de neumonía en crías de alpacas (*Vicugna pacos*) en comunidades altoandinas de Huancavelica-Perú (n = 216).

Comunidad	Tipos de Neumonía			
	Neumonía por Inflamación		Neumonía por lesión	
	F	%	F	%
Pastales de Huando	18	8,4	6	2,8
Pucapampa	26	12,0	5	2,3
Lachocc	8	3,7	13	6,0
Santa Bárbara	10	4,6	16	7,4
Sacsamarca	12	5,6	3	1,4
Astobamba	8	3,7	4	1,9
Cachimayo	6	2,7	8	3,7
Carhuanchu	16	7,4	12	5,6
Choclococha	12	5,6	23	10,6
Matipaccana	3	1,4	7	3,2
Total	119	55,1	97	44,9

Leyenda: F= Frecuencia de casos, % = porcentaje de casos.

Se identificaron tipos de neumonías inflamatorias y subtipos por lesión, siendo exudativa 9,5%, supurativa 3,8%, proliferativa 42,3% y lobar 17,8%, Intersticial 26,6%; evidenciándose en 3 comunidades (Pastales Huando, Carhuanchu, Choclococha) con altos índices de casos de 5 subtipos de neumonías (Tabla 3), encontrando relación entre subtipos de neumonía y comunidad con nivel de significancia ($p = ,000$), según el análisis de Chi cuadrado ($p < 0,05$).

Tabla 3. Frecuencia de subtipos de neumonía en crías de alpacas (*Vicugna pacos*) en comunidades altoandinas de Huancavelica-Perú (n = 216).

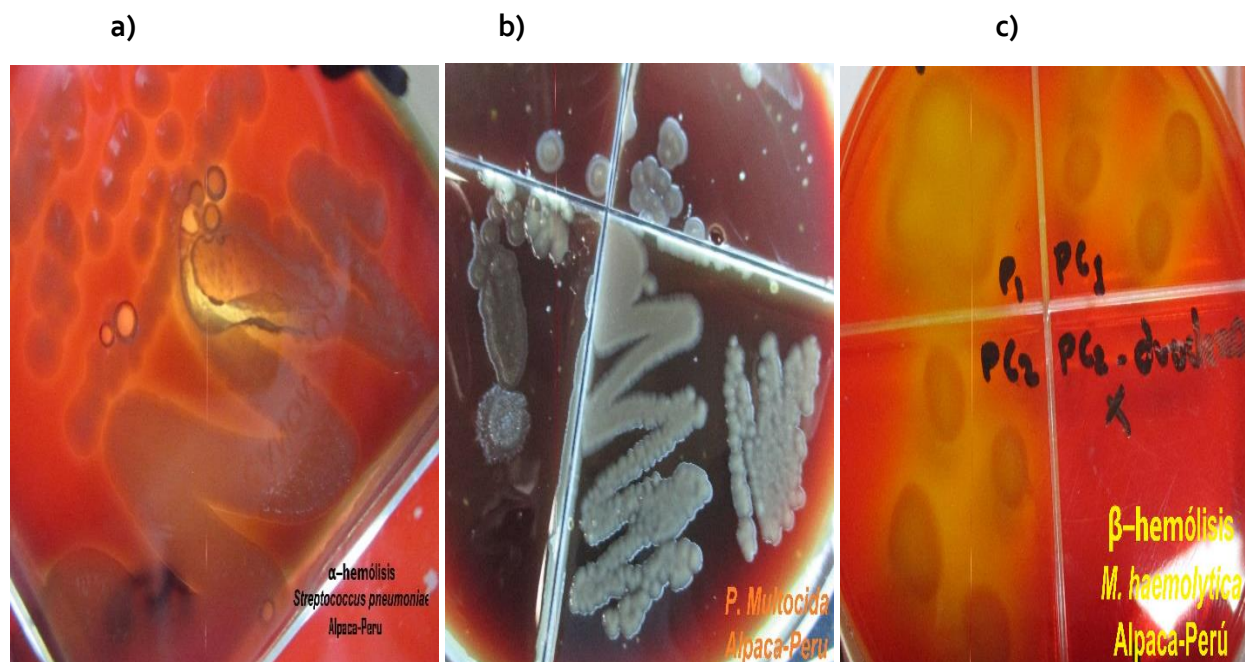
Comunidades	Sub Tipos de Neumonía									
	Neumonía por Reacción Inflamatoria						Neumonía por Difusión de Lesión			
	Exudativa		Supurativa		Proliferativa		Lobar		Intersticial	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
Pastales de Huando	4	1,8	2	0,9	12	5,6	2	0,9	4	1,8
Pucapampa	2	0,9	3	1,4	21	9,7	1	0,5	4	1,8
A. Lachocc	1	0,5	1	0,5	6	2,7	3	1,4	10	4,6
Santa Bárbara	1	0,5	-	-	9	4,2	8	3,6	8	3,6
Sacsamarca	3	1,4	1	0,5	8	3,6	3	1,4	-	-
Astobamba	-	-	1	0,5	7	3,2	4	1,8	-	-
Cachimayo	-	-	-	-	6	2,7	8	3,6	-	-
Carhuanchó	4	1,8	-	-	12	5,6	3	1,4	9	4,2
Choclococha	4	1,8	-	-	8	3,6	5	2,3	18	8,3
Matipaccana	-	-	-	-	3	1,4	2	0,9	5	2,3
TOTAL	19	9,5	8	3,8	92	4,3	39	17,8	58	26,6

Leyenda: F= Frecuencia de mortalidad de crías de alpacas, % = porcentaje de mortalidad de crías de alpacas.

De un total de 216 muestras cultivadas se aislaron cepas de *Streptococcus pneumoniae* 43,1%, *Mannheimia Hemolitica* 14,7%, *Pasteurella Multocida* 20,5% y *Streptococcus pneumoniae*-*Pasteurella Multocida* (10,4%) con predominancia asociada doble; observando en las comunidades de Pucapampa, Pastales Huando y Choclococha altas prevalencias de cepas independientes y asociadas, y el resto de comunidades con menor prevalencias (Tabla 4; Figura 3: a, b y c), hallando la relación entre agentes bacterianos y la comunidad ($p = ,000$) según el análisis de Chi cuadrado ($p < 0,05$).

Tabla 4. Frecuencia de agentes bacterianos neumónicos presentes en crías de alpacas (*Vicugna pacos*) en las Comunidades de Huancavelica-Perú (n = 216).

Comunidades	Agentes bacterianos neumónicos											
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>		<i>Mannheimia Hemolytica</i>		<i>Pasteurella Multocida</i>		<i>Streptococcus Pneumoniae-Mannheimia Hemolytica</i>		<i>Streptococcus pneumoniae-Pasteurella Multocida</i>		<i>Mannheimia Hemolytica-Pasteurella Multocida</i>	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
Pastales Huando	14	6,3	0	-	7	3,2	0	-	3	1,3	0	-
Pucapampa	15	6,9	0	-	11	5,0	0	-	5	2,3	0	-
A. Lachocc	8	3,7	9	4,2	0	-	4	1,9	0	-	0	-
Santa Bárbara	12	5,5	10	4,6	0	-	4	1,9	0	-	0	-
Sacsamarca	4	1,9	3	1,3	3	1,3	2	0,9	2	0,9	1	0,5
Astobamba	3	1,3	5	2,3	0	-	4	1,9	0	-	0	-
Cachimayo	7	3,2	0	-	5	2,3	0	-	2	0,9	0	-
Carhuacho	11	5,0	5	2,3	4	1,9	3	1,3	2	0,9	3	1,3
Choclococha	16	7,4	0	-	12	5,5	0	-	7	2,8	0	-
Matipaccana	4	1,9	0	-	3	1,3	0	-	3	1,3	0	-
Total	94	43,7	32	14,9	45	20,9	17	7,9	23	10,7	4	1,9

Figura 3. Bacterias aisladas de crías de alpacas con casos de neumonía (S-1, P-1 y M-1):a) Cepa S-1: α -hemólisis. b) Cepa P-1: *P. Multocida*. c) M-1: β -hemólisis.

4.4 Discusión

El estudio reporta 59,8% mortalidad de crías de alpacas por causas de neumonía en 10 comunidades altoandinas de Huancavelica-Perú, resultando 3 comunidades con alto índices de casos neumónicos, que estarían implicados por modificaciones constantes de microclimas extremos (nevadas prolongadas, granizada, lluvias contantes), caminatas largas por pastoreo, manejos inadecuados en actividades ganaderas (Mamani et al., 2009), y aspiraciones del líquido amniótico al momento del parto, o de leche por falsas degluciones (Mamani et al., 2009), resultando en factores predisponentes determinantes para cuadros nemónicos en animales domésticos (Guzmán et al., 2013).

Las neumonías son de importancia clínica en la producción de alpacas; sin embargo, existen escasos estudios. Así, Mamani et al. (2009) reportaron 31,12% de neumonías en alpacas, Manchego et al (1998) encontraron mortalidades por neumonía en crías de alpacas con tendencias cíclicas e irregulares en épocas lluviosas en enero (9,5%), febrero (17,5%), marzo (2,2%). Álvarez (2011) reportó 48,1% de mortalidad en bovinos por CRB. Los resultados del estudio suelen ser ligeramente superiores a los anteriores; por lo que pareciera que los criadores no practican estrategias adecuadas de manejo sanitario en crías de alpacas.

Los tipos y subtipos de neumonía son típicos en vacunos, porcinos y cobayos (Gonçalves et al., 2001; Boukahil y Czuprynski, 2018); reportándose en el estudio tipos de neumonía: Inflamación 55,1%, lesión 44,9%; subtipos de neumonía: exudativa 9,5%, supurativa 3,8%, proliferativa 42,3%, lobar 17,8% e Intersticial 26,6%, observando tendencias altas en 3 comunidades; cifras que difieren a las reportadas por Guzmán et al. (2013) quienes encontraron 11 casos de neumonía multilobar asociados a pleuritis fibrinosa y edema pulmonar en alpacas tuis. Cirilo et al. (2012) encontraron 3 casos de bronconeumonía fibrino-necrotizante supurativa, 10 casos de bronconeumonía supurativa en alpacas neonatas; en otras especies Ramírez (2015) reportó 8% de neumonía intersticial, 6,3% de bronconeumonías supurativas crónica, 12,2% de bronquitis mucopurulentas en vacunos; por su parte, Guerrero (2011) halló 48.6% de neumonía intersticial en cuyes con predominancias en machos adultos.

Los altos casos de tipos y subtipos de neumonías encontrados en alpacas neonatos estarían ligados a cambios extremos de microclimas en comunidades altoandinas (Rosadio et al., 2011; Rímac et al., 2017), falla completa o parcial de transferencia y bajos niveles de inmunoglobulinas en el calostro (Rímac, 2016; Lucas et al., 2016), favoreciendo la proliferación masiva de bacterias neumónicas (*M. Hemolytica*, *P. Multocida* y *S. pneumoniae*) que segregan Lipo poli sacárido (LPS), leucotoxina extra celular (Lkt) mediadores de citocinas proinflamatorias, procuagulantes hemorrágicos y necrosis tumoral alfa (TNF- α) en pulmones de animales domésticos (Kumar et al., 2009; Highlander, 2001), originando lesiones tisular infamatorio en pulmones de crías alpacas, por lo que resulta complejo el tratamiento farmacológico y en muchos casos sin éxito (Gonçalves et al., 2001; Singh et al., 2011).

En el estudio se reportaron *S. pneumoniae* 43,7%, *M. Hemolitica* 14,9%, *P. Multocida* 20,9%, asociados dobles entre 10,7% y 1,9%. Resultados que difieren a Rímac et al (2017), quienes aislaron 24 cepas de *P. Multocida* de 46 pulmones de alpacas neonatos de edades 1-2 meses con neumonía. De igual forma, Cirilo et al (2012) en 22 muestras aislaron 11 casos positivos de *P. Multocida*, 7 de *M. Hemolitica* en neonatos de alpacas con neumonías agudas, resultados que difieren con Pijoan, Aguilar y Morales (1999), quienes aislaron *P. Multocida* en 34 casos, *Salmonella* spp. en 12 casos y *Staphylococcus* spp. en 7 casos en becerros con neumonía. Tocqueville et al (2017) encontraron *P. Multocida* con carga 10⁵, 10⁷ y 10⁸ en porcinos neumónicos; Gamal et al (2016) encontraron 5 aislados de *P. Multocida* KMT1 en oveja con 94% de homología a búfalo, y con respecto a *S. pneumoniae* diferimos a todos los reportados, resultando como el primer caso reportado en alpacas cuya virulencia estaría originado por genes PM 2.5, luxA-E, ST615 (Herbert et al., 2018; Chen et al., 2020; Panagiotou et al., 2020).

La *P. multocida*, *M. haemolytica* y *S. pneumoniae* forma parte de la microbiota de cavidad oral, tracto respiratorio, gastrointestinal en animales domésticos y salvajes (Boukahil y Czuprynski, 2018), siendo las dos primeras bacterias frecuentes en alpacas (Cirilo et al., 2012; Rímac et al., 2017); no obstante, *S. pneumoniae* si es frecuente en humanos y roedores (Sandgren y col., 2005), lo cual justifica la presencia de *P. multocida*, *M. haemolytica* encontradas en el estudio y su virulencia estaría influenciada por serovares 10, 11, 12, 15 de genes toxA, tbpA, pfhA

de baja diversidad genética (Rímac, 2016; Rímac et al., 2017), y al uso excesivo e indebido de antimicrobianos promotores de crecimiento a posibilidades de resistencia antibacteriana (Carhuapoma et al., 2018; Carhuapoma et al., 2020), promoviendo los procesos de colonización y reactividad cruzada a infecciones subclínicas en el animal (Díaz et al., 2017), conduciendo a las fallas respiratorias y a la muerte progresiva en crías de alpacas.

El estudio muestra que es necesario realizar estudios de caracterización de cuadros neumónicos y su etiología para entender la importancia clínica y lograr una intervención terapéutica eficaz y oportuna para una producción sostenible de alpacas y otros animales domésticos.

4.5 Conclusión

Se evidenciaron altos índices de neumonías de diferentes tipos y subtipos asociados a bacterias neumónicas como *Mannheimia Hemolitica*, *Pasteurella Multocida* y *Streptococcus pneumoniae* en neonatos muertos de alpacas. De igual forma, se observa que tres comunidades altoandinas presentan tendencias altas de neumonías asociados a bacterias Gram (+).

4.6 Referencias bibliográficas

- Aldrete, J. (2002). Técnicas de necropsia en animales domésticos. Editorial Manual Moderno Santa Fe.
- Álvarez, I. (2011). Análisis del comportamiento del Complejo Respiratorio Bovino en la engorda "Dos Matas", Municipio de Tierra Blanca, Veracruz, durante el periodo octubre 2009 – octubre 2010. Tesis de mtría. Universidad Veracruzana.
- Avril, J., P. Donnio y P. Pouedras (1990). Selective medium for *Pasteurella multocida* and its use to detect oropharyngeal carriage in pig breeders. En: Journal of Clinical Microbiology 28.6, 1438-1440. Online: <https://bit.ly/39S66At>.
- Aldrete J. (2002). Técnicas de necropsia en animales domésticos. Editorial Manual Moderno Santa Fe Bogotá- Colombia.

- <https://www.yumpu.com/es/document/view/60844545/tecnicas-de-necropsia-en-animales-domesticos>
- Boukahil, I. y C. Czuprynski (2018). Mutual antagonism between *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* when forming a biofilm on bovine bronchial epithelial cells in vitro. En: Veterinary microbiology 216, 218-222. Online: <https://bit.ly/3bmJwAl>.
- Campbell Donald, T. y C. Stanley Julian (1995). Diseños experimentales y cuasiexperimentales en la investigación social. Amorrortu.
- Carbonero, A. y col. (2011). Factores de riesgo del síndrome respiratorio bovino en terneros lactantes de Argentina. En: Archivos de zootecnia 60.229, 41-51. Online: <https://bit.ly/3HPV6jK>.
- Carhuapoma, D. y col. (2018). Antibacterial in vitro of effect *Urtica dioica* and *Piper angustifolium* in alpacas (*Vicugna pacus*) with diarrheal enteropathies. En: MOJ Anat y Physiol 5.2, 160-162. Online: <https://bit.ly/3nmOPCs>.
- Carpio, M. (1991). Producción de rumiantes menores: alpacas. En: RERUMEN. Cap. Camélidos y socioeconomía andina, págs. 3-5.
- Chen, Y. y col. (2020). PM2. 5 impairs macrophage functions to exacerbate pneumococcus-induced pulmonary pathogenesis. En: Particle and fibre toxicology 17.1, 1-14. Online: <https://bit.ly/3Nh8led>.
- Cirilo, E. y col. (2012). Coexistencia de virus y bacterias en neumonías agudas en alpacas neonatas. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 23.3, 317-335. Online: <https://ng.cl/ej4mw>.
- Cozens, D. y col. (2019). Pathogenic *Mannheimia haemolytica* invades differentiated bovine airway epithelial cells. En: Infection and immunity 87.6, e00078-19. Online: <https://bit.ly/3QYOWfo>.
- Carhuapoma, D. y col. (2020). Resistencia antibiótica de *Salmonella* sp, *Escherichia coli* aisladas de alpacas (*Vicugna pacus*) con y sin diarrea. En: LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida 31.1, 98-109. Online: <https://ng.cl/uah8u>
- Díaz, A. y col. (2017). Serological survey of antibodies to *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* in camelids from Argentina. En: Ann Infect Dis Epidemiol 2.4, 1024. Online: <https://bit.ly/3OHvNCB>.
- Fegan, N., P. Blackall y J. Pahoff (1995). Phenotypic characterisation of *Pasteurella multocida* isolates from Australian poultry. En: Veterinary microbiology 47.3-4, 281-286. Online: <https://bit.ly/3QPPBFG>.
- Gamal, M. y col. (2016). Rapid diagnosis of virulent *Pasteurella multocida* isolated from farm animals with clinical manifestation of pneumonia respiratory infection using 16S rDNA

- and KMT1 gene. En: Asian Pacific Journal of Tropical Disease 6.1, 21-26. Online: <https://bit.ly/3OIVokF>.
- Gonçalves, R. y col. (2001). Diferenciação clínica da broncopneumonia moderada e grave em bezerros. En: Ciência Rural 31, 263-269. Online: <https://bit.ly/3HQkHQP>.
- Guerrero, D. (2011). Descripción histopatológica de patrones neumónicos en cuyes (*Cavia porcellus*) de la mortalidad presentada en 30 días en la Granja Experimental Botana de la Universidad de Nariño. Tesis de maestría. Universidad de Nariño-Colombia.
- Guzmán, K. y col. (2013). Asociación de agentes virales y bacterianos en cuadros de neumonías agudas en alpacas tuis. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 24.4, 524-536. Online: <https://ng.cl/1cgku>.
- Herbert, J. y col. (2018). Expression of the lux genes in *Streptococcus pneumoniae* modulates pilus expression and virulence. En: Plos one 13.1, e0189426. Online: <https://bit.ly/3nkITtX>.
- Highlander, S. (2001). Molecular genetic analysis of virulence in Mannheimia (Pasteurella) haemolytica. En: Frontiers in Bioscience-Landmark 6.3, 1128-1150. Online: <https://bit.ly/3NnpMtQ>.
- Kumar, P. y col. (2009). Identification of *Pasteurella multocida* isolates of ruminant origin using polymerase chain reaction and their antibiogram study. En: Tropical animal health and production 41.4, 573-578. Online: <https://bit.ly/3QL4lpt>.
- Lucas, J. y col. (2016). Pathogens involved in fatal cases of diarrhea in young alpacas in the central highlands of Peru. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú (RIVET) 27.1, 169-175. Online: <https://bit.ly/3xXsqR5>.
- Mamani, J., Z. Condemayta y L. Calle (2009). Causas de mortalidad de alpacas en tres principales centros de producción ubicados en puna seca y húmeda. En: REDVET 10.8. Online: <https://bit.ly/3xWTxMn>.
- Manchego, A., H. Rivera y R. Rosadio (1998). Seroprevalencia de agentes virales en rebaño mixto de una comunidad andina peruana. En: Rev. Inv. Pec IVITA 9.2, 1-10. Online: <https://bit.ly/3OoMldh>.
- Moore, M., L. Cicnjak-Chubbs y R. Gates (1994). A new selective enrichment procedure for isolating *Pasteurella multocida* from avian and environmental samples. En: Avian Diseases, 317-324. Online: <https://bit.ly/3ylRtiv>.
- Morales, S. y col. (2017). Determinación de serotipos de *Escherichia coli* aisladas de crías de alpacas (*Vicugna pacos*) con y sin diarrea en Huancavelica. En: REDVET. Revista electrónica de veterinaria 18.9, 1-14. Online: <https://bit.ly/3OphTW7>.

- Panagiotou, S. y col. (2020). *Hypervirulent pneumococcal* serotype 1 harbours two pneumolysin variants with differential haemolytic activity. En: Scientific reports 10.1, 1-15. Online: <https://go.nature.com/3OqS4ow>.
- Pijoan, P., F. Aguilar y J. Morales (1999). Caracterización de los procesos neumónicos en becerros lecheros de la región de Tijuana Baja California, México. En: Vet. Méx 30.2, 149-55. Online: <https://bit.ly/3HSGfoE>.
- Ramírez, C. (2015). Lesiones macroscópicas y microscópicas en pulmones de bovinos engordados en corral que ameritan decomiso en rastro. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Ramírez, R. y col. (2012). Presence of bovine virus diarrhea in association with other pathologies in feedlot cattle. En: Veterinaria México 43.3, 225-234. Online: <https://bit.ly/3QQqAKI>.
- Rímac, R. (2016). Caracterización molecular de *Pasteurella multocida* aislada de alpacas con signos de neumonía. Tesis de maestría. Universidad Mayor de San Marcos.
- Rímac, R. y col. (2017). Análisis de diversidad genética de cepas de *Pasteurella multocida* aisladas de alpacas con signos de neumonía. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 28.3, 723-729. Online: <https://ng.cl/fzuey>.
- Rosadio, R. y col. (2011). Respiratory syncytial and parainfluenza type 3 viruses coexisting with *Pasteurella multocida* and *Mannheimia hemolytica* in acute pneumonias of neonatal alpacas. En: Small Ruminant Research 97.1-3, 110-116. Online: <https://bit.ly/3u3blyO>.
- Rosadio, R. y col. (2012). El complejo entérico neonatal en alpacas andinas. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 23.3, 261-271. Online: <https://ng.cl/dhs1bv>.
- Sandgren, A. y col. (2005). Virulence in mice of pneumococcal clonal types with known invasive disease potential in humans. En: The Journal of infectious diseases 192.5, 791-800. Online: <https://bit.ly/3ninZLP>.
- Schaefer, A. y col. (2012). The non-invasive and automated detection of bovine respiratory disease onset in receiver calves using infrared thermography. En: Research in veterinary science 93.2, 928-935. Online: <https://bit.ly/3bnkf9f>.
- Sicha, F. y col. (2020). Análisis filogenético de cepas de *Escherichia coli* aisladas de crías de alpacas (*Vicugna pacos*) con diarrea en la sierra central del Perú. En: Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 31.2, e17826. Online: <https://ng.cl/f4ayz>.
- Singh, K., J. Ritchey y A. Confer (2011). *Mannheimia haemolytica*: bacterial-host interactions in bovine pneumonia. En: Veterinary Pathology 48.2, 338-348. Online: <https://bit.ly/39QQ4Yh>.

- Svensson, C. y col. (2003). Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. En: Preventive veterinary medicine 58.3-4, 179-197. Online: <https://bit.ly/3njOHUk>.
- Tocqueville, V. y col. (2017). Quantification of *Pasteurella multocida* in experimentally infected pigs using a real-time PCR assay. En: Research in veterinary science 112, 177-184. Online: <https://bit.ly/3njPko8>.
- Zanabria, V., H. Rivera y R. Rosadio (2000). Etiología del síndrome neumónico agudo en vacunos de engorde en Lima. En: Rev. Inv. Vet. Perú 11.2, 169-187. Online: <https://bit.ly/3HQsiHG>.

Capítulo V

**BACTERIAS FIBROLÍTICAS AISLADAS DE RUMEN DE ALPACA,
OVINO Y VACUNO CON CAPACIDAD BIODEGRADADORA DE
CELULOSA**

5. BACTERIAS FIBROLÍTICAS AISLADAS DE RUMEN DE ALPACA, OVINO Y VACUNO CON CAPACIDAD BIODEGRADADORA DE CELULOSA

FIBROLYTIC BACTERIA ISOLATED FROM THE RUMEN OF ALPACA, SHEEP AND CATTLE WITH CELLULOSE BIODEGRADING CAPACITY

Victor Carhuapoma De la cruz

Universidad Nacional Huancavelica-Perú

yachayruacc@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-4330-6099>.

Gissel Shian Auqui Acharte

Universidad Nacional Huancavelica-Perú

gisse2295@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-0474-8978>

Nicasio Valencia Mamani

Universidad Nacional Huancavelica-Perú

valencian955@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-9408-7770>

Teresa Huaman Gonzales

Universidad Nacional Huancavelica-Perú

teresa.gonzales@unh.edu.pe

 <http://orcid.org/0000-0003-2945-3874>

Mario Esparza Mantilla

Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo-Perú

esparza@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0003-3604-6054>

Resumen

Las bacterias ruminales celulolíticas se utilizan en la alimentación de rumiantes por su capacidad biodegradable de forrajes fibrosos. Sin embargo, existen escasos estudios en alpaca, ovino y vacuno si constituyen fuentes de microorganismos degradadores de celulosa para aplicaciones en biotecnología alimentaria. En este capítulo disertamos como se aisló y evaluó el potencial degradador in vitro de la celulosa de las bacterias ruminales celulíticas de alpaca, ovino

y vacuno. Se recolectaron muestras de líquido ruminal de ocho especímenes de alpaca, vacuno y ovino del matadero municipal de la localidad de Huancavelica – Perú, ubicado a 3820 metros sobre el nivel del mar en Perú. Las muestras ruminales fueron cultivadas en medios con carboximetilcelulosa, enriquecidos con caldo infusión cerebro corazón en condiciones aeróbicas y anaeróbicas hasta lograr desarrollo de colonias bacterianas. Luego se realizó la caracterización microbiológica, bioquímica y análisis de producción de celulasas de cada aislado bacteriano usando el método de coloración de rojo Congo y se evaluó el diámetro de los halos (mayor a 10-14 milímetros (mm)) de degradabilidad de celulosa. Se encontró bacterias celulolíticas *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus* y *Fibrobacter succinogenes* con alta capacidad de degradabilidad de celulosa (halo mayor a 14 mm). Este hallazgo indica que los líquidos ruminales de alpaca, vacuno y ovino son excelentes fuentes de bacterias productoras de celulasas con alta capacidad degradadora de celulosa.

Palabras clave: Alpaca, biotecnología, bacterias, celulasas, celulosa

Abstract

Cellulolytic ruminal bacteria are used in ruminant feeding due to their biodegradable capacity in fibrous forages. However, there are few studies in alpaca, sheep and cattle whether they constitute sources of cellulose degrading microorganisms for applications in food biotechnology. In this chapter we describe how the in vitro cellulose degrading potential of cellulolytic ruminal bacteria from alpaca, sheep and cattle was isolated and evaluated. Ruminal fluid samples were collected from eight alpacas, cattle and sheep specimens from the Municipal slaughterhouse in the town of Huancavelica - Peru, located at 3820 meters above sea level in Peru. Ruminal samples were cultured in media with carboxymethylcellulose, enriched with brain heart infusion broth under aerobic and anaerobic conditions until the development of bacterial colonies was achieved. Then the microbiological, biochemical characterization and cellulase production analysis of each bacterial isolate was performed using the Congo red staining method and the diameter of the halos (greater than 10-14 millimeters (mm)) of cellulose

degradability was evaluated. Cellulolytic bacteria *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus* and *Fibrobacter succinogenes* with high capacity for cellulose degradability (halo greater than 14 mm) were found. This finding indicates that alpaca, cattle and sheep ruminal fluids are excellent sources of cellulase-producing bacteria with high cellulose degrading capacity.

Keywords: Alpaca, biotechnology, bacteria, cellulases, cellulose.

5.1 Introducción

En el Perú, el faenado de alpaca (*Vicugna pacos*), ovino (*Ovis orientalis aries*) y bovino (*Bos taurus*) en los mataderos municipales se ha incrementado por el crecimiento poblacional del consumidor, y producen cerca de 3.500 kilogramos (kg) de contenidos ruminales semanales, siendo depositados en los basureros municipales, aguas residuales y pocas veces tratados (Arcos et al., 2004; Morales y Gonzales, 2014; Vargas et al., 2020), implicando la proliferación de olores putrefactos, presencia de moscas (*Musca domestica*); ocasionado la contaminación ambiental en toda sus dimensiones, constituyéndose en una amenaza para la salud pública y un problema global para el ecosistema (Li et al., 1993; Arcos et al., 2001).

Estudios preliminares reportan que, en los contenidos ruminales de vacuno están presentes bacterias celulolíticas entre el 1 y 5 % de la flora ruminal (Vasta et al., 2019), siendo los *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus*, *Fibrobacter succinogenes* y *Fibrobacter succinogenes elongata* especializados en degradar la celulosa a partir de plantas fibrosas originando los hidratos de carbono poliméricos a compuestos sencillos como los ácidos grasos y alcoholes a través de un complejo enzimático celulósico y por la excreción de celulasas extracelulares (Handique et al., 2017; Mitsumori, 2018; Ren et al., 2019).

Hasta la actualidad, las bondades benéficas presentadas por estas bacterias celulolíticas no son aprovechadas para producir inóculos de bacterias ruminales en la alimentación de rumiantes debido a sus complejas propiedades metabólicas para el crecimiento y aislamiento óptimo in vitro (Loaiza 2017; Nyonyo et al., 2014), añadiéndose a ello escasos reportes de su potencial degradador de la celulosa en condiciones de laboratorio.

Por todo lo antes expuesto, el objetivo de la presente investigación consistió en aislar y evaluar el potencial degradador in vitro de la celulosa por las bacterias ruminales celulíticas de alpaca, ovino y vacuno, para producir biomasa de cepas puras biodegradadoras de celulosa y aprovechar el líquido ruminal como activo biológico fuente de bacterias y enzimas para la nutrición de rumiantes.

5.2 Metodología

Recolección material biológico: Se recolectaron 8 muestras de líquido ruminal fresco en envases estériles de 50 mililitros (mL) según especie animal (alpaca, ovino y vacuno), teniendo a la alpaca como especie comparativa principal de investigación, haciendo un total 24 muestras, sin distinción de edades y sexo, del matadero municipal de Huancavelica – Perú, siendo rotuladas y trasladadas en un contenedor térmico (Termo porta vacuna, Mod.KST, Marca Thermos, China), con hielo biológico al laboratorio de Salud Animal, área de Microbiología de la Universidad Nacional de Huancavelica – Perú, para su estudio microbiológico; previo a ello se tramitaron autorizaciones para el ingreso y recogida de muestras del matadero, a través de la Municipalidad Provincial de Huancavelica-Perú.

Cultivo y aislamiento de bacterias ruminales: Los líquidos ruminales de cada especie animal (alpaca, ovino y vacuno) fueron filtrados con el fin de retener los materiales flotantes, a partir de ello se tomaron 2 mL de líquidos ruminales de manera independiente por especie animal. Posteriormente se realizaron diluciones seriadas de 10:1 a 10:5 en agua peptonada buferada al 0,1 % [10], y fueron cultivadas por agotamiento en agar carboximetilcelulosa (CMC) añadiéndose aserrín al 1 % y suplementadas con sangre desfibrinada de alpaca al 5 %, para la obtención de cepas anaerobias de *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus* e incubados 37°C durante 48 horas (h) en condiciones de anaerobiosis colocándose los cultivos en Garra de Gaspar, adicionándose Sachet de Anaerocult® C como inhibidor de oxígeno y para los aerobios de *Fibrobacter succinogenes*, *Fibrobacter succinogenes elongata*, incubados 37°C durante 48 h en condiciones aeróbicas, repitiéndose los cultivos 3 veces hasta presenciar colonias separadas que poseen alto grado de morfologías similares en una extensión realizada (Londoño et al., 2012).

Identificación de bacterias ruminales: La identificación *R. flavefaciens*, *R. albus*, *F. succinogenes* y *F. succinogenes elongata*, se realizaron mediante sus características macroscópicas (forma, color, borde, elevación y consistencia), microscópica (grupo y tinción Gram) y pruebas bioquímicas de Triple Sugar Iron Agar (TSI), Agar Lisina- Hierro (LIA), Agar citrato de Simmons (SIMON), Sulfide Indole Motility (SIM), Voges-Proskauer y Catalasa (Teather y Wood 1982).

Capacidad degradativa de bacterias ruminales: Para evaluar la capacidad de la actividad celulítica cualitativo, las cepas de *R. flavefaciens*, *R. albus*, *F. succinogenes* y *F. succinogenes elongata*, fueron seleccionadas las cepas que fueron positivas en los cultivos primarios, a partir de ellos fueron cultivados de manera independiente por repique en medios de Agar selectivo de CMC, suplementados con aserrín al 1 % e incubados a 37°C por 72 h y siendo coloreadas todas las bacterias crecidas con reactivo rojo Congo al 0,1 %, dejándose en reposo a 30 minutos y lavados con solución de NaCl a 1 molar (M) a chorreo y luego fueron cubiertos con ácido acético al 2 % por 10 segundos, con el fin de apreciar la eficiencia de la capacidad degradativa de la celulosa y apariciones de halos desarrollados (Suardíaz et al., 2004).

Las bacterias se consideró según la cantidad y el diámetro de los halos de degradabilidad de celulosa desarrollados en el cultivo, desarrollándose la medición matemática de la disposición de diámetro de la zona clara dividido entre el diámetro de la colonia (Sonia y Kusnadi2015), mediante el uso de Vernier Digital (Calibre digital electrónico IP54 de acero inoxidable-China) y categorizadas a escalas valorativas: Baja degradabilidad (halos ≤ 10 milímetros (mm)), moderada degradabilidad (halos 11-13 mm), alta degradabilidad (≥ 14 mm) en referencia a lo disertado de Russell et al., (2009), considerándose los grupos: Bacterias aeróbicas: CR alpaca: [N = 36 halos; *F. succinogenes* (n = 24 halos), *F. succinogenes elongata* (n = 12 halos)]; CR ovino: [N = 32 halos; *F. succinogenes* (n = 8 halos), *F. succinogenes elongata* (n = 24 halos)]; CR vacuno: [N = 40 halos; *F. succinogenes* (n = 28 halos), *F. succinogenes elongata* (n = 12 halos)] y bacterias anaeróbicas: CR alpaca: [N = 28 halos; *R. flavefaciens* (n = 16 halos), *R. albus* (n = 12 halos)]; CR ovino: [N = 20 halos; *R. flavefaciens* (n = 12 halos), *R. albus* (n = 8 halos)]; CR vacuno: [N = 12 halos; *R. flavefaciens* (n = 4 halos), *R. albus* (n = 8 halos)].

Análisis estadístico: La investigación fue de tipo descriptivo, observacional, prospectivo-transversal, los datos fueron procesados mediante paquete estadístico SPSS Vers. 20.0 (Zarco, 2011) e interpretados mediante comparación de frecuencias.

5.3 Resultados

De un total de 24 muestras (líquido ruminales) estudiadas, se obtuvieron presencia de bacteria aeróbica de *F. succinogenes* 87,5 % en vacunos y 75,0 % en alpaca, mientras que, *F. succinogenes elongata* presentaron en 50,0 %; 87,5 % en alpaca y ovino: así mismo se encontraron alta prevalencia de bacteria anaeróbica de *R. flavefaciens* (75 %) en alpaca y ovino y *R. albus* (37,5 %) en líquido ruminal de alpaca (Tabla 1 y 2, Figura 1).

Tabla 1. Frecuencia de bacterias aeróbicas celulolíticas ruminales en alpaca, ovino y vacuno (N = 24).

Grupos de estudios	Must. Est.	<i>Fibrobacter succinogenes</i>				<i>Fibrobacter succinogenes elongata</i>			
		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo	
		Fr.	%	Fr.	%	Fr.	%	Fr.	%
LRA	8	6	75,0	2	25,0	4	50,0	4	50,0
LRO	8	3	37,5	5	62,5	7	87,5	1	12,5
LRV	8	7	87,5	1	12,5	3	37,5	5	62,5

Fr. = frecuencia; LRA = líquido ruminal de alpaca; LRO = líquido ruminal de ovino; LRV = líquido ruminal de vacuno.

Tabla 2. Frecuencia de bacterias celulolíticas ruminales anaerobias de alpaca, ovino y vacuno (n= 24).

Grupos de estudios	Must. Est.	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>				<i>Ruminococcus albus</i>			
		Positivo		Negativo		Positivo		Negativo	
		Fr.	%	Fr.	%	Fr.	%	Fr.	%
LRA	8	6	75,0	2	25,0	3	37,5	5	62,5
LRO	8	6	75,0	2	25,0	2	25,0	6	75,0
LRV	8	1	12,5	7	87,5	2	25,0	6	75,0

Fr. = frecuencia; LRA = liquido ruminal de alpaca; LRO = liquido ruminal de ovino; LRV = liquido ruminal de vacuno.

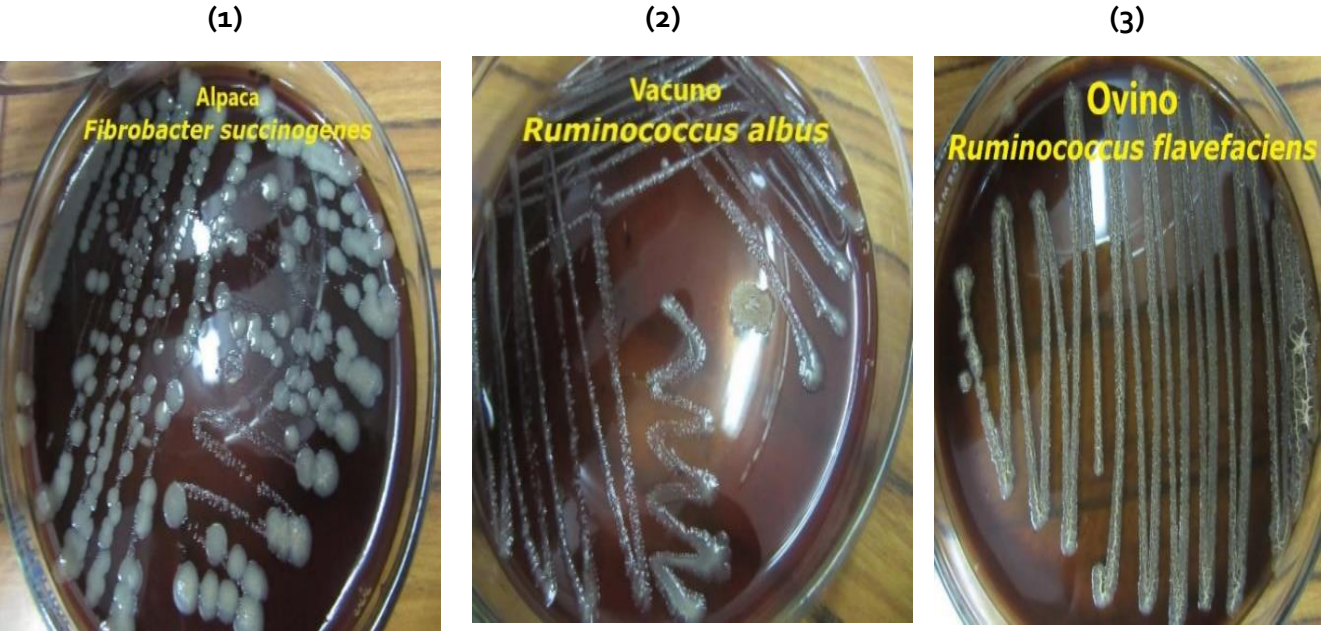


Figura 1. Bacterias aisladas de tres líquidos ruminales: alpaca (1), vacuno (2) y ovino (3), en medio BHI.

Las cepas de *F. succinogenes* provenientes de muestras de alpaca y ovino presentaron alta capacidad degradativa celulolíticas (70,8 y 50,0 %) y *F. succinogenes elongata* en vacuno y alpaca (50,0 y 43,8 %), igualmente se encontró alta capacidad degradativa en *R. flavefaciens* provenientes de alpaca y ovino (62,2 y 50,0 %) y *R. albus* provenientes de alpaca (66,7 %) siendo inferiores en cepas de otras especies de estudio (Tabla 3 y4; Figura 2).

Tabla 3. Capacidad degradativa de bacterias celulolíticas ruminales aeróbicas en alpaca (N = 36 halos), ovino (N = 32 halos) y vacuno (N = 40 halos). La tabla está en fotografía cambiar en la editable.

Grupos de estudios	Total Halos	Fibrobacter Succinogenes						Total Halos	Fibrobacter succinogenes elongata					
		BAJO		MODERADO		ALTO			BAJO		MODERADO		ALTO	
		Frec	%	Fre	%	Frec	%		Frec	%	Frec	%	Frec	%
LRA	24	3	12,5	4	16,7	17	70,8	12	4	25,0	1	6,3	7	43,8
LRO	8	0	0,0	4	50,0	4	50,0	24	2	7,1	11	39,3	11	39,3
LRV	28	4	14,3	20	71,4	4	14,3	12	1	8,3	5	41,7	6	50,0

Frec. = frecuencia; LRA = liquido ruminal de alpaca; LRO = liquido ruminal de ovino; LRV = liquido ruminal de vacuno.

Tabla 4. Capacidad degradativa de bacterias celulolíticas ruminales aeróbicas en alpaca (N = 28 halos), ovino (N = 20 halos) y vacuno (N = 12 halos).

Grupos de estudios	Total Halos	Ruminococcus flavefaciens						Total Halos	Ruminococcus albus					
		BAJO		MODERADO		ALTO			BAJO		MODERADO		ALTO	
		Frec	%	Frec	%	Frec	%		Frec	%	Frec	%	Frec	%
LRA	16	1	4,2	5	33,3	10	62,5	12	0	0,0	4	33,3	8	66,7
LRO	12	1	8,3	5	41,7	6	50,0	8	7	87,5	0,0	0,0	1	12,5
LRV	4	1	12,5	3	37,5	0	0,0	8	0	0,0	6	75,0	2	25,0

Frec. = frecuencia; LRA = liquido ruminal de alpaca; LRO = liquido ruminal de ovino; LRV = liquido ruminal de vacuno.

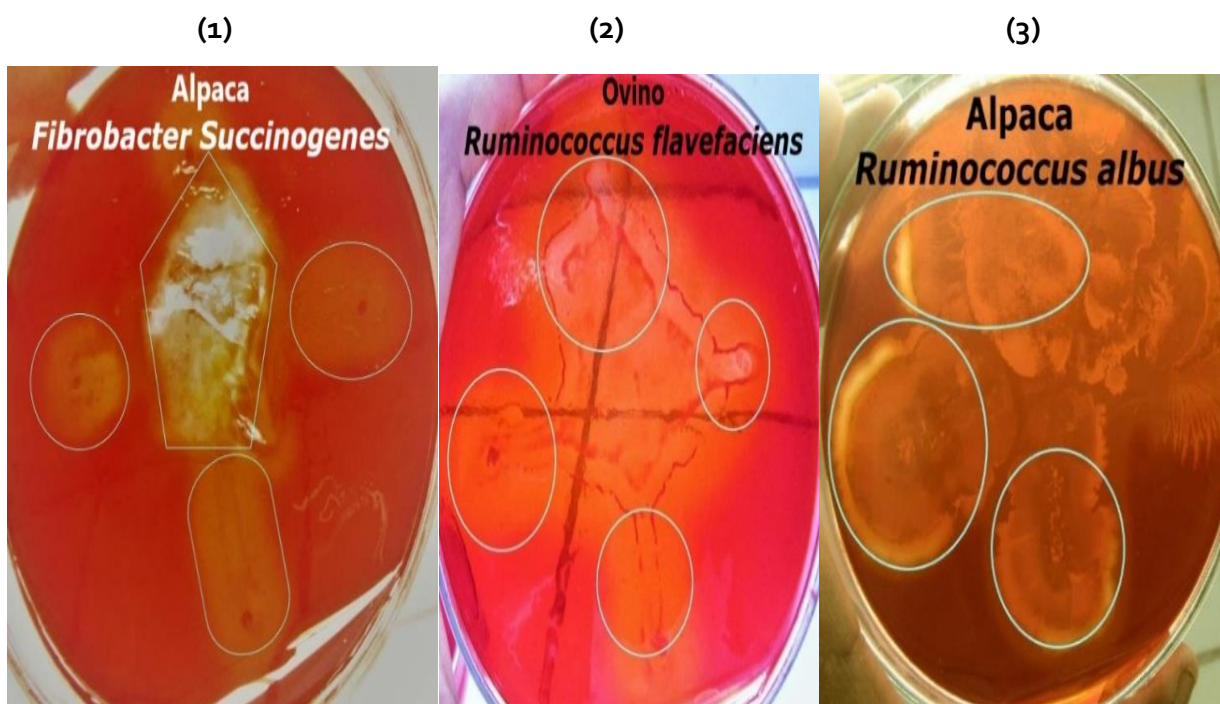


Figura 2. Producción de celulasas por bacterias ruminales de alpaca (1), ovino (2) y alpaca (3)

5.4 Discusión

Los resultados demuestran alta frecuencia de bacterias aeróbicas de *F. succinogenes*, *F. succinogenes* elongata en los líquidos ruminal de alpaca, vacuno y ovino, observándose en el líquido ruminal de alpaca mayor biomasa, similar comportamiento encontrado en bacterias anaeróbicas como *R. flavefaciens* en líquidos ruminales de alpaca y ovino, mientras que el *R. albus* se apreció con mayor incidencia en el líquido ruminal de alpaca.

Las prevalencias altas de bacterias celulolíticas ruminales encontradas en líquidos ruminales de alpaca, vacuno y ovino en el estudio estarían relacionadas a la presencia de genes rRNA 16S, que resultan codificar enzimas esenciales para hidrolizar la pared celular de las plantas fibrosas (Cai et al., 2010; Nyonyo et al., 2014), resultando ser como precursores para el masivo desarrollo de microorganismos ruminales (Huang et al., 2012; Guerreiro et al., 2021; Tolve et al., 2021).

Por otro lado, el consumo de alimentos con altos contenidos de carbohidratos estructurales (fibrosos) resultan ser fuentes de bacterias celulolíticas tal como suelen ocurrir en vacunos, ovinos (Mateo et al., 2002), y siendo la alpaca camélido rumiante de presentar fisiología metabólica especializada de segregar mucosa glandular que permite la secreción de tamponadores que contribuyen con la saliva en la mantención de un pH favorable para la acción de microorganismos celulolíticos como las bacterias de *F. succinogenes*, *F. succinogenes elongata*, *R. flavefaciens* y *R. albus* (Vasta et al., 2019)..

En un estudio realizado por Guerrero (2021), se identificaron cepas de *R. flavefaciens*, *R. albus*, *F. succinogenes* y *F. succinogenes elongata* en contenidos ruminales de bovinos, y Aihemaiti et al (2013) aislaron 84 cepas celulolíticas del líquido ruminal de ovejas, vacas y camellos (*Camelus bactrianus Linnaeus*), de los cuales encontraron 37 cepas Gram negativas y 3 cepas Gram positivas, con predominancias de *Stenotrophomonas maltophilia*, *Ochrobactrum*, *Sphingobacterium*, *Microbacterium*, *Paracoccus* y *Pseudomonas*, mientras que Arcos et al., (2004) encontraron diferencias estadísticas ($P < 0,05$) en crecimiento microbiano de *F. succinogenes* en vacunos de engorde; así mismo, Ramírez (2019), logró cuantificar bacterias celulolíticas ruminales con una correlación positiva (0,826; $P = 0,000$) provenientes de vacunos de pastoreo a través de la técnica de recuento de células en placa. Los resultados encontrados en el estudio resultan ser similares a algunos reportados en los párrafos anteriores y difieren con los otros, pero existen escasos estudios orientados a líquidos ruminales en alpacas.

La excelente capacidad degradativa de celulosa demostrada por las bacterias celulolíticas provenientes de alpaca confirman que están presentes los 3 genes β -1,4-glucanasas (celulasas), que son precursores para la degradación eficaz de la celulosa natural y la generación de enzimas potencialmente para metabolizar (hemi) celulosa (Londoño et al., 2012; Koeck et al., 2014), así mismo se hace entender que, las bacterias aisladas del líquido ruminal de alpaca suelen ser más especializadas para degradar eficientemente la celulosa, posiblemente a la presencia de mayor número de genes de β -1,4-glucanasas y a su hábitat en un estilo de pastoreo completo con diversidad de pastos como alimento exclusivo, por lo que el rumen de la alpaca puede

albergar una flora microbiana distinta de la de otros rumiantes debido a su dieta de componentes de fibra, ya que la dieta puede resultar un factor determinante.

Otro estudio demostró que las bacterias celulolíticas de rumiantes y no rumiantes tienen limitaciones para la digestión de celulosa por efectos de interacciones de matriz entre biopolímeros de pared celular, baja superficie del sustrato y la penetración limitada de microbios celulolíticos inmóviles (Mba Medie et al., 2012), pero estas bacterias son altamente adaptativas por ser organismos mesófilos más activos (Veeresh y Jin 2014; Ren et al., 2019), por lo que, las bacterias encontradas en el estudio modificaron genéticamente sus limitaciones digestivas, atribuyéndose ser eficientes en la digestión de celulosa in vitro (Wang et al., 2017; Russell et al., 2009), los carbohidratos vegetales resultaron fuente de energía para rumiantes (Tolve et al., 2021), como se han apreciado en el estudio.

En un estudio reciente, realizado por Srivastava et al (2021) demostraron que, las bacterias celulolíticas y hemicelulolíticas del rumen de camello suelen ser excelentes bioprocesadoras celulósicas a partir de residuos agrícolas para la obtención de biocombustibles; y Mateo et al (2002) afirman, que en un cultivo de bacterias ruminales degradadoras de aserrín, un incremento en su degradación in vitro, del 21 y 59,7 %. Arcos et al (2001) encontraron a *F. succinogenes* aislados de bovinos en pastoreo con mayor capacidad degradativa de pared celular de *Bouteloua repens* (Navajita rastrea) que la cepa de referencia *F. succinogenes* ATCC 19169 (13,77 vs. 7,94 %).

Así mismo, Ossa et al (2001) ratificaron que, las cepas de *R. flavefaciens* nativos (bovinos en pastoreo) presentan mayor degradación de pared celular que la cepa de referencia *R. flavefaciens* ATCC 19208 (11,09 – 12,87 % vs. 6,83 %), mientras que Sánchez y Cobos (2016) demostraron actividad heterofermentativa celulósicas con baja capacidad de degradación de MS. Ramírez (2019) reporta alta degradabilidad cinética de materia seca (MS) y proteína cruda (PC) ($P > 0,05$), a efectos de contenidos ruminales en caprinos criollos alimentados con dietas integrales de forrajera moringa; (*Moringa oleífera* Lam). Por otra parte, estudio realizado en Ecuador, Loja y Ashqui (2019) obtuvo mejores coeficientes de digestibilidad in situ de la MS del

maní forrajero “(*Arachis pinto*)” a diferentes edades de corte en bovinos, estos reportes coinciden con los resultados encontrados en el presente estudio, haciendo hincapié que los animales en pastoreo suelen presentar bacterias celulolíticas con alto potencial degradador de la celulosa al digerir biodiversidad de forrajes fibrosos; por entonces, sería valioso producir inóculos de bacterias ruminales que permitan la incorporación exitosa en alimentos fibrosos en la alimentación de los rumiantes.

5.5 Conclusiones

Los líquidos ruminales de alpaca, vacuno y ovino mostraron ser excelentes fuentes de bacterias celulolíticas (*R. flavefaciens*, *R. albus*, *F. succinogenes* y *F. succinogenes elongata*) y con alta capacidad degradadora de celulosa; demostrando ser más eficiente el contenido ruminal y cepas de alpaca para aplicaciones biotecnológicas (tales como: biofermentadores, biodegradadores, catalizadores biológicos) en camélidos sudamericanos y otros rumiantes.

5.6 Referencias bibliográficas

- Arcos, ML, Ossa, F. y Díaz, TE (2004). Criopreservación de aislados nativos de la bacteria ruminal *Fibrobacter succinogenes*. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 5 (1), 60-63. https://doi.org/10.21930/rcta.vol5_num1_art:26
- Arcos, M.; Ossa, F.; Díaz, T. (2001). Aislamiento, conservación y evaluación de la cinética de crecimiento y actividad celulolítica de aislados de *Fibrobacter succinogenes* de bovinos en pastoreo de gramíneas tropicales. Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 3(2), 77-78.
- Aihemaiti, M., Zhen, F., Li, Y., Aibaidoula, G., & Yimit, W. (2013). Wei sheng wu xue bao, Acta Microbiologica Sinica, 53(5), 470–477.
- Cai, S., Li, J., Hu, F. Z., Zhang, K., Luo, Y., Janto, B., Boissy, R., Ehrlich, G., & Dong, X. (2010). Cellulosilyticum ruminicola, a newly described rumen bacterium that possesses redundant fibrolytic-protein-encoding genes and degrades lignocellulose with multiple carbohydrate- borne fibrolytic enzymes. Applied and environmental microbiology, 76(12), 3818–3824. <https://doi.org/10.1128/AEM.03124-09>
- Guerrero-Calle, A. (2021). Aislamiento de bacterias ruminales degradadoras de celulosa. Tesis de Grado. Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca-Ecuador.

- Guerreiro, O., Alves, S. P., Costa, M., Duarte, M. F., Jerónimo, E., & Bessa, R. J. B. (2021). Effects of Increasing Doses of Condensed Tannins Extract from *Cistus ladanifer* L. on In Vitro Ruminal Fermentation and Biohydrogenation. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11(3), 761. <https://doi.org/10.3390/ani11030761>
- Handique, G., Phukan, A., Bhattacharyya, B., Baruah, A. A., Rahman, S. W., & Baruah, R. (2017). Characterization of cellulose degrading bacteria from the larval gut of the white grub beetle *Lepidiotia mansueta* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Archives of insect biochemistry and physiology*, 94(2), 10.1002/arch.21370. <https://doi.org/10.1002/arch.21370>.
- Huang, S., Sheng, P., & Zhang, H. (2012). Isolation and identification of cellulolytic bacteria from the gut of *Holotrichia parallela* larvae (Coleoptera: Scarabaeidae). *International journal of molecular sciences*, 13(3), 2563–2577. <https://doi.org/10.3390/ijms13032563>
- Koeck, D. E., Pechtl, A., Zverlov, V. V., & Schwarz, W. H. (2014). Genomics of cellulolytic bacteria. *Current opinion in biotechnology*, 29, 171–183. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.07.002>
- Li, R. C., Nix, D. E., & Schentag, J. J. (1993). New turbidimetric assay for quantitation of viable bacterial densities. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 37(2), 371–374. <https://doi.org/10.1128/AAC.37.2.371>
- Lei, Z.; Zhang, K.; Li, C.; Jiao, T.; Wu, J.; Wei, Y.; Tian, K.; Li, C.; Tang, D.; Davis, D. I.; Casper, D. P.; Jiang, H.; Wang, X.; Wang, J. (2019), Ruminal Metagenomic Analyses Of Goat Data Reveals Potential Functional Microbiota by supplementation with essential oil-cobalt complexes. *BMC Microbiol*, 19(1), 30. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1400-3>
- Londoño-Zapata, A. F., Fernández-Correa, J. A., Molina-Guzmán, L. P., Polanco-Echeverry, D., & Gutiérrez-Builes, L. A. (2012). Cuantificación de bacterias celulolíticas anaerobias provenientes del rumen de ganado bovino: comparación de tres técnicas. *Hechos Microbiológicos*, 2(1), 51–59. <https://doi.org/10.17533/udea.hm.10878>
- Loaiza-Centeno, D. (2017). Bacterias celulolíticas con características probióticas del intestino de termitas y su evaluación como potenciales degradadoras de totora (*Schoenoplectus tatora*). Tesis de Grado. Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú.
- Mateo, J.; Cobos, M.; Trinidad, A.; Cetina-Alcalá, V.; Vargas-Hernández, J. (2002). Aislamiento de bacterias ruminales degradadoras del aserrín. *Agrocien*. 36:523-530.
- Mba Medie, F., Davies, G. J., Drancourt, M., & Henrissat, B. (2012). Genome analyses highlight the different biological roles of cellulases. *Nature reviews. Microbiology*, 10(3), 227–234. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2729>
- Morales-Gálvez, T.R.; Gonzales-Baldeon, A. (2014). Uso del contenido ruminal (alimento no digerido) de vacuno en la ración y su influencia en el incremento de peso en cuyes, en el

- valle de Huaura. Tesis de Grado. Universidad Nacional de José Faustino Sánchez Carrión. Huacho, Perú.
- Mitsumori M. (2018). Isolation of Cellulolytic Bacteria from the Rumen. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1796, 57–65. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7877-9_5
- Nyonyo, T., Shinkai, T., & Mitsumori, M. (2014). Improved culturability of cellulolytic rumen bacteria and phylogenetic diversity of culturable cellulolytic and xylanolytic bacteria newly isolated from the bovine rumen. *FEMS microbiology ecology*, 88(3), 528–537. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12318>
- Ossa, F.; Arcos, M.; Rodríguez, J.; Díaz, T. (2001). Identificación molecular de bacterias celulolíticas ruminales y degradación de la pared celular de *Bouteloua repens* por aislados nativos de *Ruminococcus flavefaciens*. *Revista Corpoica*. 3(2): 29-30. 2001.
- Ren, Z., Yao, R., Liu, Q., Deng, Y., Shen, L., Deng, H., Zuo, Z., Wang, Y., Deng, J., Cui, H., Hu, Y., Ma, X., & Fang, J. (2019). Effects of antibacterial peptides on rumen fermentation function and rumen microorganisms in goats. *PloS One*. 14(8), e0221815. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221815>
- Russell, J. B., Muck, R. E., & Weimer, P. J. (2009). Quantitative analysis of cellulose degradation and growth of cellulolytic bacteria in the rumen. *FEMS microbiology ecology*, 67(2), 183–197. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00633.x>
- Teather, R. M., & Wood, P. J. (1982). Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Applied and environmental microbiology*, 43(4), 777–780. <https://doi.org/10.1128/aem.43.4.777-780.1982>
- Sánchez-Santillán, P.; Cobos-Peralta, M.A. (2016). Producción in vitro de ácidos grasos volátiles de bacterias celulolíticas reactivadas y bacterias ruminales totales en sustratos celulósicos. *Agrocien*. 50(5), 565-574.
- Suardíaz, J.; Cruz, C.; Colina, A. (2004). Exploración del metabolismo de las lipoproteínas. Laboratorio Clínico. Editorial Ciencias Médicas. La Habana. Pp. 23-34.
- Srivastava, S., Dafale, N. A., Jakhesara, S. J., Joshi, C. G., Patil, N. V., & Purohit, H. J. (2021). Unraveling the camel rumen microbiome through metaculturomics approach for agriculture waste hydrolytic potential. *Archives of Microbiology*, 203(1), 107–123. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02010-x>
- Tolve, R., Galgano, F., Condelli, N., Cela, N., Lucini, L., & Caruso, M. C. (2021). Optimization Model of Phenolics Encapsulation Conditions for Biofortification in Fatty Acids of Animal Food Products. *Foods* (Basel, Switzerland), 10(4), 881. <https://doi.org/10.3390/foods10040881>

- Vargas, J.E.; Andrés, S.; López-Ferreras, L.; Snelling, T.J.; Yáñez-Ruíz, D.R.; García-Estrada, C.; López, S. (2020). Dietary supplemental plant oils reduce methanogenesis from anaerobic microbial fermentation in the rumen. *Scientific. Report.* 10(1): 1613. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58401-z>
- Vasta, V., Daghighi, M., Cappucci, A., Buccioni, A., Serra, A., Viti, C., & Mele, M. (2019). Invited review: Plant polyphenols and rumen microbiota responsible for fatty acid biohydrogenation, fiber digestion, and methane emission: Experimental evidence and methodological approaches. *Journal of dairy science*, 102(5), 3781–3804. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14985>
- Veeresh, J.; Jin, Ch.W. (2014). Microbial cellulases: Engineering, production and applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 33: 188-203. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.01.077>
- Wang, M., Wang, R., Zhang, X., Ungerfeld, E. M., Long, D., Mao, H., Jiao, J., Beauchemin, K. A., & Tan, Z. (2017). Molecular hydrogen generated by elemental magnesium supplementation alters rumen fermentation and microbiota in goats. *The British journal of nutrition*, 118(6), 401–410. <https://doi.org/10.1017/S0007114517002161>
- Zarco-Laveaga, J.R. (2011). IBM SPSS Statistics Base 20. Copyright IBM Corporation. 312 pp.
- Ramírez-Malavé, C. (2019). Degradabilidad ruminal en caprinos criollos alimentados con dietas integrales cuya base forrajera es la moringa; *Moringa oleífera Lam.* Tesis de Grado. Universidad Estatal Península de Santa Elena. La Libertad, Ecuador.
- Loja-Arpi, D.; Ashqui-Ramírez, J. (2019). Valorización de la degradación ruminal y digestibilidad in vitro del maní forrajero (*Arachis Pintoi*). Tesis de Grado. Universidad Estatal Amazónica. Puyo, Ecuador.
- Sonia, N.M.O; Kusnadi, J. (2015). Isolation and Partial Characterization of Cellulase Enzyme from Isolate Os-16 Cellulolytic Bacteria Origin Bromo-Tengger Desert. *Jurnal Pangan dan Agroindustri.* 3(4), 11-19.

EVIDENCIAS DE MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA CLÍNICA EN ALTA MONTAÑA DE CAMELIDOS SUDAMERICANOS, HUANCVELICA-PERÚ

Víctor Carhuapoma De la cruz

Candidato masters en Producción Animal
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
yachayruacc@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-4330-6099>

Nicasio Valencia Mamani

Doctor en Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
valenciang955@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-9408-7770>

Víctor Guillermo Sánchez Araujo

Doctor en Ciencias ambientales
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
victor.sanchez@unh.edu.pe .

 <https://orcid.org/0000-0002-7702-0881>

Teresa Huaman

Gonzales

Doctora en Ingeniería Ambiental
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
teresa.gonzales@unh.edu.pe.

 <http://orcid.org/0000-0003-2945-3874>

Rufino Paucar Chanca

Doctor en Producción Animal
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
rufipc@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0001-6820-6185>

Epifanio Lizana Hilario

Ing. Zootecnista
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
epi_elh@outlook.com.pe

 <https://orcid.org/0000-0002-5909-2996>

EVIDENCIAS DE MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA CLÍNICA EN ALTA MONTAÑA DE CAMELIDOS SUDAMERICANOS, HUANCABELICA-PERÚ

*Paul Herber Mayhua
Mendoza*

Magister en Producción animal
Universidad Nacional
Huancavelica-Perú
paul.mayhua@unh.edu.pe

 <https://orcid.org/0000-0002-0831-8502>

Jorge L. Huere Peña

M.Sc. Ingeniería de Sistemas
Universidad Nacional Mayor de San Marcos-Perú
jorge.huere@unh.edu.pe

 <http://orcid.org/0000-0002-3114-8134>

Rodrigo Huamán Jurado

Doctor en Medio Ambiente y Desarrollo
Sostenible
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
rodrigo.hueman@unh.edu.pe

 <https://orcid.org/0000-0003-1599-8996>

William Salas Contreras

Doctor en Ciencias Biológicas
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
wilysalasc@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0001-7664-3000>

Cauti Siever Morales

Post Grado en Doctorado en Ciencias Biológicas
Universidad Nacional Mayor de San Marcos-Perú
Sieverm@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-5396-8889>

*Gissel Shian Auqui
Acharte*

Bachiller en Ingeniería Zootecnia
Universidad Nacional Huancavelica-Perú
gisse2295@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0002-0474-8978>

Mario Esparza Mantilla

Post-Doctorado en Bioinformática
Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo-Perú
esparza@gmail.com

 <https://orcid.org/0000-0003-3604-6054>

A young llama stands in the foreground of a vast, high-altitude landscape. The ground is a mix of reddish-brown soil and patches of snow. In the background, a range of rugged mountains is partially covered in snow under a cloudy sky. A dark red rectangular box is superimposed on the upper portion of the image, containing the title text in white.

EVIDENCIAS DE MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA CLÍNICA EN ALTA MONTAÑA DE CAMELIDOS SUDAMERICANOS, HUANCAVELICA-PERÚ

Editorial Centro de Investigaciones y Capacitaciones Interdisciplinarias SAS – CICI
Cartagena – Colombia

ISBN 978-628-95934-0-2