

## CARACTERIZACIÓN ANÁTOMO-HISTOPATOLÓGICA DE ENTEROPATÍAS CAUSANTES DE MORTALIDAD EN CRÍAS DE ALPACA

César Palacios E.<sup>1</sup>, Rosa Perales C.<sup>2</sup>, Alfonso Chavera C.<sup>2</sup> y Teresa López U.<sup>3</sup>

### ABSTRACT

A total of 48 intestinal samples of new born alpacas which died due to diarrhea processes were evaluated. Samples collected during the dry season (June-August, 2002) were from animals belonging to the Experimental Research Station of IVITA, La Raya, Cusco, and those collected during the parturition season (February, 2003) were from a farmers community in Nuñoa, Puno. Topographic intestinal samples were taken, fixed in 15% formalinen solution and stained with H-E. Thirty seven cases were compatible with bacterial processes, where 30 of them were due to enterotoxemia and the other 7 were processes complicated with colibacillosis. Only two of these cases were associated with *Cryptosporidium* sp. Four cases were related with *Eimeria macusaniensis* and enterotoxemia and 7 cases with *E. macusanensis* and *E. punoensis*. Only 4 cases were observed in association with *E. lamae*. This is the first report of intracellular forms of *E. ivitaensis* in Lieberkhün glands of yeyuno and ileum, and extracellular forms of *E. macusaniensis* in smal intestine, cecal and ascendent colon.

**Key words:** alpaca, enteritis, mortality, eimeria

### RESUMEN

Se estudiaron 48 muestras de intestino de crías de alpaca muertas por procesos diarreicos durante la época seca (junio-agosto, 2002) en la Estación Experimental del Centro de Investigación IVITA, Cusco, y en la campaña de parición (febrero, 2003) en una comunidad alpaquera de Nuñoa, Puno. Se tomaron muestras topográficas de intestino, fijadas en formol al 15% y coloreadas con Hematoxilina-Eosina. Treinta y siete casos fueron compatibles con procesos bacterianos, donde 30 correspondieron a cuadros de enterotoxemia y 7 a colibacillosis. Sólo en dos de estos casos hubo complicación con *Cryptosporidium* sp. En 4 casos se observó asociación entre *E. macusaniensis* y enterotoxemia. Hubo 7 casos de eimeriosis, asociadas a *E. macusaniensis* y *E. punoensis*, y 4 de ellas complicadas con *E. lamae*. Se reporta, por primera vez, la presencia de formas intracelulares de *E. ivitaensis* en las criptas de Lieberkhün del yeyuno e ileon y de formas extracelulares de *E. macusaniensis*, tanto en intestino delgado, como en ciego y colon ascendente.

**Palabras clave:** alpaca, enteritis, mortalidad, eimeria

<sup>1</sup> Práctica privada. E-mail: cpalacios82@hotmail.com

<sup>2</sup>Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria, FMV-UNMSM

<sup>3</sup>Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, FMV-UNMSM

## INTRODUCCIÓN

El término de enteritis neonatal es ampliamente usado para describir las enfermedades que cursan con disfunción intestinal, usualmente asociado a diarrea; debido principalmente a la sobre estimulación de la función secretora de las criptas epiteliales (salmonela, colibacilosis), interferencia con la absorción (enteritis viral), incremento de la permeabilidad (enteritis clostridial) e hipermotilidad (Ramírez, 1991).

La enterotoxemia producida por *Clostridium perfringens* tipo A en alpacas fue descrita por primera vez por Moro (1956). Se encuentra definida como una toxemia de curso fatal causada por una enterotoxina Mr 34 Kdal (Ramírez, 1991). La mortalidad puede llegar hasta 70% afectando a las crías con buena condición de carnes (Moro, 1956). Sin embargo, algunos aspectos relacionados a su sintomatología no corresponden a lo que se observa comúnmente en otras especies domésticas. En campo, las infecciones no son únicas, sino asociadas con otros agentes; dentro de ellas, las cepas de *E. coli* enteropatógena (Ramírez *et al.*, 1985) piliadas (Nieves, 1987).

La colibacilosis puede causar una mortalidad de 15 a 20% en un periodo de 4 a 15 días, llevando a los animales a un estado de emaciación debido a la diarrea (Moro, 1956). Sus características toxigénicas han sido demostradas experimentalmente en animales de laboratorio (ratas y conejos) y en el campo con crías de alpacas, llegando a ser similares a lo observado en condiciones naturales (Ramírez *et al.*, 1985). Por otro lado se ha observado con microscopía electrónica un gran número de partículas virales morfológicamente compatibles con Rotavirus en muestras de contenido intestinal, que fueron tomadas al inicio del proceso de la enfermedad (Chang y Rivera, 1985).

La eimeriosis es una parasitosis de animales mayores; sin embargo, puede presentarse a las 2 semanas de edad cursando con sintomatología clínica de diarrea o en forma subclínica. Las lesiones consideradas patognomónicas se ubican en la mucosa ileal como nodulaciones blanquecinas que contienen numerosas formas intracelulares del parásito. Se han descrito hasta el momento 5 tipos de *Eimeria* que afectan a las alpacas: *E. alpaca*, *E. lamae*, *E. punoensis*, *E. macusaniensis* y *E. ivitaensis* (Guerrero y Leguía, 1987; Leguía y Casas, 1998). Las tres primeras ejercen su acción patógena en los enterocitos de las vellosidades, en tanto que la *E. macusaniensis* afecta las criptas de Lieberkhün (Guerrero y Leguía, 1987). Con respecto a la *E. ivitaensis*, se desconoce a que nivel ejerce su acción patógena (Leguía y Casas, 1998).

El *Cryptosporidium parvum* es un parásito causante de diarrea en terneros, caprinos, ovinos y otros mamíferos (Jubb *et al.*, 1990). Se ha descrito en alpacas sanas (Rojas *et al.*, 1988) y en aquellas que presentaron diarrea (López, 1997).

En el presente trabajo se describen las alteraciones macro y microscópicas en tracto intestinal causantes de mortalidad en crías de alpacas diagnosticadas en el campo con procesos entéricos, con el fin de ayudar a mejorar la comprensión de la patogenia de la enteritis neonatal.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó la evaluación macro y microscópica de crías de alpacas muertas con enteritis, y que no mostraron procesos autolíticos, durante la época de seca (junio-agosto del 2002) y de lluvia (febrero del 2003), en el Centro Experimental La Raya- UNSAAC, a más de 4,200 msnm y en una comunidad alpaquera de Nuñoa, Puno, a más de 4,300 msnm.

Cuadro 1. Frecuencia y tipo de lesiones macroscópicas en intestino de crías de alpacas de acuerdo al diagnóstico de necropsia

Por necropsia	Enteritis	Estructura					
		Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon	Recto
Colibacilosis	Catarral	7	7	7	7	7	7
	Catarral	30	3	-	12	13	30
Enterotoxemia	Necrótica hemorrágica	-	14	6	6	3	-
	Necrótica hemorrágica <sup>1</sup>	-	8	3	-	-	-
	Necrótica	-	5	17	8	9	-
	Fibrinosa	-	-	4	4	5	-
Eimeriosis	Catarral	7	-	-	7	7	7
	Necrótica	-	7	-	-	-	-
	Necrótica hemorrágica	-	-	7	-	-	-
	Fibrinosa	-	-	-	-	-	-
Eimeriosis + enterotoxemia	Catarral	4	-	-	2	2	4
	Necrótica hemorrágica	-	3	1	1	1	-
	Necrótica hemorrágica <sup>1</sup>	-	1	1	-	-	-
	Necrótica	-	-	2	-	-	-
	Fibrinosa	-	-	-	1	1	-

<sup>1</sup>Panenteritis

Se registraron datos referentes a sexo, edad y condición corporal. Se usó la técnica convencional de necropsia para rumiantes, evaluándose el sistema cardio respiratorio, urogenital y tracto gastro intestinal, con énfasis en segmentos del intestino delgado (duodeno, yeyuno, íleo) e intestino grueso (ciego, colon, recto). Cada segmento intestinal fue fijado en formalina al 15% para su evaluación histopatológica. Los cortes se realizaron de 4 a 5 micras de grosor coloreándose con Hematoxilina-Eosina, Azul de toluidina, Giemsa, Tricrómico de Shorr y Ziehl-Neelsen. Las alteraciones macroscópicas y microscópicas fueron categorizadas en una escala de 0 a 3 (0: ningún cambio; 1: leve; 2: moderado; 3: severo).

La evaluación macroscópica abarcó la mucosa, contenido intestinal y capa muscular, en tanto que la evaluación microscópica incluyó mucosa, submucosa, muscular y serosa.

## RESULTADOS

Se hizo la evaluación histopatológica de 48 crías de alpaca sobre un total de 148 animales necropsiados. De estos, 30 casos fueron compatibles a la necropsia con enterotoxemia, 11 con eimeriosis y 7 con colibacilosis. La frecuencia de lesiones macroscópicas y microscópicas se muestran en los cuadros 1 y 2.

En dos casos se apreciaron estructuras basófilas de 3 a 4 micras de diámetro en el ápice de las vellosidades y en las criptas de Lieberkhün, compatibles con *Cryptosporidium* sp., llegando a ubicarse en algunos casos en las glándulas de Brunner. En cuatro casos se observaron formas intracelulares (trofozoitos, esquizontes y gamontes) de *Eimeria macusaniensis* en el yeyuno medio, yeyuno final e íleon y en algunos casos en el

Cuadro 2. Frecuencia y tipo de lesiones microscópicas en intestino de crías de alpacas, de acuerdo al diagnóstico de necropsia

Necropsia	Enteritis	Estructura					
		Duodeno	Yeyuno	Íleon	Ciego	Colon	Recto
Colibacilosis	Catarral	7	4	4	7	4	5
	Necrótica	-	3	3	-	-	-
	Mucocatarral	-	-	-	-	-	2
	Muconecrótica	-	-	-	-	3	-
Enterotoxemia	Catarral	3	-	-	3	5	14
	Necrótica hemorrágica	-	4	-	1	2	-
	Necrótica hemorrágica <sup>1</sup>	-	6	2	-	-	-
	Necrótica supurativa <sup>1</sup>	-	2	1	-	-	-
	Necrótica	27	18	21	14	14	-
	Fibrinonecrotica	-	-	4	4	4	-
	Neurótica supurativa	-	-	2	-	-	-
	Muconecrótica	-	-	-	3	-	-
Eimeriosis	Mucocatarral	-	-	-	-	-	7
	Necrótica	-	7	7	7	7	-
	Catarral	7	-	-	-	-	-
Eimeriosis + Enterotoxemia	Necrótica supurativa	-	2	3	-	-	-
	Necrótica hemorrágica	-	1	-	-	1	-
	Necrótica hemorrágica <sup>1</sup>	-	1	-	-	-	-
	Necrótica	4	-	-	-	-	-
	Necrótica supurativa <sup>1</sup>	-	-	1	-	-	-
	Fibrinonecrotica	-	-	-	1	1	-
	Muconecrótica	-	-	-	2	-	-
	Mucocatarral	-	-	-	-	-	3
Catarral	-	-	-	1	2	1	

<sup>1</sup>Panenteritis

ciego y colon, asociados a procesos compatibles con enterotoxemia.

## DISCUSIÓN

Siete animales murieron con lesiones compatibles con colibacilosis a la necropsia y caracterizadas por moderada a severa acu-

mulación de fluido intraluminal, acompañados de moderada a severa hiperemia, y con regular a pobre estado de carnes; lesiones similares a las descritas en campo (Moro, 1956) y en infecciones experimentales en alpacas (Ramírez *et al.*, 1985). Similares observaciones han sido señaladas en bovinos (Malshat y Taylor, 1983) y cerdos (Jubb *et al.*, 1990; Jones y Hun, 1990).

Las alteraciones histopatológicas no han sido descritas hasta el momento en alpacas. En estos casos, las lesiones en yeyuno fueron variables. En 3 casos, las vellosidades estuvieron alargadas, llegando a fusionarse en algunas zonas, el epitelio estaba intacto con discreta hiperplasia de células caliciformes, y el corion con leve a moderada infiltración linfoplásmica e hiperemia. En los 4 casos restantes, las vellosidades del yeyuno estuvieron menos alargadas, con moderada infiltración linfoplásmica acompañada de hiperemia, y a diferencia de los tres casos anteriores, el epitelio se descarnaba profusamente en muchas zonas, quedando expuesta la membrana basal. Estas alteraciones han sido descritas en bovinos (Malshat y Taylor, 1983) y cerdos (Jubb *et al.*, 1990) asociadas a *E. coli* enteropatógena, la cual ha sido reportada en alpacas (Ramírez *et al.*, 1985).

En dos casos se encontró *Cryptosporidium* sp. adheridos tanto a la superficie de la vellosidad como en la cripta. López *et al.* (2001) reporta que las alteraciones microscópicas consisten en atrofia de vellosidades y cambio del epitelio parasitado de cilíndrico a cúbico, acompañado de moderada infiltración linfoplásmica. Estos cambios fueron parcialmente observados en el yeyuno del presente estudio; sin embargo, en íleon se observó atrofia y fusión de vellosidad. Otra causa de atrofia de vellosidades en bovinos y cerdos son infecciones por Rotavirus y Coronavirus, los cuales predisponen infecciones por *E. coli* enteropatógena (Jubb *et al.*, 1990; Pearson y Logan, 1979). Por otro lado, no se puede descartar la posibilidad de una infección mixta de virus con bacterias, ya que se han aislado partículas virales compatibles con Rotavirus en crías con diarrea y se ha demostrado títulos de anticuerpos contra estos agentes (Chang y Rivera, 1985).

Se observaron 30 casos compatibles con enterotoxemia. Las alteraciones macroscópicas de necrosis y hemorragia fueron similares a las descritas por Moro (1956). La mucosa intestinal presentaba zonas de acorta-

miento y fusión de vellosidades en algunas zonas, mientras que en otras, la necrosis variaba desde exfoliativa hasta erosiones múltiples y las criptas se mostraban dilatadas y, a veces llenas de células neutrofilicas con el epitelio exfoliado. El colapso del corion estaba acompañado de vasculitis, edema e infiltrado mixto de tipo mononuclear y polimorfo nuclear. Numerosos bacilos gram positivo de morfología compatible con *Clostridium perfringens* fueron observados en la mucosa necrosada. Las lesiones microscópicas son compatibles a las descritas en terneros para *Clostridium perfringens* tipo A (Niilo, 1973). Los hallazgos encontrados y la evidencia de la literatura sugieren que el *Clostridium perfringens* causa lesiones entéricas generales y es un importante iniciador o contribuyente de las enfermedades entéricas en crías de alpacas. Las lesiones necróticas llegaban a comprometer en 4 casos a todas las capas intestinales, variando de una panenteritis necrótica supurativa a necrótica hemorrágica. Este tipo de lesión se observa comúnmente en cerdos asociados a *Clostridium perfringens* de tipo C (Jubb *et al.*, 1990) y no ha sido descrito anteriormente en alpacas.

Las formas intracelulares de *Eimeria* sp. asociadas a cuadros de enterotoxemia se han descrito en aves y mamíferos. Algunos autores postulan que pueden llegar a predisponer la proliferación clostridial causando severos cuadros necróticos que pueden comprometer la serosa (Mesfin *et al.*, 1987). Las formas intracelulares observadas correspondieron a trofozoitos, esquizontes y macrogamontes de *E. macusaniensis*, las cuales se ubicaban en el intestino delgado, similar a lo descrito por Rosadio y Ameghino (1990); sin embargo, algunos gamontes se llegaron a observar en ciego y colon, no habiendo sido reportados anteriormente en intestino grueso en cuadros de enterotoxemia.

Siete casos de eimeriosis no estuvieron complicados con enterotoxemia. A la necropsia se observaron áreas hiperémicas focalizadas, tanto en yeyuno final como en íleon. En todos los casos se observaron

micronodulaciones blanquecinas de 1 a 3 cm de diámetro en íleon y yeyuno, similares a otros resportes (Rosadio, 1990; Guerrero y Leguía 1987). Los esquizontes (Ez) de *E. alpaca*, *E. punoensis* y *E. lamae* fueron encontrados tanto en yeyuno final como en íleon, al igual que los macrogamontes (Ma) y microgamontes (Mi) de *E. alpaca* y *E. punoensis*. Esto último difiere de lo reportado por Guerrero y Leguía (1987), quienes lo describen únicamente a nivel del íleon. Los Ma y Mi de *E. lamae* se localizaron en el íleon, concordando con reportes de la literatura (Guerrero y Leguía, 1987). Con respecto a la *E. macusaniensis*, se evidenciaron tanto Ez, Mi y Ma en el yeyuno medio, final e íleon, similares a otros reportes en alpacas (Rosadio, 1990; Guerrero y Leguía, 1987). La localización de los trofozoitos de esta eimeria no se habían descrito anteriormente y aquí se observaron en el yeyuno inicial y medio.

La morfología del trofozoito es similar al Ma inmaduro y solo puede ser diferenciado por la actividad mitótica del primero (Jubb *et al.*, 1991). Al examen histopatológico se observó una lesión de tipo necrótica exfoliativa caracterizada por denudación y necrosis de vellosidades, acompañadas de severa infiltración de PMN y MN en el corion. La hiperplasia de las criptas fue un hallazgo frecuente y acompañado de moderado edema similar a lo descrito en lesiones asociadas a *E. falciformis* en ratones (Mesfin *et al.*, 1978).

### CONCLUSIONES

- Las alteraciones entéricas en crías de alpacas varían en severidad (leve, moderado y severo) y tipo de inflamación (catarral, necrótico, hemorrágico, necrótico fibrinoso, etc), incluso dentro de un mismo segmento intestinal.

- Las lesiones encontradas son generales e inespecíficas al querer asociarse a noxas, ya sean estas virales o bacterianas; sin embargo, permite evaluar el daño entérico y contribuye a un mejor conocimiento de la patogénesis del complejo entérico neonatal en crías de alpacas.

### LITERATURA CITADA

1. **Chang, F.; H. Rivera. 1985.** Reporte preliminar sobre la prevalencia del virus influenza tipo A y rotavirus en alpacas. V Conv. Inter. sobre Cam. Sud. Cusco, Perú. p 37.
2. **Guerrero, C.; G. Leguía. 1987.** Enfermedades infecciosas y parasitarias de alpacas. Rev. Cam. Sud. CISC-IVITA 4: 34-38.
3. **Jones, T.; R. Hun. 1990.** Patología veterinaria. 2ª ed. p 178. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires.
4. **Jubb, K.; P. Kennedy; N. Palmer. 1990.** Patología de los animales domésticos. 3ª ed. Vol 2. p 406-408. Hemisferio Sur. Uruguay.
5. **Leguía, G.; E. Casas. 1998.** *Eimeria ivitaensis* (Protozoa: Eimeridae) en alpacas *Lama pacos*. Rev. Per. Parasitol. 13: 59-61.
6. **López, T. 1997.** Estudio epidemiológico de la cryptosporidiosis en alpacas neonatas. Tesis Doctoral. Univ. de León. España. 173 p.
7. **López, T; A. González; F. Vázquez. 2001.** Infección experimental de alpacas neonatas de alpacas con *Cryptosporidium parvum*. Rev. Acad. Per. Cienc. Vet. 2: 11-17.
8. **Malshat, R.; D. Taylor. 1983.** Bacteria in enteric lesions of cattle. Vet. Rec. 112: 2-15.
9. **Mesfin, G.; J. Bellamy; P. Atcockdale. 1987.** The pathological changes caused by *Eimeria falciformis* var *pragensis* in mice. Can. J. Com. Med. 42: 496-510.

10. **Moro, M. 1956.** Contribución al estudio de las enfermedades de los auquénidos. Rev. Fac. Med. Vet., UNMSM, Lima 7-11: 5-116.
11. **Nieves, R. 1987.** Potencial enteropatógeno de *E. coli* aislados de alpacas neonatales. MSc Thesis. Colorado State University. USA.
12. **Niilo, L. 1973.** Effect in calves of the intravenous injection of the enterotoxin of *Clostridium welchii* type A. J. Comp. Path. 83: 265-269.
13. **Pearson, G; E. Logan. 1979.** The pathogenesis of enteric colibacillosis in neonatal unsuckled calves. Vet. Rec. 105: 159-164.
14. **Ramírez, A.; R. Ellis; J. Sumar; V. Leyva. 1985.** *E. Coli* enteropatógena en alpacas neonatales: Aislamiento de intestino delgado y su inoculación oral. Resúmenes V Conv. Inter. sobre Cam. Sud. Cusco, Perú. p 34.
15. **Ramírez, A. 1991.** Enteritis neonatal. En: Avances y perspectivas del conocimiento de camélidos sudamericanos. FAO. Santiago de Chile. p 280-357.
16. **Rojas, M.; I. Lobato; M. Montalvo. 1988.** Cryptosporidium en camélidos sudamericanos. X Cong. Pan. Cienc. Vet. Lima, Perú.
17. **Rosadio, R.; E. Ameghino. 1990.** Coccidiosis en alpacas. En: Avances sobre investigaciones de salud animal en camélidos sudamericanos. Bol. Div. IVITA 23: 48-50.