

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



“DESCRIPCIÓN ECOGRÁFICA DEL CUERNO UTERINO, PORCENTAJE DE POLIMORFONUCLEARES (LAVADO UTERINO) Y AISLAMIENTO BACTERIANO EN ALPACAS (*Vicugna pacos*) TUIS DE DOS AÑOS DEL CIP CHUQUIBAMBILLA”

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. LOURDES NERI LIMACHE MAMANI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO – PERÚ

2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

“Descripción ecográfica del cuerno uterino, porcentaje de polimorfonucleares (lavado uterino) y aislamiento bacteriano en alpacas (*Vicugna pacos*) tuis de dos años del CIP Chuquibambilla”

PRESENTADA POR:

Bach. LOURDES NERI LIMACHE MAMANI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADA POR:

PRESIDENTE

:

MVZ. CIRIACO TEODORO ZUÑIGA ZUÑIGA

PRIMER MIEMBRO

:

Mg. Sc. ALBERTO SOTO QUISPE

SEGUNDO MIEMBRO

:

Mg. Sc. NUBÍA LILIA CATAORA FLORES

DIRECTOR

:

Dr. MANUEL GUIDO PÉREZ DURAND

ASESOR

:

Mg. Sc. OSCAR DAVID ORÓS BUTRÓN

Área : Salud animal

Tema : Enfermedad infecciosa en alpacas

DEDICATORIA

A mis padres, **Aurelia y Pedro**, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy, de manera especial a mi hermano **Orlando** pues él fue el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional.

A mis hermanas **Betsabet, Laura, Patricia**, a mi hermano **Juan Julio**, a mi querida cuñada **Cinthia**, a mis adorados sobrinos **Sebastián y Emmanuel** quienes son personas que me han ofrecido su apoyo, amor y calidez familiar.

Con mucho aprecio a **Vilma Hilaria**, con quien ejecute la tesis y con mucho agradecimiento a una persona que me brindó su apoyo y aliento hasta el último.

Lourdes Neri

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mi Padre Celestial por dejarme vivir, por hacerme aprender de mis errores, gracias por darme aliento cuando ya no encontraba salida.

A la Universidad Nacional del Altiplano en especial a la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por haberme acogido en sus aulas y a todos sus docentes quienes me inculcaron sus enseñanzas.

Al personal académico administrativo de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por su amistad y servicio durante mi formación profesional.

A mi Director de tesis el **Dr. Guido Pérez Durand** por su dirección y apoyo en mi investigación.

Al **Dr. Oscar Oros** quien me brindó su apoyo, su amistad y paciencia durante la ejecución y culminación de mi trabajo.

Al **Mg.Sc. Uri Harol Pérez Guerra** por su amistad, enseñanza como docente y apoyo en la ejecución de mi trabajo de investigación.

Al CIP Chuquibambilla por el apoyo en el uso de animales y al laboratorio de Microbiología e Inmunología de la facultad de MVZ de la UNA- Puno por hacer uso de sus equipos y reactivos para mi trabajo de investigación.

A los miembros de jurado, **MVZ. Ciriaco Teodoro Zuñiga Zuñiga, Mg.Sc. Alberto Soto Quispe, Mg.Sc. Nubia Lilia Catacora Flores** por las correcciones, comentarios y sugerencias.

Lourdes Neri

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	8
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
I. INTRODUCCIÓN	11
II. REVISIÓN DE LITERATURA	13
2.1. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL ÚTERO DE LA HEMBRA.....	13
2.1.1. ANATOMÍA DEL ÚTERO	13
2.2. ECOGRAFÍA REPRODUCTIVA	16
2.2.1. Técnica.....	16
2.2.2. ECOGRAFÍA EN ALPACAS.....	16
2.2.3. ECOGRAFÍA DEL CUELLO UTERINO O CERVIX	17
2.2.4. ECOGRAFÍA DEL ÚTERO	17
2.3. NEUTROFILOS POLIMORFONUCLEARES (PMN).....	19
2.3.1. Examen Citológico.....	20
2.3.2. Citología uterina	21
2.4. MICROBIOTA DEL ÚTERO.....	22
2.4.1. BACTERIAS AISLADAS.....	23
2.5. PRUEBAS BIOQUÍMICAS	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS	34
3.1. MEDIO EXPERIMENTAL.....	34
3.1.1. Lugar De Estudio.....	34
3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL	35
3.2.1. Animales.....	35
3.2.2. Manejo.....	35
3.3. METODOLOGÍA	36
3.3.1. Preparación de las alpacas (antes de la evaluación)	36
3.3.2. Técnica en ecografía	36
3.3.3. Técnica en lavado uterino	38
3.3.4. Técnica de recuento de PMN	39
3.3.5. Técnica de aislamiento bacteriano	41
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	43
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44

4.1. CARACTERÍSTICAS ECOGRÁFICAS DEL GROSOR DE LA MUCOSA CERVICAL Y CUERNO UTERINO DE ALPACAS TUIS	44
4.1.1. Características ecográficas de la mucosa cervical y cuernos uterinos de alpacas tuis de dos años	44
4.2. PORCENTAJE POLIMORFONUCLEARES EN ALPACAS TUIS.	46
4.3. ESPECIES BACTERIANAS DE LOS CUERNOS UTERINOS EN ALPACAS TUIS.	47
V. CONCLUSIONES.....	51
VI. RECOMENDACIONES	52
VII. REFERENCIAS.....	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Frecuencia de aislamiento de especies bacterianas aisladas a partir de lavados uterinos de alpacas hembras tuis.....	49
---	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Evaluación ecográfica del grosor de la mucosa cervical y el endometrio de los cuernos derecho e izquierdo (mm).....	45
Tabla 2. Frecuencia de aislamiento de especies bacterianas aisladas a partir de lavados uterinos de alpacas tuis.....	48

RESUMEN

El presente estudio se realizó en el CIP- Chuquibambilla ubicada en el distrito de Umachiri de la Provincia de Melgar, a una altitud de 3974msnm, entre los meses diciembre - marzo del año 2016. Los objetivos fueron describir mediante ultrasonografía las características del útero, determinar el porcentaje de polimorfonucleares en útero, identificar especies bacterianas residentes del útero en alpacas tuis de dos años. Las características de la mucosa cervical, cuernos uterinos que fueron evaluados por ultrasonografía, el espesor de la mucosa cervical en alpacas tuis fue 4.2 ± 1.1 mm, El espesor del endometrio de los cuernos uterinos del lado derecho de alpacas tuis fue de $4,2 \pm 1,1$ mm y el de los cuernos uterinos del lado izquierdo en alpacas tuis fue de $4,6 \pm 1.2$ mm, a la colocación Wright se determinó que las 10 alpacas tuis hembras no presentaron recuentos de polimorfonucleares (neutrófilos); esto indica una citología normal. El crecimiento bacteriano en alpacas tuis el 30% pertenece a la especie *Bacillus lechiniformis*, seguido de *Enterobacter spp* y *Staphylococcus saprophyticus* 20%, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* 10%. En conclusión el grosor de la mucosa cervical y el endometrio de los cuernos uterinos se consideran normales, considerando la edad y tamaño del animal; no se determinó la presencia de polimorfonucleares ni presencia de bacterias patógenas oportunista y no oportunista.

Palabras claves: alpacas, ecografía, microbiota, neutrófilos y lavado uterino.

ABSTRACT

The present study was carried out in the CIP-Chuquibambilla located in the district of Umachiri of the Province of Melgar, at an altitude of 3974 msnm, between December and March of 2016. The objectives were to describe the characteristics of the uterus by means of ultrasound, to determine the percentage of polymorphonuclear cells in the uterus, to identify resident bacterial species of the uterus in two year old alpacas. The characteristics of the cervical mucosa, uterine horns that were evaluated by ultrasonography, the thickness of the cervical mucosa in alpacas tuis was 4.2 ± 1.1 mm, The uterine horn endometrium thickness of the right side of alpacas tuis was 4.2 ± 1.1 mm and that of the uterine horns on the left side in alpacas tuis was 4.6 ± 1.2 mm, at the Wright placement it was determined that the 10 female alpacas had no polymorphonuclear (neutrophil) counts; this indicates a normal cytology. The bacterial growth in alpacas tuis 30% belongs to the species *Bacillus lechiniformis*, followed by *Enterobacter spp*, *Staphylococcus saprophyticus* 20%, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* 10%. In conclusion the thickness of the cervical mucosa and the endometrium of the uterine horns are considered normal, attributed to the age and size of the animal; the presence of polymorphonuclear cells and the presence of opportunistic and non-opportunistic pathogenic bacteria were not determined.

Key words: alpacas, ultrasound, microbiota, neutrophils and uterine lavage.

I. INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos son de mayor importancia económica en la Región de Puno, por ser el primer productor de alpacas a nivel nacional, con una población estimada de 2 millones de alpacas que representan el 59% de la población nacional y 44% de la población mundial. Asimismo, el Perú es el primer productor de alpacas en el mundo y representa el 80% de alpacas de la población mundial cuya actividad pecuaria se desarrolla en la zona alto andina (Bustinza, 2001) los camélidos convierten con eficiencia la vegetación nativa de estos ambientes en carne y fibras de alta calidad, además sus pieles y cueros tienen múltiples usos Industriales y Artesanales. El estiércol es otro sub producto valioso que se usa como combustible para la cocción de los alimentos y fertilizante para los cultivos (Iñiguez y Alem, 1996), por lo que las alpacas representan el principal recurso pecuario del poblador alto andino. El Perú tiene más de 3 685.516 cabezas de alpacas de la población mundial (INEI, 2012).

La pobre eficiencia reproductiva ha sido descrita como un principal problema en camélidos. Las alpacas tienen una fertilidad media anual del 50% y las llamas un promedio de 46% al nacer. La baja fertilidad en alpacas es probablemente debido a la alta pérdida embrionaria (50 a 58%); antes de 30 días de gestación. En el camello, la tasa reproductiva varía entre el 25% y el 80% dependiendo del nivel de dirección y cuidados veterinarios proporcionado (Tibary and Anouassi, 2001). Uno de estos problemas en camélidos sudamericanos es, el bajo índice de fertilidad de los rebaños; siendo la tasa media de natalidad de alrededor de 45 a 60% de eficiencia reproductiva, que en las alpacas se traduce en que solo alrededor del 50 % de las hembras en edad reproductiva dan crías al año

(Palomino, 2012). Los bajos índices de natalidad en alpacas oscilan entre 55 - 60 % (Pacheco *et al.*, 2009).

En camélidos sudamericanos los estudios sobre biotecnología reproductiva son limitados; por lo que en, el presente trabajo de investigación se ha realizado la evaluación ecográfica del útero en alpacas tuis de la raza suri del CIP Chuquibambilla y esto nos permitió identificar las características normales, como también se determinó el porcentaje de polimorfonucleares en un lavado uterino que se relaciona con la secreción fisiológica e identificar la flora bacteriana residentes en los cuernos uterinos, siendo de vital importancia, conocer la fisiología del útero en los aspectos ya antes mencionados, con los siguientes objetivos: Describir mediante ultrasonografía las características del útero de alpacas tuis de dos años, determinar el porcentaje de polimorfonucleares en útero e identificar especies bacterianas residentes del útero.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL ÚTERO DE LA HEMBRA

2.1.1. ANATOMÍA DEL ÚTERO

El aparato genital de las alpacas está suspendido de las paredes abdominales y pélvicas por amplios ligamentos (Fowler, 1989). El útero de la alpaca es bicorne; es decir, con forma de Y, presentando dos cuernos uterinos con una longitud media de 7,5 cm y un cuerpo muy corto. El cuerno uterino izquierdo es más grande que el derecho desde la etapa fetal y prepuberal (Tibary and Anouassi, 1997) y esta diferencia se acentúa en las hembras multíparas como consecuencia de que el 98% de las gestaciones tienen lugar en el cuerno izquierdo (Fernández *et al.*, 1973). La mucosa uterina está formada por un epitelio cilíndrico y la submucosa por un tejido fibroso denso que contiene pequeñas glándulas uterinas (Fowler, 1989).

2.1.1.1. HISTOLOGÍA

El cuerno uterino histológicamente, posee tres capas; una capa serosa externa o perimetrio, una capa muscular o miometrio (dispuestas longitudinal externa y circular interna) y una mucosa o endometrio, organizado macroscópicamente en pliegues endometriales. El endometrio está constituido por dos capas, el epitelio luminal y la lámina propia, el primero formado por células cuboidales asentadas en una membrana basal, el segundo posee dos estratos, compacto y esponjoso (Kenney, 1978).

El endometrio es un epitelio columnar simple, parcialmente ciliado y una lámina propia que contiene glándulas tubulares simples, rodeadas de epitelio columnar. Estas glándulas se abren de manera directa a la cavidad uterina y forman la segunda barrera y reservorio de los espermatozoides durante su transporte. El miometrio está compuesto por un músculo liso. Aunque no son fácilmente discernibles, consta de dos capas: una interna circular y una externa longitudinal. Entre ellas es posible reconocer una capa vascular (Galina, 2008).

2.1.1.2. FUNCIÓN DEL ÚTERO

El útero realiza varias funciones. El endometrio y sus líquidos tienen participaciones importantes en el proceso reproductivo como:

- a) Transporte de espermatozoides desde el sitio de eyaculación hasta el de la fecundación en el oviducto.
- b) Regulación del funcionamiento del cuerpo amarillo.
- c) Inicio de la implantación, la preñez y el parto (Hafez, 2000).

2.1.1.3. CERVIX

El cérvix de la alpaca está formado de tres a cuatro pliegues anulares del miometrio, tapizado por la túnica mucosa de superficie finamente plegada. El canal cervical es sinuoso y oblicuo de aproximadamente 2 cm. de longitud. El orificio uterino interno se orienta ligeramente hacia la base del cuerno uterino externo que conserva las características de la túnica mucosa del canal cervical y se habrá

generalmente de manera excéntrica en el ángulo dorsal derecho de la corta proyección de la porción vaginal (Soto *et al.*, 1986).

El cuello uterino de la alpaca es de 2 a 5 cm de largo y 2 a 4 cm de diámetro y se ha descrito de dos maneras. Una descripción indica que dos o tres anillos cervicales están presentes. Sin embargo, también se ha descrito como un solo pliegue espiral con dos o tres vueltas, dando la apariencia de ser dos o tres anillos (Aba, 2014).

El cérvix es similar al de la vaca, contiene 2 ó 3 pliegues anulares (Sato y Montoya 1990; Smith *et al.*, 1994) y su longitud oscila entre los 2 y 5 cm. El grado de apertura o cierre está sometido a regulación endocrina, de manera que su luz se dilata durante el celo para facilitar la cópula; mientras que se estrecha durante la gestación para evitar la contaminación del útero mientras se completa el desarrollo embrionario o fetal (Sato y Montoya, 1990).

2.1.1.4. HISTOLOGÍA

La cérvix es un órgano de paredes gruesas, que establece la conexión entre la Vagina y el útero. Está compuesto de tejido conectivo denso y músculos (DeJarnette, M.).

2.1.1.5. FUNCIÓN

El interior de la cérvix contiene tres o cuatro anillos, a veces llamados pliegues; Este diseño le facilita a la cérvix ejercer su función principal, que es la de proteger el útero del medio ambiente exterior. La cérvix se abre hacia adelante al cuerpo uterino; Como de una pulgada de largo, el cuerpo uterino sirve de conexión entre los dos cuernos

uterinos y la cérvix. El cuerpo uterino es el sitio donde se debe depositar el semen durante la Inseminación artificial (DeJarnette, M.).

2.2. ECOGRAFÍA REPRODUCTIVA

2.2.1. Técnica

Según Sánchez, (2010) En la ecografía se puede identificar el útero como una estructura lineal bien definida con un lumen anecogénico o hipoecogénico. Mediante el ultrasonido es posible determinar desórdenes uterinos; especialmente aquellos en los que ocurre acumulación de contenido como por ejemplo piometra, mucometra e hidrometra. En especies de compañía es relativamente común el diagnóstico de patologías uterinas. En ultrasonografía el útero y la cérvix aparecen heterogéneos, porque en un incremento en el fluido celular durante la dominancia folicular; mientras tanto los pliegues cervicales se vuelven más ecos génicos y prominentes durante la dominancia luteal, en general los cuernos uterinos son relativamente rectos y el tono máximo es durante la fase estrogénica; mientras que el tono mínimo es durante la fase dominante de progesterona (Brooks *et al.*, 2004).

2.2.2. ECOGRAFÍA EN ALPACAS

Las llamas y alpacas generalmente suelen ser dóciles en un examen ecográfico, otros manejos y procedimientos. El examen del aparato reproductivo puede hacerse trans rectal o trans abdominal, pero el enfoque es preferible trans rectal. La sonda se puede introducir en el recto con una mano enguantada, como en palpación trans rectal; en

la mayoría de alpacas adultas, sobre todo si son multíparas. Sin embargo, en hembras jóvenes o pequeños el espacio pélvico puede ser demasiado angosto para la colocación de la mano del examinador, por eso el uso de la extensión de una sonda rígida es muy eficaz (Por ejm. tubo PBC ~2,0 a 2,5 cm diámetro y 40 cm de longitud). Antes de introducir la sonda en el recto, esta debe de ser lubricada utilizando el gel ecográfico (Parraguez *et al.*, 2010).

2.2.3. ECOGRAFÍA DEL CUELLO UTERINO O CERVIX

El cuello del útero de la alpaca se identifica simplemente dorsal o ligeramente lateral a la vejiga urinaria por sus anillos característicos. Los anillos del cuello uterino son en espiral, hacia adentro y presenta un canal más o menos evidente de cuello uterino cuando está abierto. El cuello del útero se vuelve dura y sus anillos más ecogénicos durante la fase lútea y especialmente durante la preñez (Cebra *et al.*, 2014).

2.2.4. ECOGRAFÍA DEL ÚTERO

El útero se identifica moviendo el transductor cranealmente más allá del cuello del útero. Es reconocido por un cambio brusco de eco textura. El útero debe ser evaluado por su presencia, tamaño (diámetro) y eco textura la ecotextura. Durante la fase folicular de la actividad ovárica, especialmente en la presencia de un folículo maduro; la ecotextura del útero normalmente es heterogénea, debido al edema y grandes pliegues endometriales. Anormalidades uterinas pueden ser de dos tipos:

1: Anormal eco textura uterina (endometritis, metritis, neoplasia).

2: El contenido uterino anormal (piometra, momificación, aceración, muerte embrionaria). Evaluación de la pared uterina puede ser facilitada por la ecografía. La acumulación de fluido dentro del lumen uterino puede ser causada por endometritis o por una pobre involución otras anomalías observado a nivel de útero incluyen quistes uterinos, las áreas de ecogenicidad aumentado en los casos de mucometra o piometra (Cebra *et al.*, 2014).

Ferradas *et al.*, (2015) quien en un estudio en alpacas comprobó que la medida de la altura del epitelio endometrial y el grosor de la capa muscular, así como los valores de la medida promedio y número de vasos sanguíneos fueron mayores en el cuerno izquierdo que en el derecho; esto implica que, en etapas futuras con la mayor actividad del tracto genital favorecen en forma significativa al lado izquierdo. En alpacas y llamas el cuerno uterino izquierdo es más grande que el derecho (Bravo, 2002), la diferencia es atribuida al hecho de que el 95% al 98.4% de las preñeces ocurren en el cuerno izquierdo (Fowler, 1998 y Mendoza, 2012).

Mendoza *et al.*, (2011) comprobaron que el modelo de irrigación uterina favorece al cuerno uterino izquierdo, dado que este recibe mayor aporte sanguíneo a partir de una rama comunicada que esta originada en la arteria uterina derecha.

2.3. NEUTROFILOS POLIMORFONUCLEARES (PMN)

El examen de una tinción sanguínea revela que hay varios tipos de leucocitos diferentes. Algunos leucocitos tienen un citoplasma lleno de gránulos, denominándose granulocitos, los granulocitos tienen un núcleo característico lobulado irregular y se designa a las células mononucleares tales como macrófagos. Los granulocitos se clasifican en tres poblaciones en función de las propiedades tintoriales de sus gránulos. Las células cuyos gránulos captan colorantes básicos, como la hematoxilina, se denominan basófilos; aquellas cuyos gránulos captan colorantes ácidos, como la eosina, se llaman eosinófilos y aquellas que no captan colorantes básicos ni ácidos (neutrófilos). El leucocito sanguíneo más importante es el granulocito polimorfonuclear neutrófilo, que en general recibe la denominación de neutrófilo (Tizard, 2009).

Los neutrófilos son las primeras células inflamatorias que llegan a un sitio inflamatorio y juegan un importante rol en la defensa uterina. La introducción de espermatozoides, bacterias o endotoxinas dentro del útero inducen una inmediata afluencia de neutrófilos dentro de 2 h, con un número máximo en el lumen uterino 6 a 8 horas después del estímulo inicial. Después de una disminución transitoria de 12 h en el número de neutrófilos, una segunda afluencia es notada 24 h después de la estimulación que es debida probablemente al prolongado reclutamiento después de la acumulación de quimiotácticos (Williamson *et al.*, 1987; Katila 1996; Leblanc y Causey 2009).

Para Tizard (2009), Los neutrófilos constituyen entre el 60 y 75% de los leucocitos sanguíneos en la mayor parte de los carnívoros, pero solo el 50% en el caballo y 20 a 30% en rumiantes como vaca y oveja.

La respuesta inflamatoria mediada por PMN y/o MN, es uno de los parámetros de mayor importancia al evaluar el estado inmunológico del animal frente a una patología uterina (Fernández *et al.*, 2006); sin embargo, fisiológicamente también se pueden observar PMN en una proporción leve durante la fase del estro sin que esto implique un proceso infeccioso, como se indicó en un estudio realizado en Canadá en el que se demostró que obtener más del 5% de PMN es indicativo de una inflamación endometrial y >10% de endometritis (Barlund *et al.*, 2008).

2.3.1. Examen Citológico

Reiswig *et al.*, (1993) afirmaron que el examen citológico para detectar la presencia de neutrófilos en un frotis teñido obtenido de la superficie del endometrio es una herramienta fácil para el rápido diagnóstico de inflamación uterina. El hallazgo de leucocitos polimorfonucleares (PMN) ubicados en el lumen uterino estrato compacto, estrato esponjoso periglandular o perivascular en forma difusa formando cúmulos (microabcesos), generalmente es en respuesta a contaminantes bacterianos (Kenney, 1978).

Riddle *et al.*, (2007), categorizo en: citología normal: células epiteliales y 0 -2 neutrófilos; inflamación moderada: células epiteliales y 2 – 5 neutrófilos; inflamación severa: células epiteliales y > 5 neutrófilos.

2.3.2. Citología uterina

Tibary *et al.*, (2006) en un estudio de causas de infección reproductiva en camélidos indicaron que el grado de inflamación se determinó mediante la evaluación de la cantidad y morfología de los leucocitos (PMN).

Según Pardo (2010), en citología uterina de yeguas fina sangre de carrera, el 46.9% de las hembras presento citología uterina normal, 8.2% inflamación moderada y 44.9% inflamación severa. El 73,5% (n =36) de las yeguas presento neutrófilos en el frotis endometrial, pero en algunos de estos casos los neutrófilos se presentaron en número inferior al requerido para diagnosticarlos como proceso inflamatorio.

Sánchez *et al.*, (2011) en su investigación en vacas a partir de los 5 lavados translúcidos sin sedimento (23.8%), no encontraron evidencia de CEDU (células epiteliales de descamación uterina); ni respuesta inflamatoria mediada por PMN y/o MN, excepto en una muestra donde solamente observaron ocasionales CEDUs (células epiteliales de descamación uterina); de los 16 lavados con apariencia anormal en 4 (25%) se observaron CEDUs, en 3 (18.75%) PMN, en 4 (25%) CEDUs y PMN y en las 5 restantes (31.25%) no observaron celularidad en ninguna de las muestras evaluadas, se evidenció respuesta de tipo mononuclear.

Hughes y Loy (1969), indican que en yeguas jóvenes y fértiles la inflamación fue resuelta a las 96 horas, en cambio en hembras múltiparas y secas fueron incapaces de eliminar el inóculo bacteriano.

Basados en estos descubrimientos las yeguas fueron clasificadas como resistentes o susceptibles a la endometritis bacteriana, si ellas son capaces de eliminar la infección en 96 h o no, respectivamente.

2.4. MICROBIOTA DEL ÚTERO

La microbiota normal del tracto urogenital bovino está compuesta de una dinámica mezcla de microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos. Aún habiendo condiciones similares dentro del organismo de cada individuo, existen otros factores como la dieta, higiene, manejo y la función zootécnica que determinan la naturaleza de la microbiota (Otero *et al.*, 2000).

El tracto genital de las hembras posee microbiota en casi toda su extensión a excepción del útero ya que allí por lo general no habitan microorganismos, aunque esto puede variar de acuerdo con el estatus inmunológico del animal y la etapa del ciclo estral en la que se encuentre la hembra (Sánchez *et al.*, 2011). Cada parte del tracto reproductivo tiene un modo de defensa ante microorganismos que puedan interferir en el mantenimiento de la homeostasis del todo, existen defensas uterinas como las contracciones posteriores al parto, la involución uterina y la secreción de hormonas como los estrógenos que favorece la respuesta inmunitaria, así mismo el cérvix y sus secreciones juegan un papel fundamental en el comportamiento reproductivo de los mamíferos porque además de proteger del paso de agentes patógenos también juega un papel fundamental en la detección del celo, la evaluación del estado reproductivo y el mantenimiento del ambiente estéril del útero (Ata *et al.*, 2010).

Hay diferentes tipos de microorganismos dentro del organismo, hay flora residente, transitoria u oportunista. Si existe alguna alteración los microorganismos transitorios pueden responder aprovechando la situación; es decir, proliferar y producir una enfermedad (Fernández *et al.*, 2006).

2.4.1. BACTERIAS AISLADAS

Aislados del útero y no asociados con endometritis bacterias no reconocidas como patógenos uterinos: *Aerococcus viridans*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium perfringens*, *Corynebacterium spp*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus spp*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Proteus spp*, *Propionobacterium granulosa*, *Staphylococcus spp* (coagulasa-negativos), *Streptococcus α -hemolíticos*, *Streptococcus acidominimus* (Baron *et al.*, 1995).

Cuadro 1. Principales bacterias aisladas de secreciones cervicales de vacunos hembra con antecedentes de infertilidad y de novillas cebú vírgenes no expuestas a toro.

GERMEN AISLADO	ANIMALES PROBLEMA	NOVILLAS VÍRGENES
<i>Echerichia coli</i>	55(19,6%)	24(22,2%)
BGN 0+ (<i>Acinotobacter spp, Bburkholdelia spp</i>)	49(17,4%)	15(13,9%)
<i>Klebsiella spp</i>	46(16,4%)	35(32,4%)
<i>Pseudomonas spp</i>	44(15,6%)	4(3,7%)
Cocos Gran positivos (<i>Enterobacter spp, S. aureus</i>)	30(10,7%)	5(4,7%)
Sin aislamiento	11(3,9%)	25(23,1%)
BGN 0- <i>Campylobacter spp</i>	9(3,2%) 5(1,8%)	0 0
Otros	32(11,4%)	0
TOTAL	281	108(100)

BGN 0 +: Bacilos Gran negativos oxidantes; BGN 0: Bacilos Gran negativos no oxidantes

Fuente: González (2007).

En las novillas vírgenes no expuestas a toro se observó que en 25 (23,1%) no hubo aislamiento, las dos bacterias prevalentes fueron *Klebsiella spp* y *E. coli* con un 32.4% y 22.2%, respectivamente (cuadro 1). En el presente estudio se determinó la microbiota normal del cérvix de hembras vírgenes y dichos resultados se tomaron como referencia para establecer diferencias en la proporción de la frecuencia de aislamiento de dichos gérmenes en el cérvix de los animales problema del presente estudio. De acuerdo con esta diferencia se logró determinar cuáles bacterias se encontraban como

la microbiota normal (*E. coli* y *Klebsiella spp*) los cuales estaban relacionadas con la producción de infección (*Pseudomonas spp*, *Burkholderia spp* y bacilos Gram negativos Oxidantes) (González, 2007).

Fernández *et al.*, (1984), investigaron en vacas clínicamente sanas la distribución y frecuencia de los gérmenes aislados a partir de muestras uterinas y se muestran en el siguiente cuadro.

Cuadro 2. Frecuencia de bacterias aisladas de muestras de cérvix y útero

Microorganismos	Cérvix		Útero	
	N	%	N	%
<i>Escherichia coli</i>	29	28.1	17	23.1
<i>E. coli B hemolítica</i>	2	2.8	4	5.1
<i>Proteus sp.</i>	3	4.2	5	6.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	19.7	18	22.3
<i>Staphylococcus albus</i>	11	15.4	10	12.9
<i>Streptococcus viridans</i>	6	8.4	5	6.4
<i>Micrococcus</i>	2	4.2	4	5.1
<i>Streptococcus sp</i>	-	-	1	1.2
<i>Bacillus sp.</i>	-	-	3	3.8

Fuente: Fernández *et al.* (1984).

García *et al.* (1985), en un estudio semejante de la microbiota bacteriana de secreciones cervicales y uterinas de vacas clínicamente sanas reportaron la *Escherichia coli* y el *Staphylococcus albus* como los gérmenes de mayor frecuencia.

Cuadro 3. Frecuencia de aislamientos de especies bacterianas aisladas a partir de lavados uterinos en alpacas hembras fértiles.

ESPECIES	FRECUENCIA	%
<i>Bacillus lechiniformis</i>	4	23.65
<i>Bacillus cereus</i>	3	17.65.
<i>Bacilo ácido láctico</i>	3	17.65
<i>Citrobacter spp</i>	2	11.76
<i>Bacillus spp</i>	1	5.88
<i>Escherichia coli</i>	1	5.88
<i>Micrococcus spp.</i>	1	5.88
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	5.88
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	5.88
TOTAL	17	100.00

Fuente: Condori (2016).

En el cuadro 3. Muestra que *Bacillus lechiniformes* se aisló en un 23.53%, un mayor porcentaje respecto a las demás bacterias, la segunda especie bacteriana más frecuentemente aislada fue *Bacillus cereus* y *Bacilo ácido láctico* con un 17.65% cada una, el 11.76% correspondió a *Citrobacter spp.*, mientras que las demás especies bacterianas son encontrados en un 5.88% en crecimiento respectivamente habitantes normales en varias cavidades y órganos del cuerpo, la *Escherichia coli* también se encontró presente, pero en una escasa cantidad en el útero de hembras fértiles. Estos resultados obtenidos se pueden atribuir a que las alpacas fértiles

están expuestas a adquirir diferentes especies bacterianas en la etapa del post parto, que pueden o no causar una infección; el presente estudio corrobora esta hipótesis, al aislar microorganismos en útero de alpacas fértiles, donde predominaron microorganismos que no están asociados a lesiones y por esta razón raramente causan endometritis (Condori, 2016).

Cuadro 4. Porcentaje de aislamientos bacterianos pre copula en útero de alpacas

Bacterias aisladas	% IC n	Porcentaje de aislados bacterianos (%)		
		Hembras primerizas	Hembras no primerizas	Total
<i>Providencia sp.</i>	% IC n	24.14 12.22-42.11 (7/29)	15.13 0.10-0.21 (23/152)	16.57 11.86-22.67 (30/181)
<i>Shiguella sp.</i>	% IC n	20.69 9.0-38.0 (6/29)	16.44 11.0-23.0 (25/152)	17.13 12.32-23.28 (31/181)
<i>Escherichia coli</i>	% IC n	31.03 17.0-49.0 (9/29)	23.02 17.0-30.0 (35/152)	24.31 18.64-31.054 (44/181)
<i>Enterobacter sp.</i>	% IC n	10.34 3.0-26.0 (3/29)	0.66 0.12-3.63 (1/152)	1.97 0.67-5.64 (4/181)
<i>Serratia sp.</i>	% IC n	6.9 1.91-21.96 (2/29)	3.29 0.41-7.47 (5/152)	3.87 1.89-7.77 (7/181)
<i>Proteus sp.</i>	% IC n	3.45 0.61-17.18 (1/29)	0 0 80/152)	0.55 0.10-3.06 (1/181)
<i>Hafnia sp.</i>	% IC n	0 0 (0/29)	5.26 2.69-10.04 (8/152)	4.42 2.26-8.48 (8/181)
<i>Citrobacter sp.</i>	% IC n	3.45 0.61-17.18 (1/29)	0 0 (0/152)	0.55 0.10-3.06 (1/181)
<i>Edwardsiella sp.</i>	% IC n	3.45 0.61-17.18 (1/29)	0.66 0.12-3.63 (1/142)	1.1 0.3-3.94 (2/181)
<i>Salmonella sp.</i>	% IC n	0 0 (0/29)	0 0 (0/152)	0 0 (0/181)

Fuente: Dellepiane y Morales (2015).

Donde los géneros de enterobacterias con más aislamientos para ambos grupos fueron: *Providencia sp*, *Shiguela sp* y *Escherichia coli*. Y es esta última bacteria, la de mayor frecuencia para ambos grupos. Sin embargo, como se observa es posible encontrar muchas de estas bacterias en útero de alpacas hembras aparentemente sanas con antecedentes reproductivos o sin ellos. La *E. coli* ha sido aislada en hembras primerizas en mayor porcentaje 31.03% IC (17.0 – 49.0) que en las hembras no primerizas 23.02% IC (17.0–30.0), sin mostrar ningún tipo de alteración infecciosa aparente, dando a entender que esta puede considerarse parte de la flora normal en útero de alpacas (Dellepiane y Morales, 2015).

Tibary and Anouassi (2001) en el estudio que realizaron en camélidos con infecciones uterinas indican que algunos organismos son parte de la flora normal vaginal, mientras otros son oportunistas y pueden convertirse en patógenos si las condiciones son apropiados.

2.5. PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias dadas por MacFaddin, (2003).

a) Para Cocos Gran positivos

Prueba de la catalasa: Con el asa de siembra, se recoge el centro de una colonia pura de 18-24 horas y se coloca sobre un portaobjetos limpio de vidrio. Agregar con gotero o pipeta Pasteur una gota de H₂O₂ al 30% sobre el microorganismo sin mezclarlo con el cultivo, observar la formación inmediata de burbujas (resultado positivo).
Reacción negativa: Ausencia de formación de gas.

Prueba de la fermentación del manitol: Para estudiar la capacidad de un microorganismo de fermentar una determinada sustancia se utiliza un medio base al cual se le agrega el sustrato filtrado. La concentración final del sustrato es de 0,5- 1%. El medio posee además un indicador de pH como por ejemplo azul de bromotimol y una campana de Durham (para detectar producción de gas). En caso que el microorganismo sea capaz de fermentar el sustrato en estudio se observará viraje del indicador hacia el color ácido, para el azul de bromotimol será amarillo. La producción de gas se evidenciará a través de la formación de una burbuja en la campanita de Durham.

Prueba de la coagulasa: La coagulasa es capaz de activar específicamente la cascada de coagulación por activación conformacional (no proteolítica) de la protrombina. Este proceso desencadena la conversión de fibrinógeno en fibrina lo cual da lugar a la coagulación aún en presencia de anticoagulantes como el citrato o el oxalato. El resultado es la formación de coágulos o grumos cuando se mezcla una suspensión bacteriana con plasma. Esta prueba se utiliza para diferenciar microorganismos del género *Staphylococcus*:

- (+) *Staphylococcus aureus*
- (-) *Staphylococcus epidermis*

Sensibilidad a la novobiocina: Se siembra mediante agotamiento de estrías en placa de agar sangre. En la zona donde se ha realizado la primera descarga se coloca el disco de novobiocina, se deja incubar

24h a 37°C. El microorganismo presenta resistencia a la novobiocina ya que no hay halo de inhibición.

b) Para bacilos Gran positivos

Prueba de la oxidasa: Poner un trozo de papel de filtro sobre una de las tapaderas de una placa de Petri. Añadir una gota del reactivo de oxidasa. Depositar sobre el reactivo masa bacteriana (actuar de forma rápida y con un asa de platino nueva o con un palillo de dientes) La reacción positiva la indica un color azul-violeta intenso antes de 10 segundos.

Prueba de reducción de nitratos a nitritos: Inocular el medio de cultivo. Incubar a 37 °C durante 48 horas. Observar si existen gases en la campana Durham (*Pseudomonas*). Añadir 0,5 ml de cada uno de los reactivos para detectar nitritos. La ausencia de nitritos puede tener un origen doble: no se formaron (quedan nitratos) o se formaron y se redujeron, Añadir 0,5 ml de cada uno de los reactivos para detectar nitritos.

Prueba de la motilidad: Agregar sobre un portaobjetos una gota de solución fisiológica salina estéril, ponerle un poco de muestra bacteriana, homogeneizar de tal forma que la gota no se extienda mucho, ponerle encima un cubreobjetos al que previamente se le ha puesto una base de 4 bolitas pequeñas de plastilina con el objetivo de evitar que aplaste totalmente la gota con bacteria, finalmente observar al microscopio con un objetivo de 40X.

Producción de indol: El cultivo bacteriano puro debe ser sembrado en un caldo con triptófano o peptona estériles o ambos por 24 a 48 horas antes de realizar la prueba. Luego de la incubación, se añaden cinco gotas de reactivo Kovac (alcohol isoamilo, *p*-dimetilaminobenzaldehído y ácido clorhídrico concentrado) al caldo del cultivo.

Pruebas de aerotolerancia: Esta se realiza en colonias que hayan crecido en un ambiente anaeróbico. Se transfiere cada colonia de la placa de aislamiento anaerobio a una placa de agar sangre aerobio, se incuba de 12 a 18 horas, en una atmosfera de CO₂ del 5 al 10% en aerobiosis dependiendo del crecimiento de microorganismo en aerobiosis nos indica si es anaerobio estricto o anaerobio facultativo.

c) **Para bacilos Gran negativos**

Prueba de TSI: Medio universalmente empleado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la fermentación de glucosa, lactosa, sacarosa y a la producción de ácido sulfhídrico. La siembra se realiza a partir de un cultivo puro, sembrar en TSI, picando el fondo y extendiendo sobre la superficie del medio. La incubación es a 35-37°C durante 24 horas, en aerobiosis.

Prueba de LIA: Medio base, que al ser suplementado con lisina, arginina u ornitina, es útil para la diferenciación de bacilos Gram negativos, basándose en la producción de lisina decarboxilasa, arginina dehidrolasa y ornitina decarboxilasa respectivamente.

La siembra se realiza A partir de un cultivo puro de 24 horas, inocular el caldo suplementado con uno de los tres aminoácidos, distribuyendo

la siembra a través del medio. Cada cepa aislada, además debe ser sembrada en paralelo, en un tubo de medio basal que no contiene aminoácidos. Agregar a todos los tubos, 1 ml de aceite mineral. Incubar los tubos con las tapas flojas a 35-37 °C, en aerobiosis. Examinar, para evaluar crecimiento y reacciones de decarboxilación, a las 24-48-72 y 96 horas. El medio se torna amarillo inicialmente si la glucosa es fermentada, y luego gradualmente se torna púrpura si la actividad decarboxilasa o dehidrolasa ocurre y se eleva el pH del medio. Para cada microorganismo en estudio, comparar el color presente en los tubos con medio conteniendo los respectivos aminoácidos, con el color presente en el tubo control.

Prueba de C-S: Medio utilizado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la capacidad de usar citrato como única fuente de carbono y energía. Para la siembra a partir de un cultivo puro de 18-24 horas, sembrar en superficie un inóculo ligero, usando una a ansa sin arrastrar el agar. La incubación es a 35 - 37 °C, durante 24-48 horas, en aerobiosis. Algunos microorganismos pueden requerir hasta 4 días de incubación. Los resultados para el Positivo: crecimiento y color azul en el pico, alcalinidad. Para el Negativo: el medio permanece de color verde debido a que no hay desarrollo bacteriano y no hay cambio de color.

Prueba de SIM: Es un medio semisólido destinado a verificar la movilidad, producción de indol y de sulfuro de hidrógeno en un mismo tubo.

Es útil para diferenciar miembros de la familia enterobacterias la siembra A partir de un cultivo de 18-24 horas en medio sólido, sembrar por punción profunda con aguja de inoculación recta (no usar ansa con anillo). Se debe inocular el centro del tubo, y la punción debe abarcar 2 tercios de profundidad del medio de cultivo desde la superficie. Es importante que la siembra se realice en línea recta.

La incubación durante 24 horas, a 35-37 °C, en aerobiosis. Luego de la incubación, agregar 3-5 gotas de reactivo de Kovac's o de Erlich.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MEDIO EXPERIMENTAL

3.1.1. Lugar De Estudio

El Presente estudio se realizó en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla–Universidad Nacional del Altiplano, dirigida por la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ubicado en el distrito de Umachiri, Provincia de Melgar, región de Puno, teniendo una extensión total de 4, 316 Has. A una distancia de 156 Km. de la ciudad de Puno, Geográficamente se encuentra entre las coordenadas Latitud Sur 14° 47' 37", Longitud Oeste 70° 47' 50", Altitud de 3974 msnm. Con una temperatura promedio anual de 7.2°C (máxima de 17.4°C en Abril y mínima de -10°C en Junio), la humedad relativa promedio anual es de 59.58%.El Presente trabajo se realizó durante los meses de Diciembre 2015 a Marzo del 2016, la ecografía del endometrio del útero y el lavado uterino se realizó en la sala de colección de semen, el análisis de laboratorio se realizaron en el Laboratorio de Microbiología e Inmunología de la FMVZ de la UNA-Puno. Ubicado en la ciudad Universitaria de la provincia y departamento de Puno, a una altitud de 3827 (SENHAMI, 2013).

3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

3.2.1. Animales

Para el experimento se utilizó un lote de 10 alpacas Suris hembras a los cuales se les realizó el examen de ecografía, lavado uterino y aislamiento bacteriano; los animales inicialmente fueron identificados conforme a los registros existentes en el programa de ovinos y alpacas del CIP – Chuquibambilla. los cuales fueron examinados a través de palpación rectal a fin de evaluar que se encuentren libres de patologías en el tracto genital y posteriormente identificadas con el número de arete, con una condición corporal ≥ 3 en la escala del 1 a 5 (1= muy flaca, 5= muy gorda) según (Martínez *et al.*, 1998).

Cuadro 5. La distribución de animales:

Variables	Ultrasonografía	Porcentaje	Identificación
	Grosor de útero y cérvix	Polimorfonucleares %	Especies bacterianas %
N° Animales			
Tuis Hembras	10	10	10
TOTAL		10	

3.2.2. Manejo

Durante el periodo experimental las alpacas seleccionadas y debidamente identificadas con collarines fueron separados de la majada y trasladadas a los corrales del CIP- Chuquibambilla, una vez acabado el procedimiento de ecografía y la obtención de muestras (lavado uterino), los animales fueron regresados al lugar de pastoreo con la majada.

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. Preparación de las alpacas (antes de la evaluación)

Cada jornada de trabajo se realizó por la mañana y la tarde en días alternos. Tejero (2008), recomienda el siguiente protocolo antes de la evaluación ultrasonografía propiamente dicho:

- Se inmovilizó a los animales utilizando sogas, sujetando los miembros anteriores y posteriores para ubicarla sobre una mesa, luego sujetarla para que no realice movimientos que dificulten el trabajo, cubrir el ocico y los ojos con unos tapaojos adecuados para esta especie (Anexo 2, figura 3).
- Se realizó el lavado de toda la región perineal y órganos genitales externos con algodón y agua tibia hasta que queden higienizadas (Anexo 2, figura 4A).
- Se insertó suavemente una mano enguantada y lubricada en el recto en forma de cuña (Anexo 2, figura 4B).
- Se hizo remoción de heces de la ampolla rectal con una suave estimulación del reflejo normal de defecación.

3.3.2. Técnica en ecografía

a). Evaluación ecográfica

Para ello se empleó un ecógrafo Sonovet– 600 V, modo – β en tiempo real (Medison Co, LTD, Korea), equipado con una sonda transductora lineal con doble frecuencia de onda (5.0 – 7.5 MHz), indicada para el examen transrectal de grandes animales (Anexo 2, figura 4C).

La evaluación ultrasonografica se realizó de la siguiente forma.

Primero, se realizó todas las conexiones con el equipo apagado, después de realizar la conexión adecuadamente prender el ecógrafo y direccionarlo el transductor para la introducción por vía transrectal.

Segundo, se aplicó un gel transmisor entre la funda protectora del transductor (guante obstétrico) y la membrana sensible de este, para facilitar el paso de los ultrasonidos. El transductor transrectal está diseñado para utilizarse sin protección alguna, pero es mejor esta maniobra previa al inicio del trabajo, para una mejor preservación de la parte más delicada del equipo y como forma de no “contaminar” el transductor y poder así vehiculizar algún microorganismo a otras zonas de trabajo.

Tercero, la sonda se introduce por vía transrectal sujeta entre los dedos pulgar, índice y medio que se sitúa sobre la localización del cérvix y útero, desplazando la sonda suavemente con movimientos controlados del transductor, se exploró usando una frecuencia de 7.5 MHz siguiendo lo recomendado por Campo (1998); Roa *et al.* (2006); Pierson *et al.* (1988) se logró una buena sucesión de imágenes.

Cuarto, durante cada examen la mucosa cervical y el endometrio de los cuernos fueron observados cuidadosamente, en al menos dos planos diferentes realizando un barrido de un extremo a otro, para ver que esté en su totalidad según indicaciones de Quintela *et al.* (2006) y Díaz *et al.* (1998).

Quinto, cada imagen seleccionada en la pantalla del monitor, en cortes longitudinales fueron congeladas obteniéndose imágenes estáticas y utilizando el calibre electrónico del ecógrafo; se realizaron mediciones del grosor de la mucosa cervical y el grosor del endometrio de los cuernos uterinos (Anexo 2, figura 5).

Sexto, las lecturas e imágenes fueron registradas en una cámara, para su posterior interpretación más minuciosa tal como lo sugiere (Savio *et al.*, 1988). Las evaluaciones ecográficas fueron realizadas siempre por dos personas; además de personal de apoyo para los distintos procedimientos durante las evaluaciones ecográficas.

3.3.3. Técnica en lavado uterino

a).Obtención y transporte de las muestras

Primero: Los lavados uterinos fueron obtenidos mediante infusión de 15 a 20 ml de solución salina fisiológica estéril (Anexo 2, figura 6A).

Gilbert *et al.* (2005); Kasimanickam *et al.* (2005), sugiere utilizar una infusión de 20-60 ml de solución salina al 0.9 % dentro del lumen del útero usando una pipeta plástica estéril seguido de un masaje suave del útero antes de la aspiración del fluido a través de la misma pipeta de infusión.

Segundo: La sonda Folley N° 16, se introdujo hacia la cavidad uterina con la ayuda de un estilete de inseminación para que quede rígida y pueda pasar el cérvix, luego mediante una jeringa de 20 mL se introdujo aire de 7 a 10 cm cúbicos con la finalidad de que el globo se

hinche lo cual permitió que el líquido se mantenga en el interior del útero (Anexo 2, figura 6B).

Tercero: Se realizó la infusión de solución fisiológica 15 a 20 mL con una jeringa que se conectó a la sonda Folley N° 16, y asegurarnos que se distribuya homogéneamente por todo el lumen.

Cuarto: El útero fue masajeadado y retraído para que exista concentración celular, luego se procedió a vaciar el contenido uterino por gravedad en un tubo falcón estéril de 15 mL. (Anexo 2, figura 6C).

Quinto: se realizó el rotulado con el número del animal.

Sexto: Las muestras fueron transportadas al laboratorio para su procesamiento en un periodo no mayor a 6 h a temperatura ambiente (Sánchez *et al.*, 2011) (Anexo 2, figura 6D).

3.3.4. Técnica de recuento de PMN

a).Evaluación citológica

Primero. Los tubos cónicos de 15 ml de muestra colectada del lavado se separó solo el sedimento, luego se llevó a centrifugar por 10 min a 3500 rpm para concentrar las células, luego del centrifugado se tomó 100 uL del sedimento para la realización de los extendidos que fueron teñidos con tinción Wright con el fin de determinar las respuestas inflamatorias (Sánchez, 2011) (Anexo 2, figura 7).

Técnica de tinción Wright

Fundamento de la tinción Wright

El colorante de tinción Wright va permitir suministrar un medio para estudiar y determinar las variaciones y anormalidades de estructura, forma y tamaño de los linfocitos, su contenido y propiedades de coloración. La información obtenida de un frotis depende en gran parte de la calidad del extendido y la coloración, cuyo Procedimiento indicado por (Muñoz, 1995) es el siguiente.

- Una vez hecho el frotis o muestra, se le dejó secar en un soporte entre 15 y 20 minutos.
- Luego se colocó la preparación en un soporte y se cubre con el colorante de Wright, dejándolo por espacio de 5 minutos.
- Posteriormente se añadió solución amortiguada tamponada en partes iguales, hasta obtener un brillo metálico, dejando 6 minutos adicionales.
- Finalmente, se lavó con agua corriente y se dejó secar.
- Se observó en el microscopio y, con pequeño aumento, la calidad de la coloración, y se escogió el sitio para iniciar el recuento. se enfocó a un aumento de 40x.

Segundo. Los frotis citológicos fueron evaluados mediante un microscopio óptico, en la cual se determinó la cantidad de células en 20 campos para clasificarlas de acuerdo a Riddle *et al.* (2007).

Tercero. Se registró cada hallazgo en una planilla diseñada, en la cual los hallazgos fueron cuantificados según citado por Riddle *et al.* (2007) en las categorías:

- Citología normal: 0 -2 neutrófilos
- Inflamación moderada: 2 -5 neutrófilos
- Inflamación severa: >5 neutrófilos.

3.3.5. Técnica de aislamiento bacteriano

a) Metodología para bacterias residentes

Para el aislamiento e identificación de las especies bacterianas se procedió de acuerdo a las indicaciones dadas por Koneman *et al.* (2008) y Forbes *et al.* (2007).

b) Aislamiento e identificación de los microorganismos.

Para este fin también se tomó en consideración las indicaciones dadas por Koneman *et al.* (2008) y Forbes *et al.* (2007) cuyo procedimiento es:

Primero.- Las muestras de lavado uterino centrifugados, se cultivaron en medios de cultivos primarios; selectivos y diferenciales para cada grupo bacteriano; Como agar manitol salado para cocos Gram positivos, McConkey para bacilos Gram negativos, MRS para bacilos ácido lácticos y agar sangre para bacilos Gram positivos, a través de métodos directos en agotamiento por estría, luego se coloca en la estufa a 37°C por 24 h en un ambiente de aerobiosis y microaerofilia según indica Koneman *et al.* (2008).

Segundo.- Para el aislamiento se procedió a seleccionar las unidades formadoras de colonia a través de observaciones macroscópicas, considerando las características o particularidades de cada grupo bacteriano al cabo de las 24 h, como: tamaño, forma, color, bordes, superficie, elevación; para luego repicarlas en medios de cultivo nuevos y fértiles y obtenerlas al estado de pureza (cepa), asimismo se procedió a realizar la coloración Gram, como parte de la identificación microscópica (Koneman *et al.* 2008). Cuyo procedimiento es el siguiente:

- Una vez realizado el frotis de la muestra, se le dejó secar
- Luego se colocó la muestra en un puente de coloración y se cubre con cristal violeta dejándolo por espacio de 60 segundos, se lavó con agua corriente.
- Posteriormente se añadió lugol, dejando 30 segundos, se lavó con agua corriente.
- Luego se añadió alcohol acetona por 10 segundos, se lavó con agua y finalmente se añadió safranina por un espacio de 30 segundos, se lavó con agua corriente y se dejó secar.
- Se colocó en el microscopio y se determinó Gram negativos y positivos.

Tercero.- Para la identificación de las cépas aisladas, se utilizó los métodos bioquímicos convencionales para cada grupo de bacterias aisladas; Pruebas bioquímicas para la identificación de cocos Gram positivos dadas por (MacFaddin, 2003) prueba de la catalasa, prueba de la fermentación del manitol, prueba de la coagulasa, sensibilidad a

la novobiocina, pruebas bioquímicas para identificación de bacilos Gram positivos; prueba de la oxidasa, prueba de reducción de nitratos a nitritos, prueba de la motilidad, producción de indól, pruebas de aerotolerancia y para la identificación de bacilos Gram negativos como las enterobacterias se basó en métodos sugeridos por (Agurto, 2009) como la lectura e interpretación en C –S y lectura e interpretación en SIM.

3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- Los datos para la variable ecografía del grosor del endometrio del útero de las alpacas tuis se determinó el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación.

Promedio

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Desviación Estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Coeficiente De Variabilidad

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\%$$

- Los datos obtenidos para la identificación de microorganismos y PMN de alpacas tuis fueron expresados e interpretados en una estadística descriptiva, coeficiente de variabilidad, porcentaje.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERÍSTICAS ECOGRÁFICAS DEL GROSOR DE LA MUCOSA CERVICAL Y CUERNO UTERINO DE ALPACAS TUIS

4.1.1. Características ecográficas de la mucosa cervical y cuernos uterinos de alpacas tuis de dos años

Los resultados de la evaluación ecográfica de la mucosa cervical y cuernos uterinos en alpacas tuis fueron medidos a través del grosor de la mucosa de la cérvix y cuernos uterinos se muestran en la tabla 1.

Tabla 1: Evaluación ecográfica del grosor de la mucosa cervical y el endometrio de los cuernos uterinos derecho e izquierdo (mm)

Variables	n	Media (mm)	D.E. (mm)	CV (%)	Min (mm)	Max (mm)
Cérvix	10	4.20	1.14	27.03	3.00	6.00
Cuerno uterino derecho	10	4.20	1.14	27.03	3.00	6.00
Cuerno uterino izquierdo	10	4.60	1.26	27.50	3.00	6.00

En la tabla 1, se muestra la medida del espesor de la mucosa cervical de las alpacas tuis, donde el promedio es 4.2 mm, en previos resultados reportados por Condori (2016), en alpacas fértiles cuyo espesor de la mucosa cervical fue de 5.6mm, esta diferencia se debe a que en la presente investigación se utilizó alpacas tuis en los cuales las medidas del espesor de la mucosa cervical es tamaño promedio

atribuida a la edad del animal a diferencia de Condori (2016), quien utilizo alpacas adultas fértiles para su estudio.

Se observa que las medidas del espesor del endometrio del cuerno derecho en alpacas tuis, en promedio fue 4.2mm mientras que el lado izquierdo 4.6mm, los cuales difieren con los resultados que obtuvo Condori (2016), quien reportó, que el espesor del endometrio del cuerno derecho en promedio fue 5.5mm e izquierdo 6.8mm resultados que se encuentran por encima del promedio de la presente investigación, debido a que sus animales fueron alpacas adultas.

El mayor espesor del cuerno uterino izquierdo que se presentó en animales joven (tuis), son contrastados por Condori (2016) y Ferradas *et al.* (2015) quien en un estudio en alpacas comprobó que la medida de la altura del epitelio endometrial y el grosor de la capa muscular, así como los valores de la medida promedio y numero de vasos sanguíneos fueron mayores en el cuerno izquierdo que en el derecho; esto implica, que en etapas futuras con la mayor actividad del tracto genital favorecen en forma significativa al lado izquierdo. En alpacas y llamas el cuerno uterino izquierdo es más grande que el derecho (Bravo, 2002), la diferencia es atribuida al hecho de que el 95% al 98.4% de las preñeces ocurren en el cuerno izquierdo (Fowler, 1998 y Mendoza, 2012).

Mendoza *et al.* (2011) comprobaron que el modelo de irrigación uterina favorece al cuerno uterino izquierdo, dado que este recibe mayor aporte sanguíneo a partir de una rama comunicada que esta originada en la arteria uterina derecha.

4.2. PORCENTAJE POLIMORFONUCLEARES EN ALPACAS TUIS.

Los resultados del presente estudio muestran que el 100% de las alpacas tuis, presentan citología uterina normal de acuerdo a la investigación que realizó Riddle *et al.* (2007) quien categoriza como citología normal (0 -2 neutrófilos). Es necesario indicar que el presente estudio de las 10 alpacas tuis hembras no presentaron recuentos de polimorfonucleares (neutrófilos) asimismo existen reportes de investigaciones al respecto en animales jóvenes que no hayan entrado a reproducción. Corroborado por Pardo (2010), quien obtuvo un 46.9% en yeguas con citología normal así como Vanina (2012), que demostró que en vacas normales el porcentaje de PMN nunca supera el 2% durante el ciclo estral.

En una investigación que se realizó en vacas con problemas de infertilidad en Italia obtuvieron como resultado que el 95% de estos animales se consideraron sin inflamación con recuentos de 0 a 20 PMN en forma similar Barlund *et al.* (2008) indicaron que se puede observar PMN en una proporción leve durante la fase del estro sin que este implique un proceso infeccioso. La no presencia de PMN en el útero de alpacas tuis se explica por qué en estos, no existe proceso inflamatorio ya que esta condición es indispensable para la migración de componentes celulares como los PMN y otros en la respuesta inmune inespecífica tal como manifiesta Tizar (2009), así mismo la presencia de bacterias en el útero que en nuestra investigación alcanza el 70% de estos, no se consideran patógenos, identificándose especies como *Bacillus lechiformis*, *Enterobacter spp* , *Bacillus*

cereus, *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus* y una sola cepa de *Staphylococcus aureus* considerándose transitorias que probablemente provienen de la microbiota normal de la vagina y que estos podrían ser resueltos en el lapso de 96 horas tal como manifiesta Hughes y Loy (1969), quien trabajo en yeguas jóvenes y fértiles.

4.3. ESPECIES BACTERIANAS DE LOS CUERNOS UTERINOS EN ALPACAS TUIS.

En la tabla 2. Se muestra que de las 10 alpacas tuis hembras se aisló un total de 10 cépas, de los cuales *Bacillus lechiniformis* se aisló con mayor frecuencia (30%), seguido de *Enterobacter spp*, *Staphylococcus saprophyticus* con 20%, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* con 10%.

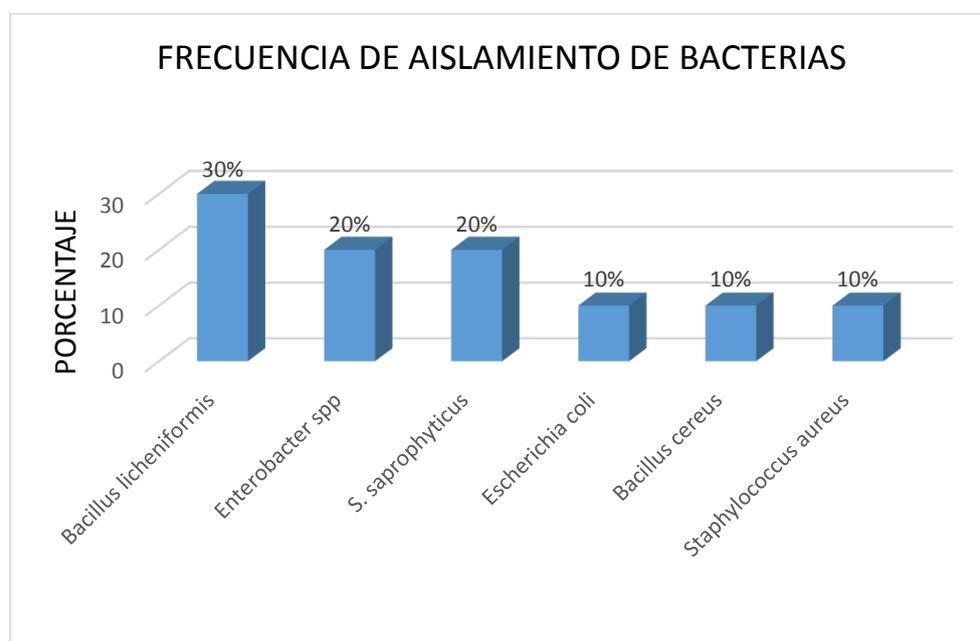
Tabla 2. Frecuencia de aislamiento de especies bacterianas aisladas a partir de lavados uterinos de alpacas tuis.

ESPECIE BACTERIANA	FRECUENCIA DE AISLAMIENTO	PORCENTAJE
<i>Bacillus lechiniformis</i>	3	30%
<i>Enterobacter spp</i>	2	20%
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	20%
<i>Bacillus cereus</i>	1	10%
<i>Escherichia coli</i>	1	10%
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	10%
TOTAL	10	100%

Fuente: resultados de la investigación

De las seis cepas aisladas de especies bacterianas se consideran saprofitos con excepción de *Staphylococcus aureus* y que este es considerado como parte de la microbiota normal de la vagina de la mayor parte de los animales.

Figura 1. Frecuencia de aislamiento de especies bacterianas a partir de lavados uterinos de alpacas tuis.



Fuente: tabla 2

Rutter *et al.* (1999) y Sheldon *et al.* (2002), indican que *Bacillus lechiniformis* no está comúnmente asociados con lesiones uterinas y que son bacterias que raramente causan endometritis. La otra especie bacteriana que se aisló con menos frecuencia fue *Bacillus cereus* al respecto Fernández *et al.* (1984), investigó en vacas clínicamente sanas, aislaron 3.8% de *Bacillus sp.* y *Escherichia coli* con 23.1% también se encontró presente, pero en una escasa cantidad en el útero de las alpacas tuis, por su parte García *et al.*,

(1985) aislaron *E. coli* y *Staphylococcus albus* en vacas clínicamente sanas, así mismo Youngquist y Shore (1997), aislaron *Staphylococcus aureus* en vacas con infección uterina, similar al trabajo que realizó Flores (2012), que encontró en vacas con metritis puerperal de Chuquibambilla en Puno. A diferencia Vanina (2012), aisló bacterias del lumen del útero bovino y que no están asociados a lesiones uterinas bacterias que raramente causa endometritis.

Dellepiane y Morales (2015), aisló enterobacterias como *Escherichia coli* esta bacteria es la de mayor frecuencia. Sin embargo, es posible encontrar muchas de estas bacterias en útero de alpacas hembras aparentemente sanas con o sin antecedentes reproductivos, la *E. coli* ha sido aislada en hembras primerizas en mayor porcentaje 31.03% que en las hembras no primerizas 23.02%, sin mostrar ningún tipo de alteración infecciosa aparente, dando a entender que esta puede considerarse parte de la microbiota normal en útero de alpacas.

Condori (2016), quien realizó su estudio en alpacas fértiles y obtuvo con mayor frecuencia *Bacillus lechiniforme*, y *Bacillus cereus* como patógenos oportunistas y a *E. coli* solo llegó a aislar en un 5.88%, porcentaje que se encuentra por debajo de nuestros resultados (10%), ambos resultados se consideran como de menos frecuencia de aislamiento en relación a los demás microorganismos aislados.

Los resultados que obtuvimos al aislar los microorganismos en la presente investigación son similares a los que obtuvo Condori (2016), Dellepiane y Morales (2015) y Fernández *et al.* (1984) con ligeras

variaciones, donde predominaron microorganismos que no están asociados a producir lesiones y es por esta razón que raramente pueden causar endometritis u otra alteración reproductiva.

V. CONCLUSIONES

La presente investigación llegó a las siguientes conclusiones:

- Se determinó que el grosor de la mucosa cervical de las alpacas tuis, con un promedio de 4.20 ± 1.14 mm y un espesor del endometrio del cuerno derecho 4.20 mm y el izquierdo 4.60 mm lo cual podemos afirmar que esta es la medida aparentemente normal es atribuida a la edad de las alpacas.
- La presencia de polimorfonucleares en el lumen uterino de alpacas tuis fue negativo, en el 100 % lo cual nos da a indicar una citología aparentemente normal.
- Las bacterias presentes en alpacas tuis con mayor frecuencia aisladas fue *Bacillus lechiniformes* y *Staphylococcus saprophyticus* considerados patógenos oportunistas, mientras que *Enterobacter spp.* y *Escherichia coli* son bacterias que no son patógenas.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios similares acerca del grosor de la cervix y cuernos uterinos en alpacas tuis antes de la cópula, debido a que no existen mucha información.
- Los análisis de laboratorio en citología uterina y aislamiento bacteriano deben ser procesados en el lugar de muestreo de preferencia o considerar un tiempo en el transporte menor a 2 horas.
- Realizar estudios similares considerando como criterios de exclusión los niveles hormonales y color, aspecto, pH del contenido uterino de alpacas en estudio.

VII. REFERENCIAS

- Aba M. A.** 2014. Anatomy and physiology of reproduction in the female llama and alpaca. Llama and alpaca care. Part: 3 Reproduction. Edition 1. Copyright © 2014 by Saunders, an Imprint of Elsevier Inc. Philadelphia, PA, USA, 140-146.
- Agurto, S. T.** 2009. Microbiología, bioquímica bacteriana, *Enterobacteriaceae*. 1ra. Edición. Impreso por la Universidad Peruana Unión. Lima Perú.
- Ata, A., Turutoglu, H. M. Sucrukugulay. y F. Pehlivanoglu.** 2010. Microbial flora of normal and abnormal cervical mucus discharge associated with reproductive performance of cows and heifers in estrus” journal of animal science.
- Barlund C, T. Carruthers, C.Waldner, and C. Palmer.** 2008. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. Theriogenology 2008; 69:714-724.
- Baron, E.J., A. Weissfeld, P. Fuselie, D. and Brenner.** 1995. Classification and identification of bacteria, in: Murray, p. (ed.) manual of clinical microbiology. ASM PRESS, Washington DC, Pp. 249-264.outh American Camelids.
- Bravo, W.** 2002. Female Reproduction. The reproductive process of South American camelids.
- Brooks, G.F., K. C. Carroll, J. Butel, A. Morse, A. Timothy, M. Jawetz, Melnick y Adelberg.** 2004. Microbiología médica. 4 Edición

- Bustinza, V.** 2001 La alpaca: Conocimiento del gran potencial andino. Oficina de recursos de aprendizaje – Selecciones publicaciones. U.N.A.- Puno-Perú.
- Campo, E.** 1998. Aplicación de los ultrasonidos esaote-pie medical en fisiología y patología de la reproducción. Facultad de medicina veterinaria, universidad agraria de la Habana - comunicación personal - la habana.
- Cebra, C., D.E. Anderson, A. Tibary, J. Robert, and L. Jonson.** 2014. “Llama and alpaca care: Medicine, surgery, reproduction, utrition and herd health” Edition 1
- Condori V. Vilma** .2016, “Evaluación ecográfica comparativa del útero, porcentaje de polimorfonucleares (lavado uterino) y flora bacteriana en alpacas fértiles e infértiles del CIP Chuquibambilla”, Universidad Nacional del Altiplano Puno- Perú.
- Dejarnette, M.** Especialista en reproducción Dr. Ray nebel, especialista en reproducción anatomía de los órganos genitales del macho y hembra
- Dellepiane H, Morales S.** 2015, Enterobacterias aisladas en mucosa uterina pre copula de alpaca (*Vicugna pacos*) en cerro de Pasco, laboratorio de microbiología, facultad de ciencias veterinarias y biológicas. Universidad científica del sur, lima, Perú. &laboratorio de microbiología y parasitología, facultad de medicina veterinaria, universidad nacional mayor de san marcos, lima, Perú.
- Díaz T., E. Schmitt, R. de la Sota, M.Thatcher, w. thatcher.** 1998. human chorionic gonadotropin-induced alterations in ovarian follicular dynamics during the estrous cycle of heifers. *J. Anim. Sci.*, 76: 1929-1936.

- Fernández-Baca**, S. J. Sumar y C. Novoa. 1973. Relación entre la ubicación del cuerpo lúteo y la localización del embrión en la alpaca. Revista Invt. Pecuarias. (IVITA) UNM San Marcos. Lima- Perú 2, 131- 135.
- Fernández A**, L. Villavicencio, R. Peláez, y EA. Silveira. 1984. estudio cualitativo y cuantitativo de la microflora de secreciones cervicouterinas en vacas con repetición de celo. Rev Cub Reprod Animal. 10(2):83-93.
- Fernández**, A., E. Silveira y O. López. 2006. las infecciones uterinas de la hembra bovina” Red Vet revista electrónica de Veterinaria (1 – 38).
- Ferradas C.**, G. Mendoza, C. Llerena, C. Barbeito, y A. Castro. 2015. Estudio microscópico comparativo de la anatomía de los cuernos uterinos de las alpacas durante su desarrollo prenatal. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima Perú.
- Forbes**, B. A., D.F. Sahn, & A. S. Weissfeld. 2007. Bailey & Scott diagnóstico microbiológico. 12a Edición. Editorial médica panamericana. Buenos Aires Argentina.
- Flores** K.P. 2012. Uso de antibióticos en tratamiento de metritis puerperal en Vacas Brown Swiss. Tesis pregrado.
- Fowler**, M. E. 1989. Medicine and surgery of south American camelids llama, alpaca, vicuña, guanaco, Iowa state University Press, Ames.
- Fowler** ME. 1998. Medicine and surgery of South American camelids: llama, alpaca, vicuña, guanaco, 2nd ed., Iowa State University Press; 1998.
- Galina**, C. Y J.Valencia. 2008. Reproducción de animales domésticos. Tercera Edición. Editorial Limusa. México.

- García** Libertad, O. Fernández, J.C.Alonso, R. Faure, JL. González, A. Gil, B. Preval, y JM. Rizo. 1985. *Reproducción*. La Habana: Ed Veterinaria.
- Gilbert**, R.O., S.T. Shin, C.L. Guard, H.N. Erb, M. Frajblat. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 64: 1879-1888.
- González**. T, M.*, M.Sc, Rodrigo Ríos R, Bacteriólogo, Salim Mattar V, Ph.D Prevalencia De Bacterias Asociadas A La Infertilidad Infecciosa En Bovinos De Montería, Colombia. *Rev. .MVZ Córdoba* 12(2): 1028-1035, 2007
- Hafez**, E. 2000. *Reproducción e inseminación artificial en animales*. Séptima Edición. Editorial Mc Grawll Interamericana. México.
- Hughes**, J. R. and Loy. 1969. Investigations on the effect of intrauterine inoculation of *Streptococcus zooepidemicus* in the mare. *Proc Am Assoc Eq Pract* 15, 285-289.
- Instituto** Nacional de estadística e informática (INEI). 2012. Censo nacional agropecuario Lima (Perú).
- Iñiguez**, L.C. & R. Alem. 1996. Role of camelids as means of transportation and exchange in the Andean region of Bolivia. *World Animal Review* 86: 12-21.
- Kasimanickam**, R., TE. Duffield, R.A. Foster, C.J. Gartley, K.E. Leslie, J.S. Walton, WH. Johnson. 2005. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can. Vet. J.*; 46: 255-259.

- Katila T.** 1996. Uterine defence mechanisms in the mare. *Anim reprod Sci* 42, 197-204.
- Kenney, R.M.** 1978. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by, with a note on early embryonic death. *J am Vet Med Assoc* 172(3):241-262.
- Koneman, E.;** W. Winn, S. Allen, W. Janda, G. Procop, P. Schreckenbrg, & G. Woods. 2008. *Koneman diagnóstico microbiológico, Texto y atlas a color.* 6ta Ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- Leblanc M, And R. Causey.** 2009. Clinical and subclinical endometritis in the Mare: Both Threats to fertility. *Reprod dom anim* 44 (Suppl. 3), 10-22.
- MacFaddin, J. F.** 2003. *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica.* 3ª Edición. Editorial médica panamericana. Buenos Aires Argentina.
- Martínez, N., P. Herrera, B. Birbe, y C. Domínguez.** 1998. Relación entre la condición corporal y la respuesta reproductiva en hembras bovinas de doble propósito. En: González-Stagnaro, C; Madrid-Bury, N; Soto-Belloso, E. (Eds). *Mejora de la ganadería mestiza de doble propósito.*
- Mendoza, G.J.** 2012. *Modelo de la irrigación sanguínea materno-fetal en llama (Lama glama) y alpaca (Vicugna pacos).* Tesis doctoral. La Plata, Argentina: Universidad Nacional de la Plata. 128 p.
- Mendoza, G.J., C.A. Llerena, R.A. Valencia, A.N.C. Castro, S.A. Gómez, M.T. Domínguez.** 2011. VII Congreso del ALEPRyCS. Estudio macroscópico

del tracto genital hembra de la llama y alpaca en el último mes de gestación. pp. 413-415.

Muñoz, M.1995. Guías De Práctica De Hematología Y Trombosis. Lima: Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Facultad De Medicina. Escuela Académico Profesional De Tecnología Médica.

Otero C., Saavedra, L., C. Silva De Ruiz, O. Wilde, A.R.Holgado, y Nader M.E.Macias. 2000. "Vaginal bacterial microflora modifications during the growth of healthy cows".

Pacheco, J., G. Pérez, L. Calle, y W. García. 2009. Efecto del lugar y la hora de inseminación artificial sobre la fertilidad en Alpacas. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080809/080905.pdf> REDVET

Palomino H. 2012. Diagnostico laparoscópico y tratamiento de la infertilidad en alpacas. Facultad de Medicina Veterinaria. UNMSM

Pardo, J. 2010. Relación entre la citología uterina y la preñez en yeguas fina sangre de carrera. Tesis. Universidad austral de chile, facultad de ciencias veterinarias

Parraguez V., G. Adams, M. Ratto and L. A. Raggi. 2010. Pactical atlas of ruminand and camelid reproductive ultrasonography .Editorial Office 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014-8300, USA.

Pierson, R.A., J.P. Kastelic, and O.J. Ginther. 1988. Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horse. Theriogenology 29(1): 3-20.

- Quintela**, L.A.; C. Diaz; P.J.Garcia; A. Peña; y J. Becerra. 2006. Ecografía y reproducción en la vaca. Primera Edición. Editorial Universidad Santiago de compostela, servizo de publicaciones e intercambio científico, ed. España.
- Reiswig**. W. Therellfall, And T. Rosol. 1993. Accomparison of endometrial biopsy, culture and cytology during oestrus and dioestrus in the horses. Equine Vet J. 25, 240 – 241.
- Riddle**, W. M. LeBlanc, and A. Stromberg. 2007. Relationship between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. Theriogenology 68, 395-402.
- Roa**, N., T. Linares, T. Días, y F. Chacin. 2006. Ondas foliculares ováricas en vacas Brahman y Mestizas (Bos indicus x Bos taurus), ubicadas en los llanos centrales venezolanos. Zootecnia Tropical 24(3): 297-306.
- Rutter**, B., A. Russo, y E. Capdevielle. 1999. Aislamientos bacterianos en hembras bovinas lecheras con partos normales y asistidos con distintos trastornos puerperales. Vet Arg XVI, 731-379.
- Sánchez** R. 2010. Ultrasonografía en reproducción animal. Tecnología veterinaria. Disponible en www.Produccion-Animal.Com.Ar. Consultado En 05 – 09 – 2011
- Sánchez**, M., C. Gonzales, R. Castañeda, H. Guaqueta, M. Aranda, y M. Rueda. 2011. “Evaluación citológica y microbiológica de lavados uterinos en bovinos con problemas reproductivos” Bogotá.

- Sato** A. y L. Montoya.1990. Aparato reproductor de la alpaca (Lama pacos). Anatomía macroscópica. Rev. Camélidos Sudamericanos.7, 13.
- Savio** JD, L. Kecnana, MP. Boland, And J.F. Roche. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during estrus cycle of heifers. *J Reprod Fertil.*; 83:663-671.
- Senhami.** (2013). Estación meteorológica del centro de investigación y producción Chuquibambilla. UNA- Puno.
- Sheldon,** I.M., D.E. Noakes, A.N. Rycroft, and H. Dobson. 2002. Effect of postpartum manual examination of the vagina on uterine bacterial contamination in cows. *Vet Rec* 151, 531-534.
- Smith,** C. L., A.T. Meter and D. G. Pugh. 1994. Reproduction in llamas and alpacas: A Review. *Theriogenology.* 41, 573-592.
- Soto,** S, A.; Valencia, L, R. A.; Montoya, O, L. (1986) Revisión anatómica del aparato reproductor de la alpaca hembra. [Sisbib.Unmsm.Edu.Pe/Bvrevistas Rcs/N02_1986/Pdf/A04.Pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/Bvrevistas/Rcs/N02_1986/Pdf/A04.Pdf)
- techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology* 2008; 69:714-724.
- Tejero,** J. 2008. Diagnóstico ultraprecoz de gestación en el ganado vacuno mediante la exploración ecográfica del cuerpo lúteo y determinación del sexo del feto mediante valoración de los niveles plasmáticos de testosterona. Tesis doctoral. Universidad de León, facultad de Veterinaria. León. España.

- Tibary, A.** And A. Anouassi. 1997. Theriogenology In Camélidos. Abu dhabl printing. Mina, Abu dhavi, UAE.
- Tibary, A.** and A. Anouassi. 2001. Uterine infections in Camelidae. In: Recent advances in camelid reproduction. Eds. J.A. Skidmore and G.P. Adams. International Veterinary information service
- Tibary, A.** And J. Vaughn. 2006. Reproductive Hysiology And Infertility In Male South American Camelids: A review and clinical observations. Small Rumiant Res 2006; 61:283-98.
- Tizard. R. I.** 2009. *Inmunología veterinaria*. Octava Edición. Elsevier, Barcelona España.
- Vanina, L.** 2012. Endometritis subclínica en vacas de tambo: diagnostico prevalencia e impacto sobre la eficiencia reproductiva.
- Williamson, P. S., R. Munyua, and W. Martin.**1987. Dynamics of the acute uterine response to infection, endotoxin infusion and physical manipulation of the reproductive tract in the mare. J Reprod Fertil Suppl 35, 317-325.
- Youngquist RS, y MD. Shore.** 1997. Postpartum uterine infections. En: Youngquist RS (ed), Current therapy in large animal theriogenology. Philadelphia. PA.

ANEXOS

MATERIALES Y EQUIPOS

Materiales de campo

- Guantes de palpación rectal
- Sogas.
- Soguillas
- Baldes con agua
- Jabón carbólico
- Mameluco

- Gel de ultrasonido

- Mesa

- Toallas

- Extensor eléctrico

Material de escritorio

- Libretas de campo
- Cuadernos
- Tableros de apunte
- Lapiceros
- Papel

Equipos

- Ecógrafo
- USB
- Cámara fotográfica

MATERIALES PARA LAVADO UTERINO

- Suero fisiológico
- Jeringas de 60 ml y 10 ml.
- Sondas Foley N° 16
- Pinza
- Estilete
- Tubos falcón de 15 ml.
- Algodón
- Alcohol
- Papel toalla
- marcador

Materiales para el cultivo de bacterias

Equipos

Materiales, medios de cultivo y reactivos para bacterias no fastidiosas

- Placas Petri.
- Tubos de ensayo.
- Equipo de siembra (Asas de colle, mecheros bunsen)
- Agar Sangre.
- Agar Manitol salado.
- Agar McConkey
- Agar MRS.
- Medios de cultivo bioquímicos
- Batería de coloración Gram

Equipos

- Estufa de incubación.
- Autoclave.
- Horno de esterilización.
- Microscopio binocular de investigación
- Microscopio estereoscópico

Materiales para aislamiento de polimorfonucleares

Mechero de buncen

Asa de collie

Centrifugadora

Tubos de ensayos

Coloración Wright

Microscopio

Cámara fotográfica

Anexo 1:

CUADRO DE DATOS Y RESULTADOS

Cuadro 5. Datos de las características ecográficas del útero y cérvix en alpacas tuis vírgenes.

N° ARETE	CERVIX	CUERNO DERECHO	CUERNO IZQUIERDO
14S10E	3mm	3mm	3mm
14S285E	3mm	3mm	3mm
14S115E	3mm	3mm	3mm
14S15B	6mm	6mm	6mm
14S318E	5mm	5mm	6mm
14S106F	4mm	4mm	5mm
14S06X	4mm	4mm	4mm
14S107F	4mm	4mm	5mm
14S245E	4mm	4mm	5mm
14S311E	6mm	6mm	6mm

Fuente: resultados de la investigación

Cuadro 6 Frecuencia de aislamiento de especies bacterianas aisladas a partir de lavados uterinos de alpacas tuis.

MUESTRA	ARETE Nro	Medio de C	Especie
M1-N	14S210E	A-S	
		MRS	
		McC	
		M-S	
M2-N	14S285E	A-S	
		MRS	
		McC	
		M-S	
M3-N	14S115E	A-S	
		MRS	
		McC	
		M-S	
M4-N	14S15B	A-S	<i>Bacillus licheniformis</i>
		MRS	
		McC	
		M-S	
M5-N	14S318	A-S	
		MRS	
		McC	<i>Enterobacter spp</i>
		M-S	<i>Staphylococcus aureus</i>
M6-N	14S106F	A-S	
		MRS	
		McC	<i>Enterobacter spp</i>
		M-S	
M7-N	14S06X	A-S	<i>Bacillus cereus</i>
		MRS	
		McC	
		M-S	
M8-N	14S107F	A-S	<i>Bacillus licheniformis</i>
		MRS	
		McC	<i>Escherichia coli</i>
		M-S	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
M9-N	14S245E	A-S	<i>Bacillus licheniformis</i>
		MRS	
		McC	
		M-S	
M10-N	14S311E	A-S	
		MRS	
		McC	
		M-S	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>

Cuadro 7. Datos del recuento de células Polimorfonucleares (Neutrófilos)

MUESTRA	PROMEDIO DE PMN / CAMPO
	Alpacas Tuis
M-1 ARETE N° 14S210E	0
M-2 ARETE N° 14S285E	0
M-3 ARETE N° 14S115E	0
M-4 ARETE N° 14S15B	0
M-5 ARETE N° 14S318	0
M-6 ARETE N° 14S106F	0
M-7 ARETE N° 14S06X	0
M-8 ARETE N° 14S107F	0
M-9 ARETE N° 14S245E	0
M-10 ARETE N° 14S311E	0

Fuente: resultados de la investigación.

Anexo 2:

PANEL FOTOGRÁFICO DEL MATERIAL EXPERIMENTAL



FIGURA 01. Alpacas tuis de la raza suri utilizadas para la evaluación ecográfica y lavado uterino.



Fig. 2 A



Fig. 2 B

Figura 2. Material y equipo para el lavado, Ecógrafo



Figura 3. Sujeción del animal para la ecografía y lavado



Fig.4.A

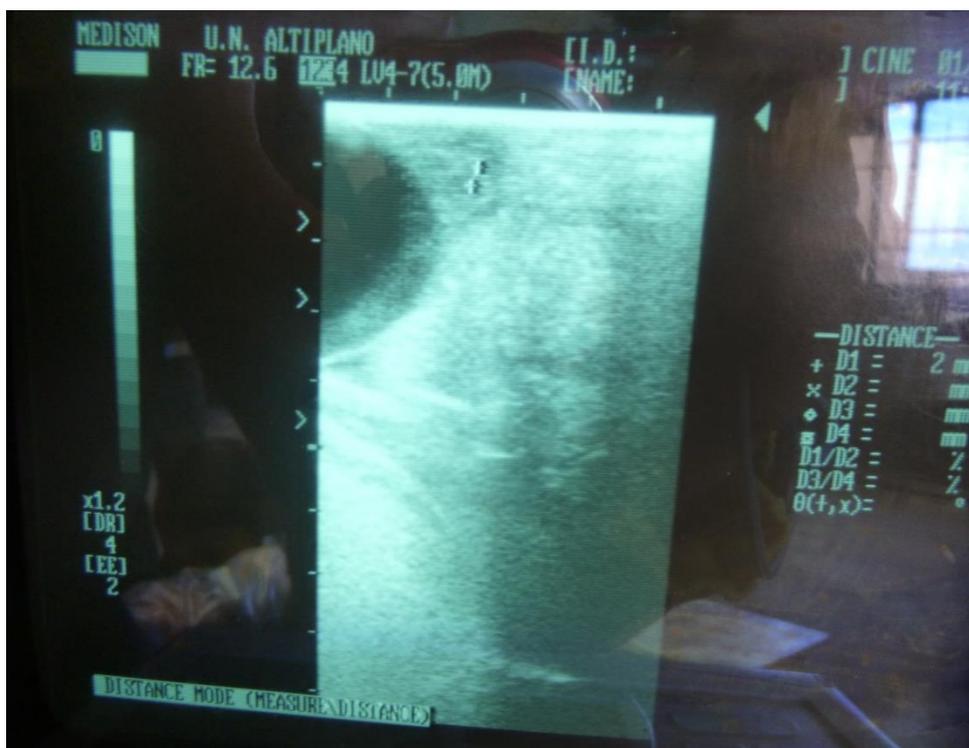


Fig.4 B



Fig. 4C

Figura 4. Limpieza y desinfección del tracto genital del animal para la ultrasonografía del útero y cérvix y lavado uterino.



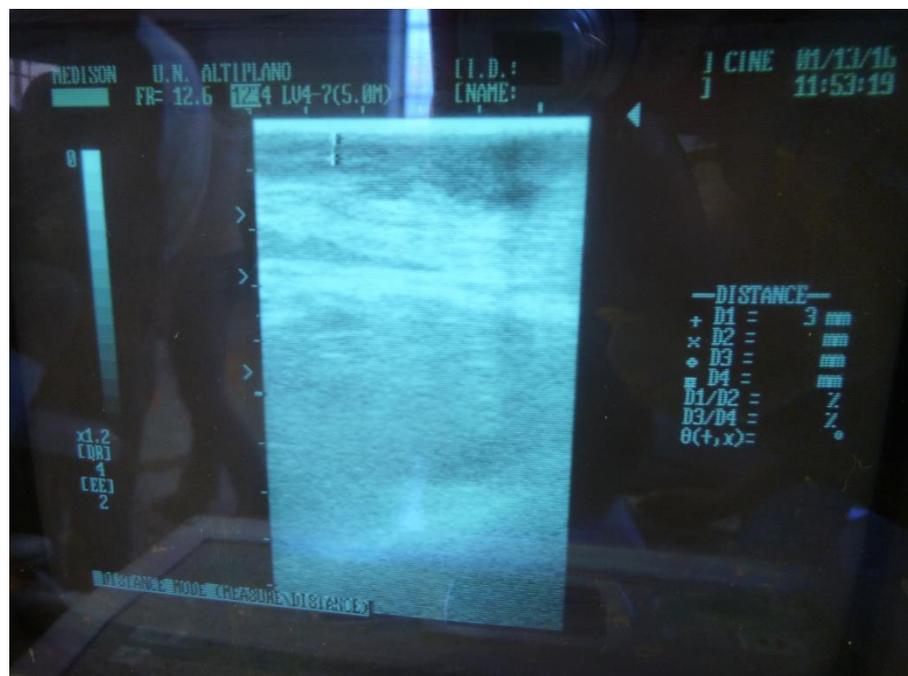
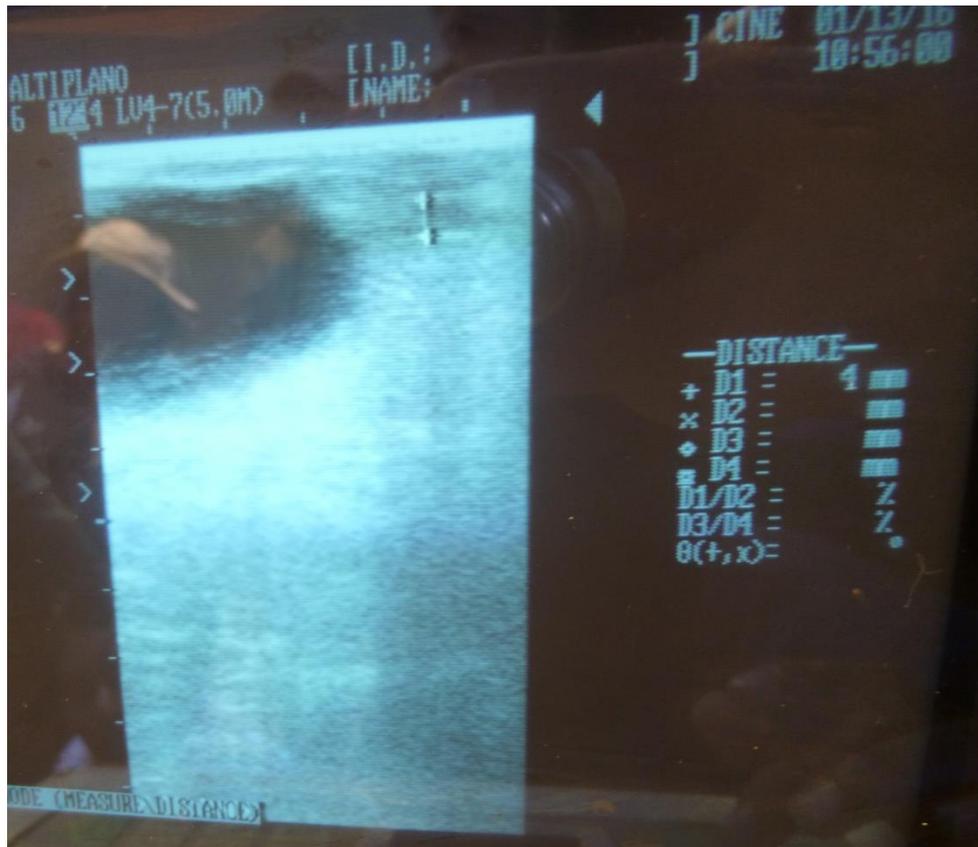




Figura 5. Se realizó la evaluación ecográfica de las medidas de la mucosa cervical y el espesor del endometrio de ambos cuernos, luego se tomó datos de las respectivas medidas



Fig. 6A

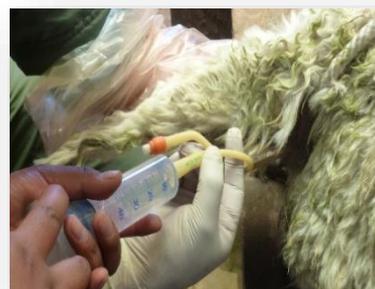


Fig. 6B



Fig. 6C



Fig. 6D

Figura 6. Infusión de Solución fisiológica y la obtención de muestra del lavado uterino, que fue rotulado con el número de muestra del animal, luego fue refrigerada para su transporte al laboratorio de la UNA - Puno.



Figura 7. Las muestras obtenidas fueron centrifugadas a 3500rpm por 10min, por lo que se obtuvo solo el sedimento los cuales fueron procesadas para la citología y el cultivo bacteriano.

PROCEDIMIENTO DE LA CITOLOGÍA UTERINA



Figura 8. Se tomó el sedimento de la muestra se realizó el barrido en una lámina portaobjetos, se añadió el colorante Wright y una solución tamponada y se dejó secar después se realizó el recuento de PMN (Neutrófilos) en 20 campos de los cuales no se encontró ninguno.

PROCEDIMIENTO DEL AISLAMIENTO BACTERIANO

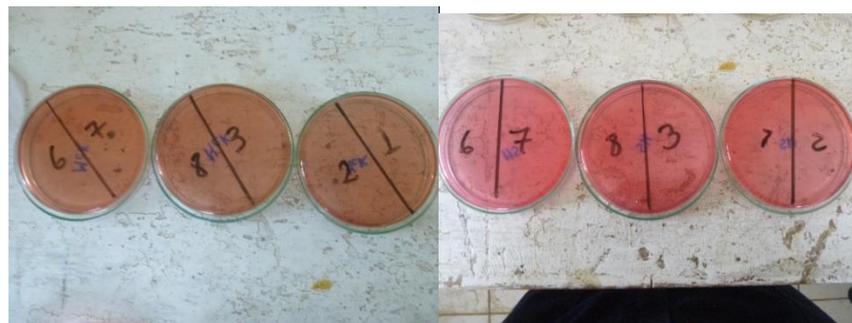


Figura 9. Preparado ya los medios de cultivos como, se procedió a sembrar la muestra, luego se colocó en la estufa a temperatura de 38° por 24 horas.

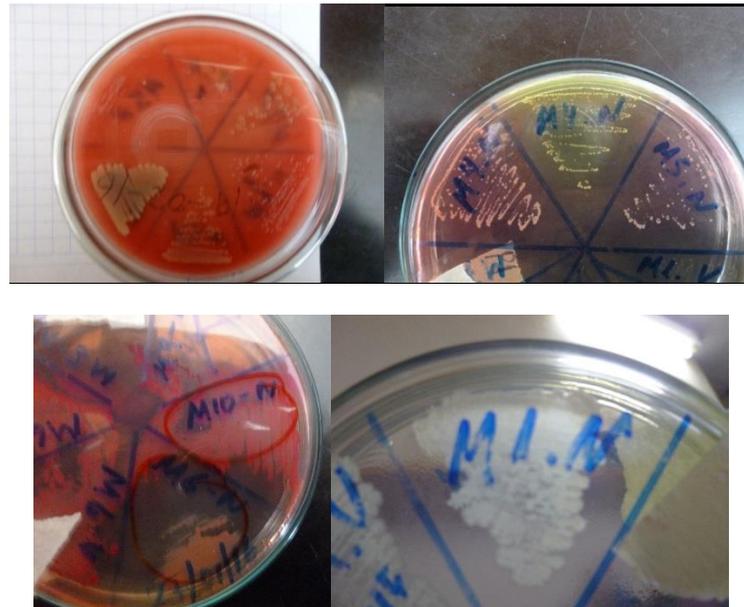


Figura 10. Se observó las características macroscópicas del crecimiento bacteriano en diferentes medios de cultivos.



Figura 11. Se realizó el repique en medios selectivos y se determinó cepas específicas, luego se realizó la técnica de Gram, en donde se determinó las Gram positivos y las Gram negativos.

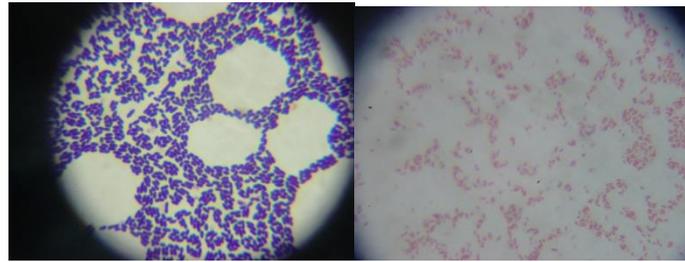


FIGURA 12. Diferenciación de bacterias Gram positivas y Gram negativas