

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS

FACULTAD DE AGRONOMÍA

POSTGRADO



TESIS DE MAESTRÍA

Determinación de la flora bacteriana de la vagina y útero, y la relación con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (*Lama glama*) del “Centro Experimental Agropecuario Condoriri.”

Jherson Saúl Jiménez Bellot

Tutor: Orlando Nicolás Arce Cabrera

LA PAZ – BOLIVIA

2016

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
POSTGRADO

“DETERMINACION DE LA FLORA BACTERIANA DE LA VAGINA Y UTERO, Y
LA RELACION CON LA FERTILIDAD EN CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS
DOMÉSTICOS (*Lama glama*) DEL CENTRO EXPERIMENTAL AGROPECUARIO
CONDORIRI”

*Tesis de Maestría presentado como requisito parcial para optar
el Título de Maestro en Ciencia Animal*

(Jherson Saúl Jiménez Bellot)

Asesor:

Ing. M. Sc. Orlando Nicolás Arce Cabrera
.....

Colaborador: Ing. Phd. Sergio Moreira A.

Dr. Remo Estévez Martini

Tribunal Examinador:

M.V.Z. P Hd. Celso Ayala Vargas

M.V.Z. M. Sc. Martha Gutiérrez

Ing. M. Sc. José Cartagena Catacora

Aprobado

Presidente Tribunal Examinador

DEDICATORIA

*A mis padres Ponciano y Willma,
a mis hermanos Shirley, Yecid y Viviana,
a mis hijitas Juliana Valeria y Lorena Gabriela*

AGRADECIMIENTOS

En primer, lugar quisiera agradecer a los Ing. M.Sc. Orlando Arce Cabrera y Phd. Sergio Moreira Ascarrunz por su colaboración, preocupación y dedicación durante todo el desarrollo del trabajo.

Al Dr. Remo Estevez Martini, por guiarme e inculcarme su sabiduría en la parte de Microbiología.

A los Ingenieros M. Sc. Vladimir Saavedra T. y M. Sc. Roberto Chiri C. por guiarme durante el proceso del trabajo.

A los Ingenieros Franz Bustos, Virgilio Choque y Zenobio Villca como también a la M.V.Z Wendy Irusta por la colaboración en el trabajo de campo.

Al Centro Experimental Agropecuario Condoriri (CEAC) de la Universidad Técnica de Oruro (U.T.O.) por permitirme realizar el trabajo de campo.

Al Departamento de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad Mayor de San Andrés por brindarme la oportunidad y las herramientas necesarias para realizar el laboratorio de este trabajo de investigación.

Finalmente agradezco a todas las personas que hicieron posible este documento...

INDICE GENERAL

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos	2
<i>1.1.1. Objetivo general</i>	<i>2</i>
<i>1.1.2. Objetivo específico</i>	<i>3</i>
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Generalidades de los camélidos sudamericanos domésticos (CSD)	3
<i>2.1.1. Biología</i>	<i>4</i>
2.2. Características reproductivas de los camélidos sudamericanos domésticos (CSD)	5
2.2.1. Características anatómicas	5
<i>2.2.1.1. Vagina</i>	<i>5</i>
<i>2.2.1.2. Útero</i>	<i>6</i>
<i>2.2.1.3. Oviductos</i>	<i>7</i>
<i>2.2.1.4. Ovarios</i>	<i>7</i>
2.2.2. Características fisiológicas	8
<i>2.2.2.1. Pubertad</i>	<i>8</i>
<i>2.2.2.2. Gestación</i>	<i>10</i>
2.3. Problemas con el sistema reproductor de la hembra	11
<i>2.3.1. Perdidas reproductivas</i>	<i>11</i>

2.3.2. <i>Infertilidad</i>	12
2.4. Flora bacteriana del sistema reproductivo	13
2.5. Infecciones del sistema reproductivo en general	14
2.6. Diagnostico microbiológico de las enfermedades infecciosas	15
2.7. Infecciones vaginales y uterinas	15
2.8. Clasificación de la microbiota	16
2.9. Generalidades de las cepas bacterianas	17
2.9.1. <i>Bacterias Gram positivas</i>	17
2.9.2. <i>Bacterias Gram negativas</i>	18
2.10. Aislamiento de bacterias presentes en muestras	19
2.11. Identificación de bacterias presentes en muestras	19
2.12. Técnicas de muestreo	20
2.12.1. <i>Vagina</i>	20
2.12.2. <i>Útero</i>	21
3. MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1. Localización del experimento	20
3.1.1. <i>Toma de muestras</i>	21
3.1.2. <i>Laboratorio</i>	22
3.1.2..1. <i>Material clínico y de laboratorio</i>	22
3.1.3. <i>Material semoviente</i>	23
3.2. Métodos	23

3.2.1. <i>Unidades experimentales</i>	23
3.2.2. <i>Toma de muestras</i>	24
3.2.3. <i>Procedimiento de laboratorio</i>	25
3.2.4. <i>Inoculación primaria de las muestras</i>	25
3.2.5. <i>Identificación y aislamiento de colonias</i>	25
3.2.5.1. <i>Antibiograma</i>	27
3.2.6. <i>Análisis estadístico</i>	28
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
4.1. Descripción de la población	29
4.2. Condición corporal y sanitaria de la población	29
4.3. Resultados microbiológicos	30
4.3.1. <i>Aislamiento bacteriano</i>	30
4.3.2. <i>Aislamiento de bacterias aerobias</i>	30
4.3.3. <i>Aislamiento de bacterias anaerobias facultativas</i>	32
4.3.4. <i>Aislamiento de bacterias anaerobias</i>	33
4.3.5. <i>Categorización de bacterias</i>	33
4.3.6. <i>Condiciones de la flora bacteriana uterina en hembras no gestantes</i>	34
4.3.7. <i>Condiciones de la flora bacteriana vaginal en hembras no gestantes (VHNG)</i>	34
4.3.8. <i>Condiciones de la flora bacteriana vaginal en hembras gestantes (VHG)</i>	37
4.3.9. <i>Condiciones de la flora bacteriana de la mucosa prepucial</i>	40

4.4.	Resultados análisis estadísticos	42
4.4.1.	<i>Relación de la edad con la presencia de bacterias en la vagina con la fertilidad</i>	42
4.4.2.	<i>Relación de la edad con la presencia de bacterias en útero con la fertilidad</i>	43
4.4.3.	<i>Relación de la raza/tipo/ecotipo con la presencia de bacterias en vagina con la fertilidad</i>	44
4.4.4.	<i>Relación de la raza/tipo/ecotipo con la presencia de bacterias en útero con la fertilidad</i>	46
4.4.5.	<i>Relación de la preñez con la presencia de bacterias en vagina con la fertilidad</i>	47
4.4.6.	<i>Relación de la preñez con la presencia de bacterias en útero con la fertilidad</i>	49
4.5.	Discusión de resultados	50
4.5.1.	<i>Resultados de útero</i>	50
4.5.2.	<i>Resultados de vagina</i>	53
4.5.3.	<i>Resultados de mucosa prepucial</i>	55
4.5.4.	<i>Resultados estadísticos</i>	58
4.5.5.	<i>Antibiograma</i>	59
5.	CONCLUSIONES	62
6.	RECOMENDACIONES	63
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64

INDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1	Tiempo de gestación en camélidos sudamericanos (días)	10
Tabla 2	Métodos para la determinación de la especie de microorganismo	26
Tabla 3	Estratificación de la edad de 46 camélidos sudamericanos domésticos (CSD) hembras y machos (<i>Lama glama</i>) del CEAC 2013-2014.	29
Tabla 4	Especie de bacterias aerobias aisladas de vaginas, uteros y pene en camelidos sudamericanos domésticos (CSD), <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 - 2014.	31
Tabla 5	Aislamientos bacterianos agrupados de acuerdo a la tinción de Gram y lugar de la toma de la muestra en camélidos sudamericanos domésticos (CSD), <i>Lama glama</i> en el ceac 2013 – 2014.	31
Tabla 6	Especie de bacterias anaerobias facultativas aisladas de vagina, útero y pene en camélidos sudamericanos domésticos (CSD), <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	32
Tabla 7	Especie de bacterias anaerobias aisladas de vaginas, úteros y pene en camélidos sudamericanos domésticos (CSD), <i>Lama glama</i> en el	33

CEAC 2013 - 2014.

Tabla 8	Categorización de bacterias aerobias y anaerobias en base a su potencial de patogenicidad, aisladas de cultivos de hisopo uterinos de ganado	34
Tabla 9	Bacterias aisladas de útero en hembras no gestantes según su número de apariciones y ocurrencia en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	35
Tabla 10	Bacterias aisladas de vagina en hembras no gestantes (VHNG) según su número de apariciones y ocurrencia en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	36
Tabla 11	Bacterias aisladas de vagina en hembras gestantes (VHG) según su número de apariciones y ocurrencia en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014..	38
Tabla 12	Bacterias aisladas de mucosa prepucial según su número de apariciones y ocurrencia en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	41
Tabla 13	Relación edad y presencia de bacterias en vagina con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	43

Tabla 14	Relación edad y presencia de bacterias en útero con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	44
Tabla 15	Relación raza/tipo/ecotipo y presencia de bacterias en vagina con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	45
Tabla 16	Relación raza/tipo/ecotipo y presencia de bacterias en útero con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	46
Tabla 17	Relación preñez y presencia de bacterias en vagina con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	48
Tabla 18	Relación preñez y presencia de bacterias en útero con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	49
Tabla 19	Resistencia y sensibilidad de las bacterias presentes en vagina y útero a diferentes antimicrobianos.	60

INDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Ocurrencia de crecimiento bacteriano en muestras de vagina, útero y pene en camélidos sudamericanos domésticos (CSD), <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 - 2014.	30
Figura 2	Bacterias aisladas de útero según su número de ocurrencia en (%) de camélidos sudamericanos domésticos <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	35
Figura 3	Bacterias aisladas de vagina de hembras no gestantes (VHNG) según su número de ocurrencia en (%) de camélidos sudamericanos domésticos <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	37
Figura 4	Bacterias aisladas de vagina de hembras gestantes (VHG) según su número de ocurrencia en (%) de camélidos sudamericanos domésticos <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	39
Figura 5	Frecuencia en (%) de aparición de bacterias aisladas de muestras tomadas de vaginas de hembras gestantes (VHG) y de vagina de hembras no gestantes (VHNG) de camélidos sudamericanos domésticos <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 - 2014.	40
Figura 6	Bacterias aisladas de mucosa prepucial según su número de ocurrencia en (%) de camélidos sudamericanos domésticos <i>Lama glama</i> en el CEAC 2013 – 2014.	41

INDICE DE ABREVIATURAS

CSD:	Camélidos Sudamericanos Domésticos
CSA:	Camélidos Sudamericanos
AAA:	Australian Alpaca Association
ADN:	Ácido desoxirribonucleico
ARN:	Ácido ribonucleico
CEAC:	Centro Experimental Agropecuario Condoriri
cm:	Centímetro
EMB:	Eosin Methylene Blue Agar
Frec. ei.:	Frecuencia esperada
Frec. oi.:	Frecuencia observada
LIA:	Agar de hierro y lisina
LPS:	Lipopolisacárido
Mhz:	Megahercio
MH:	Müller Hinton
mm:	Milímetro
NCCLS:	National Commitee for Clinical Laboratory Standars
SIM:	Sulfuro indol motilidad
TSI:	Agar-hierro-triple azúcar

UMSA: Universidad Mayor de San Andrés

UTO: Universidad Técnica de Oruro

VHG: Vagina de hembras gestantes

VHNG: Vagina de hembras no gestantes

v/v: Porcentaje que representa el soluto en el volumen total de la disolución

XLD: Xilosa, Lisina, Desoxicolato

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó la presencia de la flora bacteriana en la vagina y útero y su relación de estas con la preñez en hembras de camélidos sudamericanos domésticos *Lama glama*.

Se utilizaron 46 animales pertenecientes al Centro Experimental Agropecuario Condoriri; 40 hembras y seis machos utilizados en el empadre, todas las hembras fueron empadradas. Al segundo mes se realizó la confirmación de gestación por medio de un ecógrafo, resultando que solo 27 aún continuaban con la gestación. La edad comprendida de todos los animales fue de cuatro y siete años. Para el estudio se extrajo muestras, donde: a las hembras gestantes solo se tomaron muestras de la mucosa vaginal, en cambio a las hembras *no* gestantes se extrajo muestras tanto de útero como de vagina, asimismo se tomo muestras de la mucosa del prepucio (machos).

Las muestras fueron analizadas en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Mayor de San Andrés. La cuales fueron cultivadas en agar chocolate, MacConkey y sangre. Se aisló 124 cultivos; (35 de útero, 32 a vagina de hembras *no* preñadas, 43 a vagina de hembras preñadas y 14 a mucosa prepucial), resultando que en función al potencial de patogenicidad, se dividen en tres categorías: (1) patógenos conocidos por causar lesiones endometriales; (2) patógenos uterinos reconocidos; y (3) bacterias no reconocidas como patógenos uterinos. En el trabajo se aisló bacterias de los tres grupos mencionados, dentro el primer grupo, se aisló a *Escherichia coli* (8,1%); en el segundo grupo, se encontró a *Staphylococcus aureus* (8,1%), *Acinetobacter spp* (2,4%) y una especie de *Haemophilus spp* (3,2%) y en el grupo de las bacterias no reconocidas como patógenas uterinas, se aislaron *Enterobacter aerogenes* (4,0%) y *Micrococcus spp* (6,5%).

De acuerdo al análisis estadístico por Chi cuadrado se demostró que no existe relación entre la edad y la presencia de bacterias, asimismo tampoco existe relación entre raza y presencia de bacterias tanto en vagina como en útero y por último se demostró que si existe relación entre

la presencia de bacterias en vagina y útero *con la fertilidad* de Camélidos Sudamericanos Domésticos. Habiendo obtenido estos resultados se llega a la conclusión que, la presencia de bacterias en útero, vagina y pene tienen efectos negativos sobre la fertilidad de hembras de camélidos sudamericanos domésticos (CSD).

Palabras clave: Camélidos sudamericanos domésticos, flora bacteriana, infertilidad, útero, vagina.

ABSTRACT

In the present study, the presence of bacterial flora in the vagina and uterus and its relationship with these pregnancy in female domestic camelids *Lama glama* was evaluated. We used 46 animals belonging to the Experimental Agricultural Center Condoriri; 40 females and six males used in the mating, all females were plated. At the second month, the confirmation of gestation was performed by means of an echograph, with the result that only 27 remained with gestation. The age of all animals was four and seven years old. For the study samples were taken, where: to the pregnant females only samples of the vaginal mucosa were taken, instead to the non-pregnant females both uterus and vagina samples were extracted, as well as samples from the mucosa of the prepuce (males).

The samples were analyzed in the laboratory of microbiology of the Faculty of Medicine of the Greater University of San Andrés. Which were cultured in chocolate agar, MacConkey and blood. 124 cultures were isolated; (35 of uterus, 32 to vagina of non-pregnant females, 43 to vagina of pregnant females, and 14 to preputial mucosa), resulting in the pathogenicity potential divided into three categories: (1) pathogens known to cause endometrial lesions; (2) recognized uterine pathogens; And (3) bacteria not recognized as uterine pathogens. In the work bacteria were isolated from the three groups mentioned, in the first group, *Escherichia coli* (8.1%) was isolated; In the second group, *Staphylococcus aureus* (8.1%), *Acinetobacter spp* (2.4%) and a species of *Haemophilus spp* (3.2%) were found and in the group of non-recognized uterine pathogens, *Enterobacter aerogenes* (4.0%) and *Micrococcus spp* (6.5%) were isolated.

According to the statistical analysis by Chi square was shown that there is no relationship between age and the presence of bacteria, nor is there any relationship between race and presence of bacteria in both the vagina and uterus, and finally it was shown that if there is a relation between Presence of bacteria in the vagina and uterus with the fertility of domestic South American Camelids. Having obtained these results we conclude that the presence of

bacteria in the uterus, vagina and penis have negative effects on the fertility of female South American camelids (CSD).

Keywords: bacterial flora, domestic camelids, infertility, uterus, vagina.

1. INTRODUCCIÓN

Los camélidos se originaron en América del Norte hace 9 a 11 millones de años atrás (Tribus Lamini y Camelini). Hace 3 millones de años, la Tribu Camelini inicia la migración hacia el Asia y Europa, a través del puente del Estrecho de Behring, dando origen a los camélidos del viejo mundo: el camello (*Camelus bactrianus*) y el dromedario (*Camelus dromedarius*). También emigraron, descendientes de la Tribu Lamini, hacia América del sur, originando al guanaco y a la vicuña (CSA silvestres) hace aproximadamente 2 millones de años. Posteriormente se extinguieron los camélidos en América del Norte. (Webb 1965,1974; López 1930; Cabrera 1932; citados por Egey, 2004).

Los CSA han ocupado un papel fundamental en el desarrollo de las sociedades andinas desde las antiguas comunidades de cazadores hasta las actuales comunidades campesinas (Mengoni, 2008; citado por Jiménez P. *et al.*, 2010). Antes de la colonización los camélidos domésticos estaban ampliamente distribuidos desde las altitudes de los Andes hasta el nivel del mar. Durante la colonización sufrieron el sacrificio incontrolado y fueron desplazados por los animales domésticos introducidos por los europeos. Este hecho permanece como un claro ejemplo de imperialismo ecológico (Crosby, 1986; citado por Jiménez, P. *et al.*, 2010). Como consecuencia, los CSA tanto domésticos como silvestres sufrieron una severa reducción en número y su distribución geográfica se vio drásticamente afectada, quedando reducida a las altitudes del altiplano andino (Wheeler *et al.*, 1995; citado por Jiménez, P. *et al.*, 2010).

Jiménez, P. y Evelyn, C. *et al.* 2010 mencionan a Fernández Baca 2005, que indica, los CSA tienen la ventaja de resistir ambientes adversos como el existente en el altiplano andino. Se estima que existen cerca de siete millones de CSA en los países andinos: Argentina, Bolivia, Chile, Colombia, Ecuador, Paraguay y Perú. De estos CSA, el 51% se encuentra en Perú y el 34% en Bolivia. La mayor población de llamas se encuentra en Bolivia y la de guanacos en Argentina. El interés en las llamas y alpacas ha aumentado en los últimos años en otros países incluyendo Estados Unidos, Canadá, Australia, Nueva Zelanda y algunos países europeos

como el Reino Unido, Alemania, Italia y Francia (Brown, 2000; citado por Jiménez, P. *et al.*, 2010).

Los camélidos sudamericanos domésticos, a veces en asociación con ovinos, constituyen el principal medio de utilización productiva de extensas áreas de pastos naturales en las zonas alto-andinas donde no es posible la agricultura y la crianza exitosa de otras especies de animales domésticos. 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 subproducto valioso que se usa como combustible para la cocción de los alimentos y fertilizante para los cultivos. La llama cumple además una importante función de transporte (Iñiguez y Alem, 1996; citados por Quispe E.; Rodríguez T. *et. al* 2009).

La crianza de llamas, como de cualquier otra especie, hay que considerar que la alimentación es solo una parte del sistema. En este sistema también hay que considerar la **salud**, (Cardozo, 2012)

Diversos trastornos uterinos se han descrito en camélidos y estos juegan un papel importante en reducir la fertilidad en estas especies. Al igual que en muchas especies de animales domésticos, las infecciones uterinas son las más comunes, pero a diferencia de otras especies, se sabe poco acerca de su patogenia y evolución en los camélidos, (Tibary y Anouassi, 2001).

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo General

Determinar la flora bacteriana presente en vagina y útero, y su relación con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (*Lama glama*) del Centro Experimental Agropecuario Condoriri.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar microbiológicamente la flora bacteriana de la vagina y útero de llamas en edad reproductiva.
- Relacionar los grupos microbianos de la flora bacteriana de vagina y útero con la fertilidad de las llamas.

2. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA

2.1. Generalidades de los camélidos sudamericanos domésticos (CSD)

Los camélidos sudamericanos representan una de las principales fuentes de recursos económicos para las poblaciones alto andinas de Perú, Bolivia, Chile, Argentina y Ecuador. Los camélidos sudamericanos están conformadas por cuatro especies, dos domésticas y dos no domesticas (vicuña y guanaco) y se encuentran distribuidas ampliamente a lo largo del territorio de estos países. La mayor población de camélidos domésticos (alpacas y llamas) se encuentra en Perú y Bolivia, con una mayor población de alpacas en Perú y una mayor población de llamas en Bolivia. En camélidos no domésticos, la mayor población de vicuñas se encuentra en Perú, mientras que los guanacos principalmente están distribuidos en territorio de Argentina y Chile, (Huanca, 2013).

La familia Camelidae se ubica taxonómicamente en el suborden Tylopoda del orden Artiodactyla, debido a la presencia de almohadillas plantares a diferencia de la tradicional suela córnea que conforma el casco en otros subórdenes. También difiere de otros rumiantes por no presentar cuernos o astas. Tanto los Camélidos del Viejo Mundo como los Sudamericanos presentan una alta eficiencia en los mecanismos economizadores de agua, (Bonacic, 2001).

Se pueden reconocer dos variedades fenotípicas, la mayoría son del tipo Q'ara o pelada, con poco desarrollo de fibra en el cuerpo y ausencia de fibras en la cara y piernas. El otro tipo, "Thampulli" o lanuda, tiene mayor cantidad de fibras en el cuerpo, que se extienden al frente de la cabeza y sale de las orejas, pero no cubre la piernas. Hace tiempo, propuso otra clasificación basado en las que tienden a la braquiomorfía con vellón abundante, y las que tienden más a la dolicomorfía que tienden a ser más longilíneas o alargadas. A pesar de estas categorizaciones, los pastores indígenas distinguen a sus animales entre los que producen fibra de buena calidad y aquellos de fibra de inferior calidad, por lo que no se puede hablar de razas andinas en llamas; si bien la mayoría es del tipo Q'ara, su tradicional importancia económica fue como animal de carga y no como productor de fibras (Wheeler, 1991 y Cardozo, 1954; citados por De Lamo, D. 2011).

2.1.1. Biología

Los glóbulos rojos de los camélidos sudamericanos tienen forma elíptica. La médula ósea es hiperplásica, con gran actividad eritropoyética que tiene relación con el tiempo de vida más corto de los glóbulos rojos y el ritmo de renovación del hierro para la síntesis de hemoglobina es más rápido, (Monroy, 2011).

Bonacic, (2001), indica que estos animales se caracterizan por tener el tercer y cuarto dedo de sus extremidades, robustos y de igual desarrollo. Los dedos están provistos de uñas muy desarrolladas que forman la pezuña (ungulados) provistas de almohadillas y callosidades plantares sobre las que se apoyan durante la marcha, con paso de ambladura. Tienen un estómago con tres compartimientos, presencia de verdaderos caninos separados de los molares por diastema y por la anatomía de las patas traseras que les permite descansar sobre el vientre, con las rodillas dobladas y garrones hacia atrás. Poseen un cuello largo con vértebras cervicales muy desarrolladas y el labio superior es hendido (leporino). Difieren del resto de los mamíferos en que sus glóbulos rojos son elípticos y con mayor afinidad por el oxígeno.

Los camélidos son gregarios, con familias formadas por un macho y varias hembras. Defecan en estercoleros marcando así su territorio. Tienen la facilidad anatómica de poder escupir parte del contenido de su estómago en forma defensiva. Son animales diurnos. El período de gestación es de 10 a 14 meses. Tienen generalmente una sola cría. Las cuatro especies de camélidos sudamericanos tienen el mismo cariotipo ($2n=74$), pudiendo cruzarse entre ellas y producir crías fértiles, (Bonacic, 2001).

Algunas de las particularidades anatómicas y fisiológicas que presentan los CSA probablemente estén relacionadas con su adaptación a las condiciones de escasez de oxígeno y de forrajes en las grandes alturas en las que habitan. En algunos mamíferos, incluidos la especie humana, la hipoxia debida a la baja presión de las elevadas altitudes induce un grado moderado de hipertensión arterial pulmonar, pero esto no ocurre en los CSA, (Williams, 1994; citado por Jiménez, P. 2010).

2.2. Características reproductivas de los camélidos sudamericanos domésticos (CSD)

2.2.1. Características anatómicas

La anatomía macroscópica del aparato reproductor femenino de la llama presenta mayor similitud morfológica con la especie bovina y la alpaca, (León, *et. al.* 2011)

2.2.1.1. Vagina

La vagina sirve como vía de paso para el feto, hacia fuera en el parto y hacia adentro para el pene en la copula. Además, los límites exteriores de la vagina marcan la confluencia del tracto urinario con el tracto reproductor. La vagina en la llama mide 16.4 cm variando de 12 a 20 cm de largo, con ancho promedio de 3.1 cm variando de 2 a 4.2 cm, (Chiri, 2009).

La vagina tiene una longitud aproximada de 13 cm y un ancho de 3.4 cm. presenta algunos pliegues radiales alrededor del cervix y éstos se continúan longitudinalmente. La vulva tiene

alrededor de 3-4 cm, la parte terminal de la vulva es corta y el clítoris está muy poco desarrollado, (Frank, 1997).

La vagina de la llama tiene una longitud de 15 a 25 cm y 5 cm de diámetro y 13-15 cm x 3,5-5 cm en la alpaca. La vulva es pequeña y corta con una abertura vulvar de 2,5 a 3 cm (Fowler, 1989; Novoa, 199; Sumar, 1983 citados por Aller, 2009).

El cérvix es la puerta del útero, una barrera fisiológica que separa el medio externo del medio interno del animal. El cérvix es un órgano tipo esfínter de pared gruesa. Posee una pared muscular gruesa capaz de contraerse para cerrar el paso o de relajarse para permitir la entrada del pene durante el empadre o del feto durante el parto. El cérvix en la llama en promedio tiene un largo de 3.5 cm y ancho de 3.2 cm, el número de anillos cervicales varía de 2 a 5 con un promedio de 3 anillos (Chiri, 2009).

2.2.1.2. Útero

El útero de los CS tiene dos cuernos separados por un septum y presenta una forma parecida a la letra “Y”. Los cuernos uterinos están suspendidos por el ligamento ancho y en las hembras multíparas el cuerno izquierdo es generalmente más largo ($7,9 \pm 1,3$ cm) que el cuerno derecho ($7,4 \pm 0,9$ cm), (Fowler, 1989; Novoa, 1999; Sumar, 1983 citados por Aller, 2009).

El útero en la llama es bifurcado con dos cuernos uterinos separados y un cuerpo, externamente desde el punto de bifurcación hasta la unión útero-tubárica, el cuerno uterino derecho mide 9.7 cm mientras que el cuerno izquierdo es ligeramente más grande midiendo 10.5 cm, el ancho mayor del cuerno uterino derecho es 2.9 cm y el ancho mayor para el cuerno uterino izquierdo es 3.5 cm, presentando un cuerpo del útero de 4.4 cm de largo (Chiri, 2009).

El útero de la alpaca es bicorne, con forma de Y, presentando dos cuernos uterinos y un cuerpo muy corto. Los oviductos son grandes y están arrollados; terminan en una bolsa que circunda por completo el ovario. Las puntas de los cuernos uterinos en las alpacas y en las

llamas son romas y redondeadas, y el oviducto se abre en el cuerno uterino mediante una pequeña papila elevada que actúa como un esfínter bien definido. Incluso bajo presión, no es posible que salgan líquidos del útero hacia el oviducto, aunque el flujo del oviducto al útero es posible, (Sato y Ortega, 1990).

2.2.1.3. Oviductos

El oviducto es largo ($20,4 \pm 4,2$ cm), tortuoso, fino y bastante firme y puede ser fácilmente palpable entre el cuerno uterino y el ovario dentro de la bolsa ovárica, (Fowler, 1989; Novoa, 199; Sumar, 1983 citados por Aller, 2009).

En la llama, el oviducto desde la unión útero-tubárica o sea el istmo y la ampulla hasta el inicio de la prolongación del infundíbulo mide 18.9 cm en promedio; el infundíbulo tiene forma de embudo. Cerca al ovario se encuentra la abertura mayor midiendo en promedio 5.8 cm y un largo de 7.5 cm. Incluido el infundíbulo. El oviducto mide 26.4 cm, el diámetro del oviducto varía de 2 a 3 mm con un promedio de 2.1 mm (Chiri, 2009). En alpacas mide 20.4 ± 4.2 cm de longitud con un diámetro de 2 a 3 mm.

2.2.1.4. Ovarios

Los ovarios son de forma irregular (elipsoide y globular), particularmente cuando se presentan múltiples folículos ($1,3-2,5 \times 1,4-2,5 \times 0,5-1,0$ cm). Los ovarios generalmente presentan pequeños folículos que no pueden ser detectados por palpación (1 a 3 mm). El peso del ovario izquierdo es de $2,4 \pm 1,3$ g y del ovario derecho es de $1,9 \pm 1,0$ g. (Fowler, 1989; Novoa, 199; Sumar, 1983 citados por Aller, 2009).

Los ovarios de los camélidos tienen la forma ovalada, en llamas adultas gestantes con presencia del cuerpo lúteo mide 13 a 16 mm de diámetro y pesa aproximadamente de 1.2 a 1.7 g, ambos ovarios son similares en cuanto a peso y diámetro. El cuerpo lúteo mide como

promedio 13 mm de diámetro determinándose diámetros máximos de cuerpo lúteo de 16 mm (Chiri, 2009).

Los ovarios tienen una forma globular irregular, similar a los de la cerda, en particular cuando tienen folículos múltiples. El tamaño y la forma de los ovarios varían con la edad y con su contenido en folículos y cuerpos lúteos. En la alpaca, los folículos entre 5-12 mm se consideran normales, (Sato y Ortega, 1990).

2.2.2. Características fisiológicas

Los CSA tienen características reproductivas particulares que en algunos casos influyen en su bajo rendimiento reproductivo, como son un relativamente largo periodo de gestación en comparación con otras especies productivas y la producción generalmente de una única cría (Brown et al., 2000).

Las hembras de los camélidos no tienen un ciclo estral definido y se muestran receptivas al macho de forma continua a no ser que estén preñadas o hayan parido recientemente. La copulación en las llamas y alpacas dura entre 30 y 50 minutos y la eyaculación es intrauterina (Bravo et al., 2000).

2.2.2.1. Pubertad

La pubertad en los CSA se presenta en forma diferenciada por su sexo y edad. En general las hembras son más precoces, comenzando su actividad reproductiva alrededor de un año de edad mientras los machos lo hacen cercano a los dos años de edad. En la alpaca, la hembra comienza a mostrar receptividad sexual hacia el año de edad, este evento está relacionado con la presencia de folículos ováricos de un diámetro a los 5 mm (Sumar y García, 1986 citados por Bonacic, 2001).

En los machos alpaca la presencia de deseo sexual y aptitud para la monta de hembras receptoras se evidencia al año de edad, reportándose una edad promedio de 10,3 meses. Sin embargo, en la totalidad de los machos camélidos existe la presencia de adherencias pene-prepuciales (fenómeno normal en el macho inmaduro) que impiden una cópula eficiente. Sumar y García citados por Bonacic, S. 2001, señala que apenas el 8 % de los machos alpaca de un año de edad se han liberado de estas adherencias, a los dos años el porcentaje alcanza al 70 %, llegando al 100 % a los 3 años. Al alcanzar el macho un 70 % del peso adulto se produciría un incremento en los niveles de testosterona y se liberarían las adherencias pene-prepuciales (14 meses de edad en promedio).

Se considera que una hembra de camélido ha alcanzado la pubertad cuando ha alcanzado su madurez sexual, expresada en la capacidad de liberar óvulos viables, fértiles y mantener la gestación hasta el parto, (Chiri, 1997).

La pubertad en camélidos hembra es difícil de determinar a simple vista porque no muestran signos externos que señalen que una hembra alcanzó la pubertad. A nivel de campo se acostumbra realizar el primer empadre a la edad de dos años, considerándose a los dos años a la hembra lista para la reproducción, (Chiri 1997).

El comienzo de la pubertad en los CS es alrededor de 12-13 meses de edad, mientras en el macho pareciera estar determinada alrededor de los 2 años de edad. La presentación de la pubertad está afectada principalmente por el estado nutricional, alcanzándola con un 60 % del peso adulto. Generalmente en la Puna, la práctica es aparear llamas y alpacas a los dos años de edad para reducir las distocias, (Sumar, 1985; Smith et al., 1994; citados por Aller, 2009)

En un estudio en llamas llevado a cabo en ancutas después del destete con montas mensuales y evaluado por niveles de progesterona a 8 días post-empadre, se pudo constatar que el 70 % de ancutas llegaron a la pubertad a la edad de 12 meses con 56.5 kg de peso vivo. Consecuentemente, se recomienda realizar el primer servicio a la edad de un año a todos los ancutas con pesos mayores al promedio y a los dos años a aquellos con pesos menores al

promedio. Las ancutas empadradas a la edad de un año presentaron 70 % de natalidad, tasa muy similar a la de hembras adultas (81 %), (Chiri, 1997).

2.2.2.2. Gestación

Los camélidos tienen un tiempo de gestación largo en comparación con otras especies animales. Este período varía dentro la misma raza y especie. Por ejemplo en llamas Q'ara la gestación más larga es de 361 días y la más corta de 338 días, mientras que en llamas T'amphulli varía entre 346 y 360 días (Tabla 1). Esta variación está afectada principalmente por la edad de la madre, (Chiri, 1997).

Tabla 1. **Tiempo de gestación en camélidos sudamericanos (días)**

Especie y raza	Días
Vicuña	343 ± 7.0
Alpaca Huacaya	342 ± 0.4
Alpaca Suri	345 ± 0.1
Guanaco	345 ± 7.0
Llama Q'ara	352 ± 6.5
Llama T'amphulli	355 ± 5.0

Fuente: Franklin 1978, Calderón y Fernández Baca 1972; Chiri 1994

Los camélidos son uníparos, gestan y paren una sola cría. Excepcionalmente en llamas se presentan gestaciones gemelares a razón de 2 en 1000.

El período de gestación en los CS es aproximadamente de 11,5 meses para todas las especies. La longitud de la gestación en alpacas de raza Huacaya y Suri ha sido estimada en 341 y 345 días respectivamente. En la llama, la longitud de la gestación es aproximadamente de 335 a 365 días, 331 a 347 días 310 a 350 días o 346 a 367 días siendo los extremos 327 y 386 días. Algunos estudios demostraron que la gestación en alpacas fue 10 a 12,5 días más larga en

apareamientos producidos en primavera que en otoño (Knight et al., 1995; Davis et al., 1997; Escobar, 1984; Johnson, 1988; citados por Aller, 2009)

La duración de la gestación en llamas y alpacas varía entre 342 a 350 días. El nacimiento de crías gemelares después de una gestación a término es muy raro en CSA, pues a pesar de que se producen ovulaciones dobles y gestaciones gemelares, uno de los embriones es reabsorbido en fases tempranas de la gestación por mecanismos aún desconocidos, (San Martín et al., 1968; León et al., 1990 citados por Jiménez, 2010).

La ultrasonografía transrectal como método para el diagnóstico de gestación es la más eficiente, tanto en gestaciones tempranas como tardías, (Raggi, 1996).

2.3. Problemas con el sistema reproductor de la hembra

2.3.1. Perdidas reproductivas

Las hembras de camélidos, alpacas y llamas presentan un alto porcentaje de pérdidas reproductivas debido a la mortalidad embrionaria temprana y tardía. Los factores atribuibles son el tamaño del folículo (atrésicos), migración uterina, aberraciones cromosómicas, estado nutricional de la hembra, infecciones en el útero y otros. Éstas pérdidas alcanzan hasta el 50 % hasta los 30 días de gestación en alpacas (Fernández B. S., 1993), mientras tanto en llamas las pérdidas alcanzan el 54 % hasta el día 45 después del empadre., A partir de los 45 días las pérdidas reproductivas o mortalidad fetal no son significativas (Chiri, 1994).

El porcentaje de pérdida embrionaria, 20 % para las alpacas y 15 % para las llamas, es alto hecho que podría deberse a factores nutricionales, ambientales y genéticos, (Raggi, 1996).

2.3.2. Infertilidad

Diagnosticar con precisión la causa de la infertilidad requiere una evaluación completa que debe incluir la historia del animal, el examen físico así como una evaluación completa de los órganos reproductivos, (Vaughan y Tibary, 2005).

El diagnóstico y tratamiento de enfermedades reproductivas en camélidos está convirtiéndose en una parte importante de la atención veterinaria en la cría de camélidos, especialmente cuando se trata de animales genéticamente superiores (Tibary y Anouassi, 2000).

Estos autores reportan que según los productores, las enfermedades reproductivas y problemas de infertilidad en la hembra pueden agruparse en cuatro categorías:

1. La hembra no puede quedar preñada (se debe repetir el empadre);
2. No se mantiene la preñez después de la concepción (muerte embrionaria temprana, pérdida fetal o aborto);
3. Repetición del empadre debido a que el macho no cumple en la monta por problemas físicos o de comportamiento (dificultades de comportamiento, negativa del macho);
4. Anormalidades observadas en los genitales (conformación anormal o lesiones de la vulva y perineo, secreción vaginal anormal, etc.)

Por otro lado, los problemas reproductivos se encuentran en el 9.3 % y 11.2 % de los casos de problemas sanitarios en camélidos sudamericanos, según reportes de veterinarios y productores, respectivamente (Mitro, 2003).

El coito también puede inducir a lesiones traumáticas especialmente si la hembra es todavía joven. Las lesiones traumáticas de la vagina pueden conducir a la formación de adherencias completas entre la pared vaginal y por ende al desarrollo de piometra (es una enfermedad

infecciosa producida por bacterias y se caracteriza por la presencia de pus dentro de la cavidad del útero), Tibary y Anouassi, 2000.

2.4. Flora bacteriana del sistema reproductivo

La interpretación de los resultados microbiológicos de hisopados de útero es muy difícil, dada la amplia gama de bacterias que se puede aislar. Algunos de estos organismos son parte de la flora vaginal normal, mientras que otros son patógenos oportunistas y puede llegar a desarrollar si se tienen condiciones apropiadas, las bacterias responsables de endometritis en el camello son esencialmente similares a los encontrados en el ganado vacuno y caballos. Las especies bacterianas más comunes aisladas del útero de camélidos con endometritis son *Escherichia coli*, *Streptococcus zooepidemicus* β -hemolítico, *Enterococcus aureus* coagulasa negativo, *Proteus* spp., *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *S. pyogenes* y *Arcanobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter* y *Trichomonas*. Estas especies se han aislado a partir de camellos infértiles y pueden estar asociadas con transmisiones venéreas y deben ser consideradas como posibles causas de los brotes de infertilidad o aborto. *Aspergillus* spp. y *Mucor* sp. se han aislado de hembras de dromedarios con endometritis. La confirmación de la infección uterina también se debe hacer sobre la base de la citología y la biopsia uterina debido a que algunas infecciones uterinas crónicas pueden no resultar en un cultivo positivo, (Tibary, Fite *et al.*, 2006).

La vagina de varias especies de mamíferos, entre ellas, la vaca (*Bos taurus-indicus*), la oveja (*Ovis aries*), la cabra (*Capra hircus*), la perra (*Canis familiaris*) y la mujer (*Homo sapiens*), presentan una flora microbiana mixta, compuesta por microorganismos anaerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos (Boscán *et al.*, 2010).

Esta mezcla de microorganismos incluye a los saprofitos, patógenos potenciales y oportunistas. Estos microorganismos están adaptados al modo de vida no invasivo, determinados por las limitaciones del ambiente, es decir, pueden proliferar y producir enfermedades si son introducidos en localizaciones extrañas. Bajo condiciones naturales, el

ambiente de la vagina del animal, no permite la proliferación excesiva de microorganismos patógenos o saprofitos potencialmente patógenos, debido a que este ambiente sufre variaciones en cuanto a temperatura, humedad, pH, presencia de nutrientes, sustancias inhibitorias, entre otras, (Boscán *et al.*, 2010).

La microbiología normal de la vagina está compuesta en su mayoría por bacterias y en una menor proporción por hongos. Así, las bacterias más comunes son las aerobias, entre ellas, las del grupo de los *Staphylococcus*, *Streptococcus* y Coliformes. Asimismo, las anaerobias juegan un papel interesante en la microflora vaginal de la vaca. Entre las más señaladas se encuentran, las del género *Lactobacillus*, *Fusobacterium* y *Peptostreptococcus*. En un menor grado, se han aislado hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium*. Otro microorganismo de carácter facultativo en cuanto a exigencias de oxígeno para su crecimiento es el *Arcanobacterium pyogenes*, reportado por varios autores, (Boscán *et al.*, 2010).

2.5. Infecciones del sistema reproductivo en general

Muchos estudios indican que el diagnóstico y tratamiento de la endometritis en hembras de camélidos se trabaja de forma muy parecida a la descrita para vacas y yeguas (Cebra, *et. al.*, 2014)

Las infecciones uterinas representan un porcentaje significativo de la infertilidad de las especies de animales domésticas, incluyendo caballos, vacas, ovejas y cabras. Varios de los veterinarios con estudios y prácticas en la cría de alpacas y llamas han señalado que esto también se aplica a los camélidos sudamericanos (Purdy, 2002).

Mesa Cruz, JB. (2010), indica que la infección uterina es la mayor causa de infertilidad adquirida en camélidos. Las bacterias que más comúnmente se aíslan del útero en camélidos con endometritis son: *Escherichia coli*, *Streptococcus zooepidemicus*, Estreptococo β -hemolítico, Enterococos, Estafilococos coagulasa negativos, *Proteus spp.*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, y *Arcanobacter pyogenes*.

2.6. Diagnóstico microbiológico de las enfermedades infecciosas

Según Gobernado *et. al.*, (2003), la identificación de una bacteria sospechosa de ser la causa de una infección es uno de los instrumentos principales del diagnóstico de enfermedades infecciosas, ya que el conocimiento de ésta nos lleva a saber con lo que se enfrenta el paciente, y saber de qué armas se dispone para ayudar a combatir la enfermedad. Diferenciar si estamos ante un microorganismo patógeno, uno potencialmente patógeno o un contaminante y deducir los posibles mecanismos de resistencia del microorganismo, conduce a tratar la enfermedad infecciosa con la mayor eficiencia posible, con antimicrobianos u otras terapias antiinfecciosas, y todo procurando el menor coste posible.

2.7. Infecciones vaginales y uterinas

Por ser el útero el órgano donde se facilita la gestación, ha existido gran interés en conocer qué tipo de microorganismos pueden ejercer alteraciones en la homeostasis uterina. Es así como surge la necesidad de identificar estos microorganismos y dar respuestas clínicas y terapéuticas en el momento que un animal presente un proceso infeccioso que repercuta en su producción y reproducción, (Boscán *et al.*, 2010).

Según Tibary y Anouassi, (2000), los factores más importantes que contribuyen a las infecciones uterinas en los camélidos son los apareamientos excesivos durante el período de empadre, complicaciones posparto y el examen ginecológico y la manipulación antihigiénica. Durante el apareamiento, el pene penetra en el canal cervical y en algunos casos entra profundamente en la cavidad uterina con la consecuente excesiva introducción de microbios, haciendo que el útero disminuya su capacidad para combatir las infecciones.

Los mismos autores mencionan, muchos productores no están familiarizados con la fisiología reproductiva de los camélidos y se basan exclusivamente en las hembras “receptivas” (comportamiento en el empadre). Sin embargo, estudios han demostrado que la receptividad no necesariamente se correlaciona con la actividad ovárica, y este método da lugar a múltiples

cruces que tienen pocas posibilidades de éxito y en su lugar puede causar daños en el endometrio y cuello del útero.

Las infecciones del tracto reproductor de la hembra, en especial y la contaminación del útero con microorganismos patógenos o potencialmente patógenos, poseen una gran importancia. El grado de contaminación uterina está estrechamente relacionado con el ambiente microbiano del lugar y se favorece cuando concurren ciertos factores predisponentes. Las infecciones del útero pueden clasificarse en tres diferentes síndromes clínicos: endometritis, metritis y piometra. (Fernández, A. *et al.*, 2006).

Los camélidos no muestran signos de enfermedad cuando el útero está infectado siempre y cuando no se rompa y cause peritonitis siendo esto último muy poco común. Lo más común es parecer que no presentara ningún problema, incluso si hay una gran acumulación de pus en el útero. (Purdy, 2002).

2.8. Clasificación de la microbiota

La piel y las mucosas hospedan siempre a una variedad de microorganismos (Fernández, A. *et al.*, 2006), los cuales pueden clasificarse en dos grupos:

a. Microbiota residente

La microbiota residente está compuesta de tipos relativamente fijos de microorganismos, los cuales se encuentran consistentemente en un sitio dado a una edad dada; si se trastorna, se restablece espontáneamente con rapidez.

b. Microbiota transitoria

La microbiota transitoria está formada por miembros no patógenos o sólo potencialmente patógenos, hospedados en la piel o las mucosas durante horas, días o semanas; provienen del ambiente, no producen enfermedades y no se establecen por sí mismos permanentemente en la superficie.

2.9. Generalidades de las cepas bacterianas

Identificar el agente etiológico responsable del proceso infeccioso y aplicar una terapia antimicrobiana eficaz, es un pilar fundamental en la práctica de la microbiología clínica lo constituye la asignación de especie a un aislamiento microbiano, (Cercenado, E. 2010)

2.9.1. Bacterias Gram positivas

Poseen varias características que ayudan a diferenciarlas de los microorganismos Gram negativos, debido a los elevados contenidos de glucoácido teicoico, algunos aminoácidos que incluyen L-alanina, D-alanina, D-glutámico, lisina y bajos contenidos lipídicos de sus paredes celulares, siendo el peptidoglucano el 90% de la pared. En bacterias Gram positivas habitualmente se establece el enlace de varios aminoácidos cuyo número y tipo depende de la bacteria. El *Staphylococcus aureus*, que es la bacteria Gram positiva que mejor se conoce, el puente está formado por cinco glicinas conectadas por enlaces peptídicos (Brock, 2000).

Usualmente las bacterias Gram positivas retienen el colorante cristal violeta de la tinción de Gram (realizada por el médico danés Hans Christian Gram), debido a que los alcoholes y otros solventes orgánicos no penetran en las paredes celulares deficientes en lípidos; siendo más resistentes a efectos de desecación, calor, luz solar y sustancias químicas. (Mattar y Melo, 1998; citado por Méndez, 2008).

Muchos miembros de los géneros *Bacillus* y *Clostridium* entre otros tienen la propiedad de formar un cuerpo refringente intracelular llamado endospora: Este sirve de protección a la desecación y condiciones ambientales adversas, impenetrabilidad a las sustancias químicas, resistencia al calor, sobrevivencia y diseminación de la especie.

La endospora contiene grandes cantidades de dipicolinato cálcico, una sustancia que no se encuentra en las células vegetativas, la cual desempeña un papel importante en la resistencia al calor de la endospora, también contiene aproximadamente cinco veces más aminoácidos (cisteína) por miligramo de nitrógeno total, y el alto contenido de grupos de disulfuro es el que le da resistencia a la radiación ultravioleta, (Moat y Foster, 1988; citado por Méndez, 2008)

2.9.2. Bacterias Gram negativas

La pared celular de esta clase de bacterias es compleja desde el punto de vista químico, estructuralmente posee una membrana citoplasmática fosfolípida, rodeada por una capa de peptidoglucano que constituye solo el 10% de la pared que delimita el espacio periplasmático, así como una pared externa que contiene elementos intercalados como lipopolisacáridos (LPS), moléculas construidas sobre la región central y una cadena lateral, (Brock, 2000; citado por Méndez, 2008)

Una propiedad biológica importante de la membrana externa de muchas bacterias Gram negativas es que resulta habitualmente tóxica para los animales. Bacterias Gram negativas patógenas para el hombre y otros animales incluyen miembros de los géneros *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia coli* entre otros (Brock, 2000; citado por Méndez, 2008).

La propiedad tóxica de la membrana externa de estas bacterias es responsable de algunos síntomas de infección a los que dan lugar. Estas propiedades tóxicas se asocian a una parte de la capa de lipopolisacárido, más concretamente al lípido A. El uso del término endotoxina hace alusión precisamente a este compuesto tóxico del LPS. Es interesante destacar no obstante que también el LPS de algunas bacterias no patógenas presenta actividad de

endotoxina, por esto no se requiere que el organismo sea patógeno para que su pared celular contenga elementos tóxicos, (Brock, 2000; citado por Méndez, 2008).

Estos microorganismos poseen un espacio periplasmático entre la membrana citoplasmática y la membrana externa, el cual ha demostrado contener proteínas, enzimas hidrolíticas como fosfatasas, DNAsa I, RNAsa I y penicilasas controladas por plásmidos, (Brock, 2000; citado por Méndez, 2008).

2.10. Aislamiento de bacterias presentes en muestras

El objetivo clásico del aislamiento es la separación de los microorganismos en grupos, que puedan identificarse siguiendo los principios de la microbiología (Altamiranda, *et al.*, 2010).

En la naturaleza, los microorganismos generalmente se encuentran en poblaciones, formando parte de comunidades de gran complejidad, por lo que uno de los objetivos de estudio más importantes en microbiología es aislarlos. El aislamiento de bacterias a partir de muestras naturales se realiza, en la mayoría de los casos, mediante la técnica de estría cruzada para producir colonias aisladas en cultivos sólidos y así, obtener un cultivo puro o axénico, también conocido como cepa, que contiene un solo tipo de microorganismo con la misma composición genética, (Aquiuhualt, *et al.*, 2012)

2.11. Identificación de bacterias presentes en muestras

Se entiende por identificación microbiana al conjunto de técnicas y procedimientos que se aplican para establecer la identidad de un microorganismo. Estas técnicas se utilizan en diferentes áreas, (Prescott, 1999).

Vizcarrondo, *et al.* 2008, indica que, la clasificación de los métodos de identificación microbiana los podemos clasificar en:

1. Métodos basados en criterios morfológicos.
2. Métodos basados en tinción diferencial.
3. Métodos basados en pruebas bioquímicas.
4. Métodos basados en tipificación con fagos.
5. Métodos basados en pruebas serológicas.
6. Métodos basados en detección molecular.

García, *et al.* 2010, mencionan que, existe una amplia variedad de métodos que se utilizan con el propósito de identificar los componentes bacterianos de una muestra. Las metodologías a utilizar en cada caso pueden ser de aplicación general o bien se han desarrollado para resolver la detección de ciertos grupos bacterianos o de ciertas características del grupo en particular.

Las mismas autoras reportan e indican que, en la mayoría de los casos, se considera que la identificación a nivel de especie informa sobre la variedad de taxones existentes; siendo este nivel el que permite dar un diagnóstico de certeza cuando se trata de muestras de origen clínico.

2.12. Técnicas de muestreo

2.12.1. Vagina

El examen de la cavidad vaginal y el cuello uterino es un paso importante en el diagnóstico de la infección uterina. En el dromedario, el camello bactriano, el bovino, equino y la llama se utiliza un vaginoscopio, en este último caso (para la llama) un animal pequeño, se puede usar vaginoscopio de ovinos de (3 cm), el mismo procedimiento en alpacas. La Vaginoscopia debe hacerse cuidadosamente en todos los casos que presentan una secreción con sangre o que tienen adherencias vaginales sospechosas. En la cavidad vaginal se debe evaluar la presencia de inflamación o lesiones traumáticas, pequeñas cantidades de moco espeso pueden estar presentes en la vagina anterior, aunque no todas las secreción de la mucosa deben ser considerados como un signo de la endometritis, (Tibary, 2001).

2.12.2. Útero

Para el caso del útero se utilizan principalmente dos métodos para la colección de muestras: variaciones de la técnica con tórula de algodón, y lavado uterino con un volumen bajo de solución (Dascanio y col, 1997).

Tibary, (2001), menciona, las muestras de citología se toman del útero utilizando un hisopo de doble vaina. Esta técnica se realiza por el método recto vaginal utilizado en vacas, procedimiento usado en camélidos grandes (dromedario, bactriano y llama), en cambio en alpacas, la introducción de la tórula hacia el cuello del útero se realiza con la ayuda de un vaginoscopio.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización del experimento

La investigación se dividió en dos etapas siendo como sigue:

3.1.1. Toma de muestras

La toma de muestras se realizó en el Centro Experimental Agropecuario Condoriri (CEAC) perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidad Técnica de Oruro (UTO). El CEAC está ubicado a 49 km, de la ciudad de Oruro y a 12 km, al noreste de la localidad de Caracollo. Se encuentra a una altura de 3.830 m.s.n.m., a 17° 31' 41'' de altitud sur y 67° 14' 02'' de longitud oeste.

3.1.2. Laboratorio

La etapa de laboratorio se realizó en la Facultad de Medicina de la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA) ubicado en la avenida Saavedra N° 2246 de la zona de Miraflores de la ciudad de La Paz, el laboratorio de Microbiología se encuentra en el sexto piso del edificio de la mencionada facultad.

3.1.2.1 Material clínico y de laboratorio

- Material ultrasonográfico: para el control y diagnóstico de gestación, se utilizó un ecógrafo CHISON 600VET, provisto de un transductor mecánico sectorial endorectal de Doble Frecuencia 3.5/5.0 Mhz, además de gel de contacto ultrasonográfico.
- Material para extracción de las muestras: hisopos vaginales estériles con medio de transporte Stuart, tómulas de muestreo bacteriológico estériles con doble vaina y medio de transporte AMIES, guantes de palpación rectal, vaselina líquida, povidona yodada, alcohol hidrófilo, alcohol 95°.
- Material de microscopía: para la observación de los frotis obtendidos con microscopio Olympus modelo CX21, portaobjetos y cubreobjetos.
- Cristalería y otro material de laboratorio: cajas petri, ansa bacteriológica, mecheros, estufa de incubación, autoclave, porta objetos y otros.
- Medios de cultivo: Agar sangre, agar chocolate (variante de agar sangre) y agar Mackonkey, agar EMB, agar sal manitol, Rojo de metilo-Voges Proskawer, TSI, LIA, Citrato (Simmons), Agar SIM, Ureasa, Nitritos, Medios con azúcares.
- Tinciones: Tinción de Gram

3.1.3. Material semoviente

Se utilizaron 40 llamas hembras (20 Q'aras y 20 Thampullis) y 6 machos (3 Q'aras y 3 Thampullis), esta selección se realizó de acuerdo a las siguientes especificaciones:

1. Edad comprendida entre los 3 a 7 años de edad con antecedentes de problemas reproductivos según registros. Se utilizaron animales control con la misma edad y con un historial de preñez y partos exitosos.
2. Condición corporal de mínimo 2,75 en una escala del 1 al 5, para garantizar un óptimo estado nutricional, (Prepared by AAA Inc. Education & Training Sub-committee, 2008), donde 1 corresponde a emaciado y 5 a obeso.
3. Sin alteraciones anatómicas del aparato reproductor de acuerdo a un examen clínico general y específico de la vulva y vagina antes de ingresar al experimento.
4. Todos los animales se manejaron bajo las mismas condiciones de la terna.

3.2. Métodos

3.2.1. Unidades experimentales

Cumplida con la selección de los animales se procedió a realizar la monta a las 40 hembras, esto por el método de empadre natural controlado que consistió en colocar a las hembras en corrales individuales, luego de lo cual se colocó el macho elegido para dicha hembra y se controló el tiempo de empadre, (Pacheco, *et. al.*, 2013). Este proceso tuvo su repetición a los 15 días, hembras que rechazaron al macho se juzgaron preñadas. Es importante mencionar, como se trabajó con monta natural controlada las hembras del tipo Q'ara se empadro con machos del mismo tipo procediendo de la misma manera con los animales Thampulli.

Al segundo mes post cópula se realizó la comprobación de gestación mediante el método de tacto rectal con la ayuda del equipo de ultrasonografía, (Lacolla, *et. al.*, 2000).

3.2.2. Toma de muestras

Para la toma de muestras se utilizo el protocolo descrito por Cayul, 2003, haciendo algunas modificaciones para el presente trabajo, como se muestra a continuación:

1. Los animales de los cuales se recolectaron las muestras no recibieron ningún tratamiento con antibiótico, local o parenteral durante los 30 días antes de la toma de las muestras.
 2. Se envolvió la cola del animal con una venda, se limpió la zona vulvar y perivulvar con jabón neutro y solución iodada.
 3. Se tomó muestras de:
 - Útero y vagina a los animales no gestantes siendo estos en número de 13.
 - Sólo vagina a animales gestantes en número de 27.
 - Y muestras de la mucosa del prepucio en número de 6.
- Se separaron los labios de la vulva con una mano y con la otra se introdujo profundamente una tórula estéril (con vaina externa) con la ayuda de un vaginoscopio (ovinos), ya en el útero, se hizo rotar varias veces y se le retiro a través del espéculo (vagoscopio), se quebró la tórula a la altura apropiada para que quede completamente dentro del tubo con el medio de transporte AMIES, (Cayul, 2003).

- Para la toma de muestras de vagina y pene se usó hisopos esterilizados. Ya en vagina se realizó movimientos de rotación en la mucosa vaginal sin llegar a tocar los labios de la vagina, (Feldman y Nelson, 2000). Mismo procedimiento se realizó en la mucosa del glande del pene y mucosa interna del prepucio. Luego de la toma de la muestra, el hisopo fue introducido en un tubo que contenía 3 ml de medio de transporte de Stuart.
- Se registró el tipo (raza) de animal, el número (identificación) y la edad del mismo que se anotó en la etiqueta del envase de la tórula junto con la fecha de muestreo.

Las muestras fueron llevadas al laboratorio de microbiología de la facultad de medicina de la UMSA, donde se procedió a realizar el cultivo bacteriano.

3.2.3. Procedimiento de laboratorio

El protocolo de siembra, aislamiento e identificación primaria como secundaria se realizó bajo las recomendaciones de dos fuentes bibliográficas: Pruebas Bioquímicas Microbiológicas (Estevez, 2014) y Bacteriología básica (Trigoso, 2013).

3.2.3.1. Inoculación primaria de las muestras

Los hisopos provenientes tanto de los tubos con transporte AMIES y Stuart fueron sembrados en cajas petri, las mismas que contenían agar sangre, agar chocolate y agar Mac Conkey, todas las siembras fueron incubadas a 37°C en 48 horas, (Trigoso, C. *et al.*, 2013).

3.2.3.2. Identificación y aislamiento de colonias

Una vez que se observó la presencia de crecimiento bacteriano, dado por la turbidez del medio, se procedió a realizar las pruebas de identificación para cada microorganismo. De cada muestra se tomó con azada curva, una cantidad suficiente para la siembra por triplicado en

agar sangre (anexo 2.4), agar Mac Conkey (anexo 2.2) y agar sangre (chocolate) (anexo 2.4.) y se incubaron las cajas de petri a 37°C por 48 horas, (Estevez, 2014).

En aquellas muestras en las que se observó crecimiento bacteriano, se realizó coloración de Gram (anexo 2.9.6.). Posteriormente clasificadas de acuerdo con la metodología propuesta por Vadillo, 1980; citado por Mendez, 2008.

Con aquellos cultivos Gram positivos, se hicieron repiques en medio salado de manitol (anexo 2.5) y medio XLD (anexo 2.9.7.), y se realizó pruebas de catalasa. Contrariamente, a las Gram negativas se les hizo repique en medio EMB (anexo 2.9.8.) y SS (anexo 2.9.9) y pruebas de oxidasa. Para bacterias Gram positivas, adicionalmente se les realizó la prueba de coagulasa, (Estevez, 2014).

Tabla 2. Métodos para la determinación de la especie de microorganismo

MICROORGANISMO	Agar Nutritivo anexo 2.3.
Hemolisis	Agar Sangre anexo 2.4.
Aislamiento de coliformes, patógenos intestinales y en muestras biológicas.	Agar Mac Conkey anexo 2.2.
Enterobacterias	Agar EMB anexo 2.9.8. Agar S.S. anexo 2.9.9.
1. Medio aislamiento de <i>Staphylococcus</i> patógeno	Agar sal manitol anexo 2.5 Agar XLD anexo 2.9.7.
2. Aislamiento de Salmonella y Shigella	

Fuente: Elaboración propia

Se realizó la identificación de cada una de las cepas con las siguientes reacciones para cada grupo:

- Bacterias Gram positivas: Rojo de metilo-Voges Proskawer (anexo 2.9.10.), TSI (anexo 2.9.3.), LIA (anexo 2.9.2.), Citrato (anexo 2.9.1.), Agar SIM, Urea (anexo 2.9.11.), Nitritos (anexo 2.9.4.), Medios con azúcares (anexo 2.9.5.)

- Bacterias Gram negativas: TSI (anexo 2.9.3.), LIA (anexo 2.9.2.), Citrato (anexo 2.9.3.), Agar SIM, Rojo de metilo-Voges Proskawer (anexo 2.9.10.), Urea (anexo 2.9.11.), Nitritos (anexo 2.9.4.), Medios con azúcares (anexo 2.9.5.)

3.2.3.3. Antibiograma

Para realizar el antibiograma se usó el método de disco difusión; Este es un método cualitativo, que se caracteriza por ser fácilmente estandarizable y que está indicado para microorganismos no exigentes de crecimiento rápido.

Partiendo de una muestra clínica siempre se debe realizar un cultivo puro para poder comenzar el estudio de la sensibilidad antibiótica. Para esto se utiliza la técnica de aislamiento en placas que contengan un medio adecuado para la cepa en estudio (al cual además se le deben otorgar las condiciones atmosféricas específicas de esa cepa). El antibiograma por disco difusión basado en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores, es uno de los métodos que el NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antibióticos, (Avalos, 2014).

Para esto se depositan discos de papel filtro impregnados con diferentes antibióticos sobre la superficie de una de una placa con agar MH (Mueller Hinton). Tan pronto el disco impregnado en antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración.

Transcurridas 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano.

Para la lectura se utilizó tablas de la NCCLS que según el diámetro del halo de inhibición de crecimiento bacteriano, definen categorías de resistencia, sensibilidad y sensibilidad intermedia.

3.2.4. Análisis estadístico

Para el análisis de datos se utilizó una planilla EXCEL de Microsoft. Para el cálculo estadístico y conocer la existencia de asociación entre los factores:

- Edad – bacteria (presencia en vagina),
- Edad – bacteria (presencia en útero),
- Tipo – bacteria (presencia en vagina),
- Tipo – bacteria (presencia en útero),
- Preñez – bacteria (presencia en vagina) y
- Preñez – bacteria (presencia en útero),

Se llevó a cabo utilizando la prueba Chi cuadrado (independencia).

Para tal efecto se tuvo las siguientes hipótesis según la relación:

1. Ho: No existe relación entre la edad y la presencia de bacteria en vagina.
H1: Existe relación entre la edad y la presencia de bacteria en vagina.
2. Ho: No existe relación entre la edad y la presencia de bacteria en útero.
H1: Existe relación entre la edad y la presencia de bacteria en útero.
3. Ho: No existe relación entre el tipo y la presencia de bacteria en vagina.
H1: Existe relación entre el tipo y la presencia de bacteria en vagina.
4. Ho: No existe relación entre el tipo y la presencia de bacteria en útero.
H1: Existe relación entre el tipo y la presencia de bacteria en útero.

5. Ho: No existe relación entre la preñez y la presencia de bacteria en vagina.

H1: Existe relación entre la preñez y la presencia de bacteria en vagina.

6. Ho: No existe relación entre la preñez y la presencia de bacteria en útero.

H1: Existe relación entre la preñez y la presencia de bacteria en útero.

Se aplica la prueba de hipótesis fijando un nivel de significación de 0,05 con 95% de confiabilidad.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Descripción de la población

La edad de los camélidos sudamericanos domésticos (CSD) hembras y machos en estudio se distribuyó en un rango entre cuatro a siete años, con una media de 5,5 años, como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. **Estratificación de la edad de 46 camélidos sudamericanos domésticos (CSD) hembras y machos (*Lama glama*) del CEAC 2013-2014**

Edad años	n hembras	%	n machos	%
4	12	30	0	0
5	6	15	3	50
6	10	25	1	17
7	12	30	2	33
Total	40	100	6	100

Fuente: Elaboración propia

4.2. Condición corporal y sanitaria de la población

Los Camélidos Sudamericanos Domésticos tanto hembras como machos del CEAC presentaban una condición corporal buena y homogénea entre ellas.

Por otra parte, la condición sanitaria a la exploración clínica era acorde a los requerimientos del trabajo, es decir que no presentaban ninguna malformación o alteración en los órganos reproductivos tanto externos como internos.

4.3. Resultados microbiológicos

4.3.1. Aislamiento bacteriano

Se aislaron bacterias de la toma de muestras de 13 vaginas y de 13 úteros de llamas sin gestar, asimismo se tomó muestras de solo vagina de 27 llamas en gestación, haciendo un total de 53 muestras, de las cuales en 37 animales se encontró algún agente bacteriano, correspondiendo a un 92,5% de crecimiento. Por otro lado también se procedió al aislamiento de 6 muestras de la mucosa prepucial encontrándose en el 100% algún tipo de bacteria. La ocurrencia de aislamiento bacteriano está representada en la fig. 1.

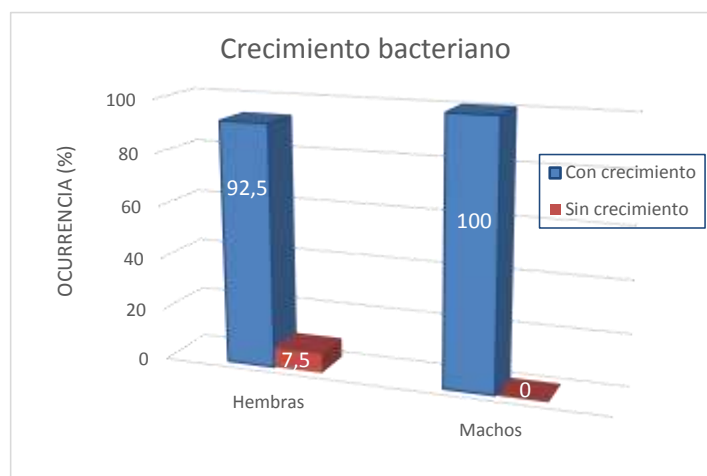


Figura 1. Ocurrencia de crecimiento bacteriano en muestras de vagina, útero y pene en camélidos sudamericanos domésticos (CSD), *Lama glama* en el CEAC 2013 - 2014

4.3.2. Aislamiento de bacterias aerobias

Se obtuvieron 124 aislamientos bacterianos, de los cuales 68 fueron de tipo aerobio. Estos aislamientos aerobios derivaron de 12 vaginas de hembras NO gestantes (VHNG), 10 úteros,

21 vaginas de hembras gestantes (VHG) y además de tres muestras de mucosa prepucial, correspondiéndose con un 54,8% de crecimiento aerobio, ver Tabla 4.

De estos 68 aislamientos bacterianos, los más frecuentes fueron: *Bacillus megaterium* (20,6%), *Bacillus subtilis* (14,7%), *Staphylococcus epidermidis* (14,7%), *Staphylococcus aureus* (14,7%), *Bacillus difteroides* (14,7%) y *Micrococcus* spp. (11,8%). Desde el punto de vista de la tinción de Gram, de los 68 aislamientos logrados en laboratorio, 63 bacterias (92,6%) se colorearon Gram positivo y 5 bacterias (7,4%) se colorearon Gram negativo (tabla 4). Cabe destacar que no se observaron cocos Gram negativos.

Tabla 4. Especie de bacterias aerobias aisladas de vaginas, úteros y pene en camélidos sudamericanos domésticos (CSD), *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

Especie de bacteria aerobias aisladas	Número de aislamiento	Ocurrencia en (%)
<i>Bacillus megaterium</i>	14	20,6
<i>Bacillus subtilis</i>	10	14,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	14,7
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10	14,7
<i>Bacillus difteroides (coreniformes)</i>	10	14,7
<i>Micrococcus spp</i>	8	11,8
<i>Acinetobacter spp</i>	3	4,4
<i>Campylobacter fetus</i>	2	2,9
<i>Bacillus macerans</i>	1	1,5
Total	68	100

Fuente: Elaboración propia

Tabla 5. Aislamientos bacterianos agrupados de acuerdo a la tinción de Gram y lugar de la toma de la muestra en camélidos sudamericanos domésticos (CSD), *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

Aislamientos	Número de aislamientos	Gram (%)		Número vaginas HNG	Número vaginas HG	Número úteros	Número penes
		Positivas	negativas				
Aerobias	68	92,6	7,4	12	21	10	3
Anaerobias facultativas	50	18,0	82,0	6	8	9	3
Anaerobias	6	100,0	0,0	3	0	7	0

Fuente: Elaboración propia

*HNG = Hembras no gestantes

**HG = Hembras gestantes

4.3.3. Aislamiento de bacterias anaerobias facultativas

Se obtuvieron 50 aislamientos anaerobios facultativos de un total de 124 aislamientos bacterianos. Estos aislamientos anaerobios facultativos derivaron de muestras de seis vaginas de hembras NO gestantes (VHNG), nueve úteros, ocho vaginas de hembras gestantes (VHG) y tres de pene (prepucio), correspondiéndose a un 40,3%. Las bacterias anaerobias aisladas con mayor frecuencia fueron la *Escherichia coli*, *Actinobacillus* spp., *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus* y *Haemophilus* spp. El total bacterias anaerobias facultativas aisladas se representadas en la tabla 6.

De estos 50 aislamientos bacterianos, se encontró que *Escherichia coli* fue localizado en un 20,0% (sumatoria de todos los aislados), *Actinobacillus* spp en un 16,0%, *Arcobacter nitrofigilis* con 16,0%, *Enterobacter aerogenes* se aisló en un 10,0%, *Enterococcus* se encontró en un 8,0% y *Haemophilus* spp., se identificó también en un 8,0%. Desde el punto de vista de la tinción de Gram, de los 50 aislamientos logrados en laboratorio nueve bacterias (18,0%) se colorearon Gram positivo y 41 bacterias (82,0%) se colorearon Gram negativo (tabla 5).

Tabla 6. Especie de bacterias anaerobias facultativas aisladas de vagina, útero y pene en camélidos sudamericanos domésticos (CSD), *Lama glama* en el CEAC 2013 - 2014

Especie de bacteria anaerobias facultativas aisladas	Número de aislamiento	Ocurrencia en (%)
<i>Escherichia coli</i>	10	20,0
<i>Actinobacillus</i> spp	8	16,0
<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	8	16,0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	5	10,0
<i>Enterococcus</i>	4	8,0
<i>Arcobacter</i> spp	4	8,0
<i>Haemophilus</i> spp	4	8,0
<i>Lactobacillus</i> spp	2	4,0
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	4,0
<i>Streptococcus Alfa hemolítico</i>	2	4,0
<i>Streptococcus viridans</i>	1	2,0
Total	50	100,0

Fuente: Elaboración propia

4.3.4. Aislamiento de bacterias anaerobias

De los 124 aislamientos de las 46 muestras también se pudo aislar 6 anaerobios las cuales representan el 4,8%. Las bacterias anaerobias con mayor frecuencia fueron la *Sarcina lútea* (83,3%) y *Gaffkya tetrágena* (16,7%), tabla 7.

Desde el punto de vista de la tinción de Gram, de los 6 aislamientos logrados en laboratorio 6 bacterias (100 %) se colorearon Gram positivo no encontrándose bacterias Gram negativas (tabla 5).

Tabla 7. Especie de bacterias anaerobias aisladas de vaginas, úteros y pene en camélidos sudamericanos domésticos (CSD), *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

Especie de bacteria anaerobias aisladas	Número de aislamiento	Ocurrencia en (%)
<i>Sarcina lútea</i>	5	83,3
<i>Gaffkya tetrágena</i>	1	16,7
Total	6	100

Fuente: Elaboración propia

4.3.5. Categorización de bacterias

En el presente estudio para los análisis de resultados tomaremos en cuenta la clasificación de las bacterias sobre la base de su potencial patógeno esperado dentro del útero (Ruder et al, 1981.; Olson et al., 1984; Farin et al., 1989; Noakes et al, 1989, 1991.; Bonnett et al., 1993, mencionado por Sheldon, *et al.* 2002)., las categorías fueron: (1) los agentes patógenos conocidos por causar lesiones endometriales; (2) otros patógenos uterinos reconocidos; y (3) bacterias no reconocidas como patógenos uterinos (véase la Tabla 8). También esta categoría es mencionada por Méndez, 2008.

Tabla 8: Categorización de bacterias aerobias y anaerobias en base a su potencial de patogenicidad, aisladas de cultivos de hisopo uterinos de ganado.

Categoría bacterial		
1	2	3
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Aerococcus viridans</i>
<i>Prevotella spp</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Clostridium butyricum</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	<i>Haemophilus somnus</i>	<i>Corynebacterium spp</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Mannhiemia haemolytica</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>Peptostreptococcus spp</i>	<i>Micrococcus spp</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i> (coagulase +)	<i>Providencia rettgeri</i>
	<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Providencia stuartii</i>
		<i>Proteus spp</i>
		<i>Propionobacterium granulosa</i>
		<i>Staphylococcus spp</i> (coagulase -)
		<i>α-Haemolytic Streptococci</i>
		<i>Streptococcus acidominimus</i>

Fuente: Sheldon, *et al.* (2002).

4.3.6. Condiciones de la flora bacteriana uterina en hembras no gestantes

De las 13 hembras que estaban gestando se tomaron muestras de útero donde se lograron identificar 11 especies diferentes de bacterias que colonizaban la mucosa uterina.

Siendo en orden de importancia como sigue: *Echerichia coli* y *Arcobacter nitrofigilis* con cinco apariciones siendo el 14,3%, seguidamente se presenta *Staphylococcus epidermidis* y *Bacillus difteroides* (*coreniformes*) con cuatro apariciones representando el 11,4%, asimismo se encuentran el *Actinobacillus spp*, *Bacillus megaterium*, *Enterobacter aerogenes* y *Haemophilus spp* con tres presencias siendo el 8,6%, también se presentaron *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus spp* con dos apariciones llegando a ser el 5,7% por último podemos observar a *Gaffkya tetrágena* reportándose en una oportunidad llegando a ser el 2,9%, ver tabla 9.

Tabla 9. Bacterias aisladas de útero en hembras no gestantes según su número de apariciones y ocurrencia en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

Especie de bacterias aisladas en útero	Número de apariciones	Ocurrencia en (%)
<i>Escherichia coli</i>	5	14,3
<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	5	14,3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	11,4
<i>Bacillus difteroides (coreniformes)</i>	4	11,4
<i>Actinobacillus spp</i>	3	8,6
<i>Bacillus megaterium</i>	3	8,6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	8,6
<i>Haemophilus spp</i>	3	8,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	5,7
<i>Micrococcus spp</i>	2	5,7
<i>Gaffkya tetrágena</i>	1	2,9
Total	35	100,0

Fuente: Elaboración propia

En la figura 2, se puede observar el porcentaje en relación con las apariciones que se encontraron en las muestras.

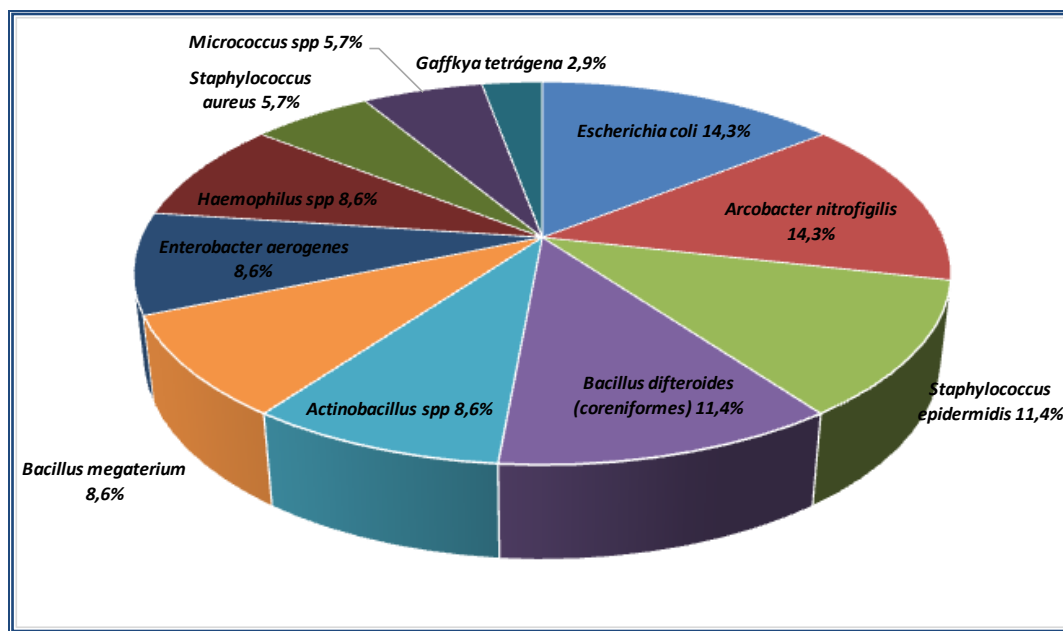


Figura 2. Bacterias aisladas de útero según su número de ocurrencia en (%) de camélidos sudamericanos domésticos *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

4.3.7. Condiciones de la flora bacteriana vaginal en hembras no gestantes (VHNG)

De las 13 hembras que no estaban gestando también se tomaron muestras de la mucosa vaginal de los cuales se logró identificar a 15 especies diferentes de bacterias que colonizaban esta mucosa. Siendo en orden de importancia como sigue: *Bacillus megaterium* con cinco apariciones representando el 15,6%, seguido de *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* con cuatro vistas (12,5%), también se encuentra *Escherichia coli* con 3 observaciones (9,4%), luego encontramos a *Staphylococcus epidermidis*, *Lactobacillus spp*, *Enterobacter aerogenes*, *Arcobacter nitrofigilis* y *Micrococcus spp* con dos apariciones siendo el 6,3%, seguidamente se presenta a *Bacillus difteroides (coreniformes)*, *Enterococcus*, *Actinobacillus spp*, *Arcobacter spp*, *Bacillus macerans*, y *Enterobacter cloacae* con una aparición representando el 3,3%, ver tabla 10.

Tabla 10. **Bacterias aisladas de vagina en hembras no gestantes (VHNG) según su número de apariciones y ocurrencia en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.**

Especie de bacterias aisladas en vagina de hembras no preñadas	Número de apariciones	Ocurrencia en (%)
<i>Bacillus megaterium</i>	5	15,6
<i>Bacillus subtilis</i>	4	12,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	12,5
<i>Escherichia coli</i>	3	9,4
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	6,3
<i>Lactobacillus spp</i>	2	6,3
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	6,3
<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	2	6,3
<i>Micrococcus spp</i>	2	6,3
<i>Bacillus difteroides (coreniformes)</i>	1	3,1
<i>Enterococcus</i>	1	3,1
<i>Actinobacillus spp</i>	1	3,1
<i>Arcobacter spp</i>	1	3,1
<i>Bacillus macerans</i>	1	3,1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	3,1
Total	32	100,0

Fuente: Elaboración propia

En la figura 3, se puede observar el porcentaje en relación con las apariciones que se encontraron en las muestras.

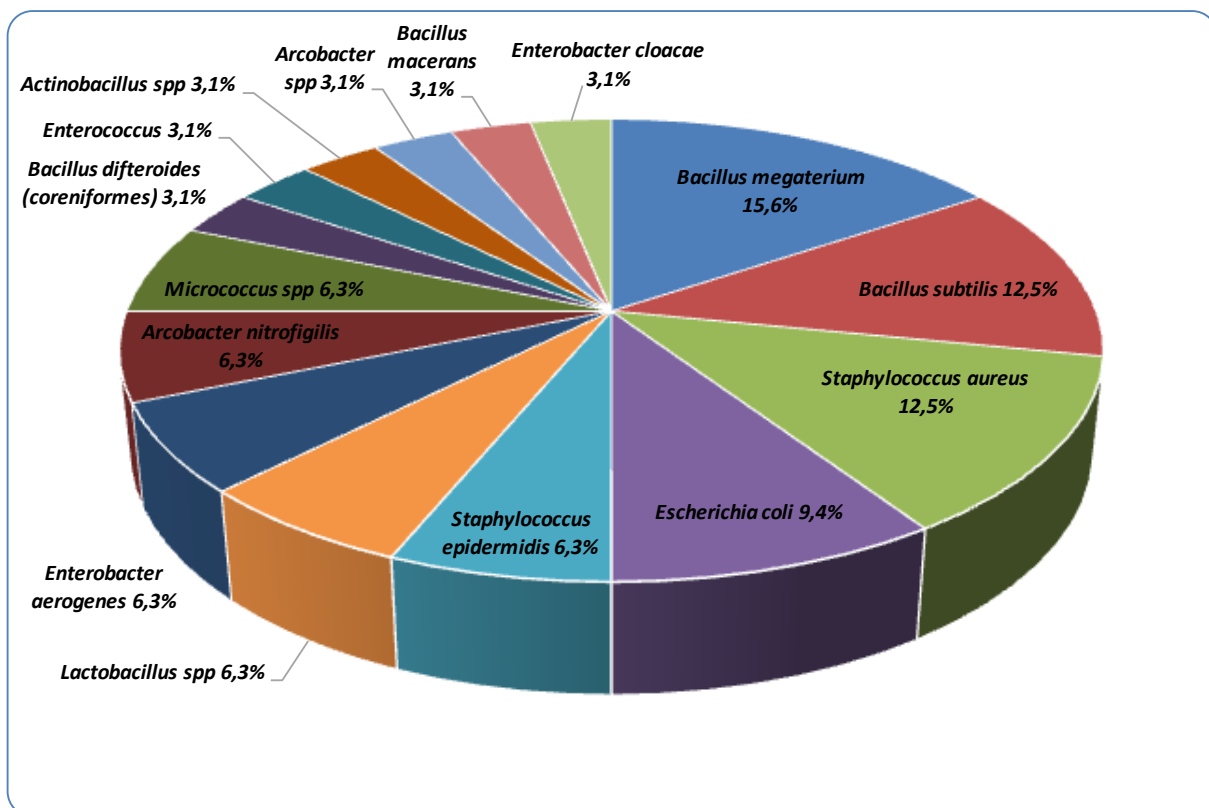


Figura 3. Bacterias aisladas de vagina de hembras no gestantes (VHNG) según su número de ocurrencia en (%) de camélidos sudamericanos domésticos *Lama glama* en el CEAC 2013 - 2014.

4.3.8. Condiciones de la flora bacteriana vaginal en hembras gestantes (VHG)

De las 40 hembras que ingresaron al estudio como se indicó 13 no presentaban signos de gestación, en este caso el resto de los animales es decir 27 si estaban gestando, de las cuales se tomaron muestras de la mucosa vaginal donde se identificó a 16 especies diferentes de bacterias.

Siendo como sigue: *Bacillus megaterium* con cinco apariciones representando el 11,6%, seguido de *Micrococcus spp*, *Staphylococcus epidermidis*, y *Sarcina lútea*, con cuatro presencias siendo el 9.3%, también se encuentra a *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* y

Acinetobacter spp con tres vistas siendo el 7,0%, también se encuentra *Actinobacillus spp*, *Escherichia coli*, *Bacillus difteroides (coreniformes)*, *Enterococcus*, *Arcobacter spp*, *Campylobacter fetus* y *Streptococcus alfa hemolítico* con dos observaciones estando a 4,7%, por último encontramos a *Enterobacter cloacae*, y *Arcobacter nitrofigilis* y con una aparición respectivamente siendo el 2,3%, ver tabla 11 y figura 4.

Tabla 11. Bacterias aisladas de vagina en hembras gestantes (VHG) según su número de apariciones y ocurrencia en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

Especie de bacterias aisladas en vagina de hembras gestantes	Número de apariciones	Ocurrencia en (%)
<i>Bacillus megaterium</i>	5	11,6
<i>Micrococcus spp</i>	4	9,3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	9,3
<i>Sarcina lútea</i>	4	9,3
<i>Bacillus subtilis</i>	3	7,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	7,0
<i>Acinetobacter spp</i>	3	7,0
<i>Actinobacillus spp</i>	2	4,7
<i>Escherichia coli</i>	2	4,7
<i>Bacillus difteroides (coreniformes)</i>	3	7,0
<i>Enterococcus</i>	2	4,7
<i>Arcobacter spp</i>	2	4,7
<i>Campylobacter fetus</i>	2	4,7
<i>Streptococcus Alfa hemolítico</i>	2	4,7
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	2,3
<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	1	2,3
Total	43	100,0

Fuente: Elaboración propia

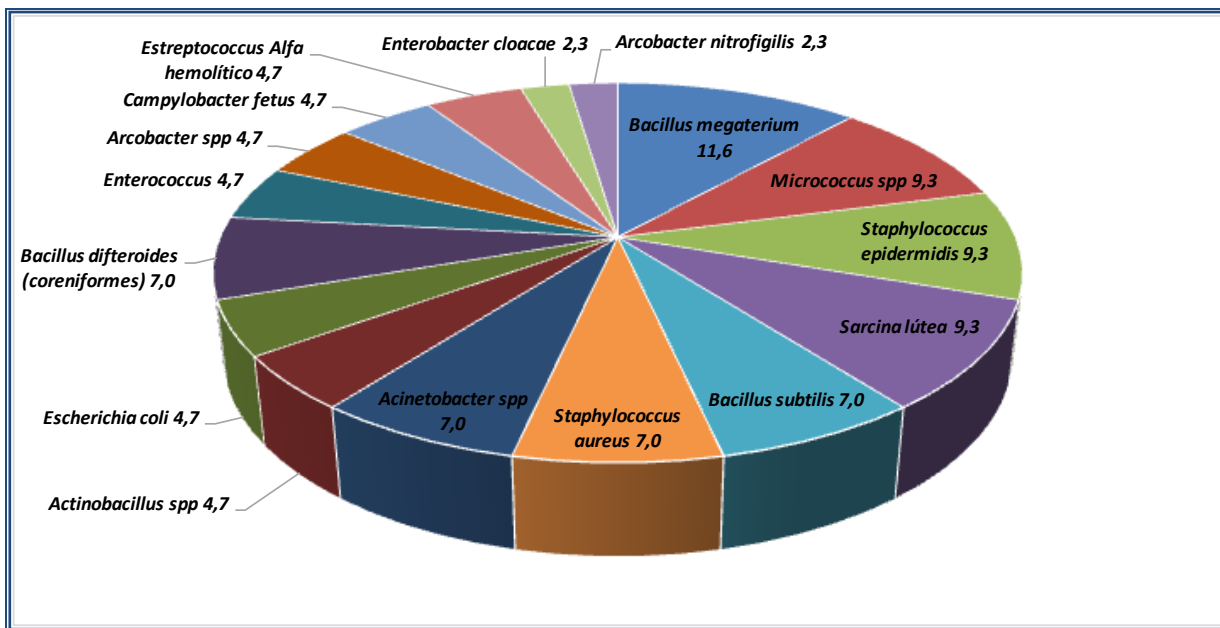


Figura 4. Bacterias aisladas de vagina de hembras gestantes (VHG) según su número de ocurrencia en (%) de camélidos sudamericanos domésticos *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

En la figura 5, se muestra la relación de la frecuencia de aparición de las bacterias presentes tomadas de muestras de vagina de hembras gestantes (VHG) y de vagina de hembras no gestantes (VHNG), donde se puede observar que la bacteria *Bacillus megaterium* presenta un porcentaje de aparición 11,6% (VHG) y 15,6% (VHNG) respectivamente.

También es bueno observar la presencia con mayor porcentaje de *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* en VHNG con 12,5% ambas, con relación a 7,0% también ambas en VHG.

Por otro lado no siguiendo el mismo patrón las demás bacterias es decir que las frecuencias y apariciones no son iguales en VHG y VHNG, incluso algunas bacterias aparecen en un grupo y no así en el otro

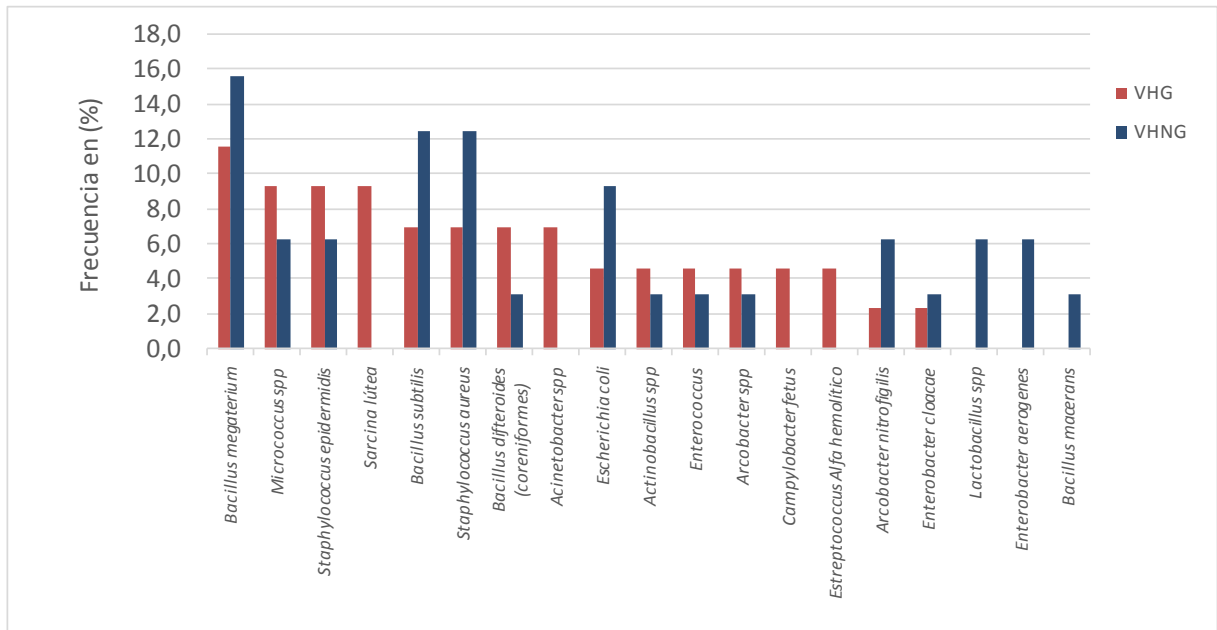


Figura 5. Frecuencia en (%) de aparición de bacterias aisladas de muestras tomadas de vaginas de hembras gestantes (VHG) y de vagina de hembras no gestantes (VHNG) de camélidos sudamericanos domésticos *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

4.3.9. Condiciones de la flora bacteriana de la mucosa prepucial

Se realizaron 15 aislamientos de las seis muestras tomadas en CSD machos.

El género más aislado en forma decreciente fue el *Bacillus subtilis* (20,0%), seguidos de *Actinobacillus spp* (13,3%), *Bacillus difteroides – coreniformes* (13,3), *Staphylococcus aureus* (6,7%), *Bacillus megaterium* (6,7%) y *Enterococcus* (6,7%) entre los más representativos, ver tabla 11 y figura 6.

Tabla 12. Bacterias aisladas de mucosa prepucial según su número de apariciones y ocurrencia en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

Especie de bacterias aisladas en prepucio	Número de apariciones	Ocurrencia en (%)
<i>Bacillus subtilis</i>	3	21,4
<i>Actinobacillus spp</i>	2	14,3
<i>Bacillus difteroides (coreniformes)</i>	2	14,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	7,1
<i>Bacillus megaterium</i>	1	7,1
<i>Enterococcus</i>	1	7,1
<i>Arcobacter spp</i>	1	7,1
<i>Sarcina lútea</i>	1	7,1
<i>Haemophilus spp</i>	1	7,1
<i>Streptococcus viridans</i>	1	7,1
Total	14	100

Fuente: Elaboración propia

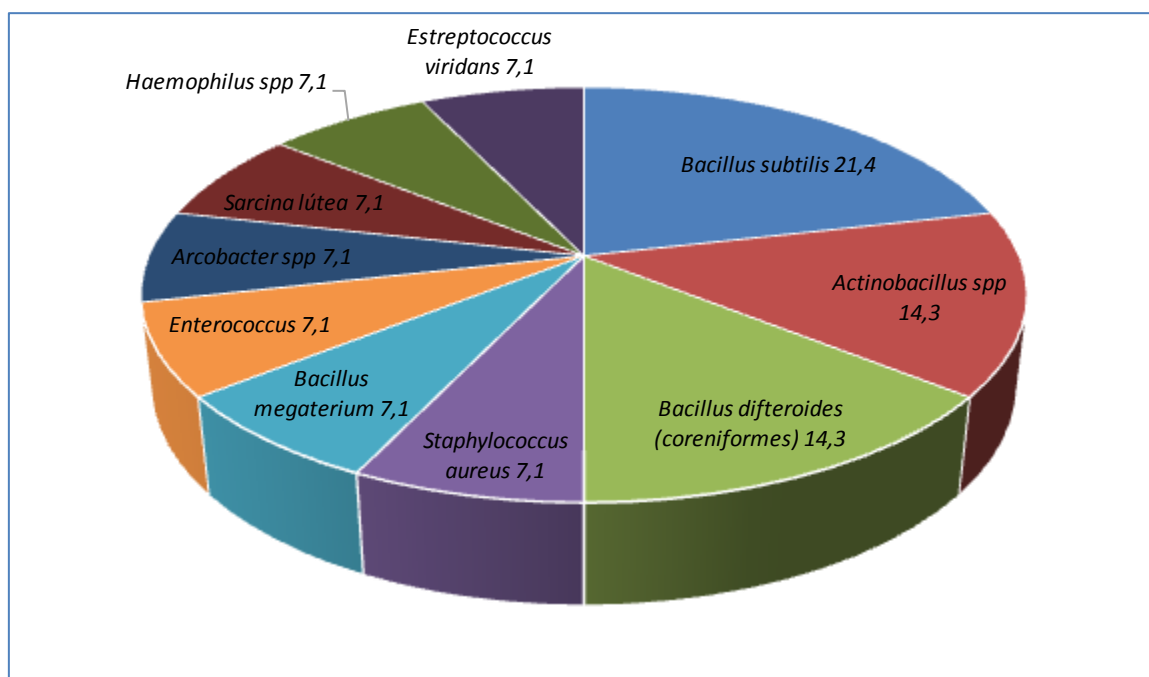


Figura 6. Bacterias aisladas de mucosa prepucial según su número de ocurrencia en (%) de camélidos sudamericanos domésticos *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

4.4. Resultados análisis estadísticos

Para el análisis estadístico se usaron los datos de 20 hembras del tipo Q'ara y 20 hembras del tipo Thampulli, con edades comprendidas entre los 4 y 7 años.

4.4.1. Relación de la edad con la presencia de bacterias en la vagina con la fertilidad

Para determinar la relación entre la presencia de bacterias en vagina y la edad del animal se utilizo la prueba del Chi cuadrado (X^2) siendo las hipótesis:

Ho: No existe relación entre la edad y la presencia de bacterias en vagina con la fertilidad

H1: Existe relación entre la edad y la presencia de bacterias en vagina con la fertilidad

Fijando un nivel de significación de 0,05 con 95% de confiabilidad.

Para este análisis se tomaron los datos de 40 animales hembras (Q'ara y Thampullis).

De acuerdo a la tabla 13, se asume la hipótesis nula donde nos muestra que no existe relación entre la edad y la presencia de bacterias, lo que quiere decir que en el caso del estudio la presencia de bacterias en vagina es igual tanto en hembras jóvenes (entre los 4 y 5 años) como en las de mayor edad (de 6 y 7 años).

Tabla 13. Relación edad y presencia de bacterias en vagina con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) *lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

PRESENCIA DE BACTERIAS EN VAGINA	EADADES																VALOR DE P
	4				5				6				7				
	Frec. oi.		Frec. ei.		Frec. oi.		Frec. ei.		Frec. oi.		Frec. oi.		Frec. oi.		Frec. oi.		
	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	
<i>Acinetobacter spp</i>	11	1	11,1	0,9	5	1	5,6	0,5	10	0	9,3	0,8	11	1	11,1	0,9	0,6681
<i>Actinobacillus spp</i>	11	1	10,8	1,2	5	1	5,4	0,6	9	1	9,0	1,0	11	1	10,8	1,2	0,9463
<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	11	1	10,8	1,2	6	0	5,4	0,6	9	1	9,0	1,0	10	2	10,8	1,2	0,7300
<i>Arcobacter spp</i>	10	2	11,1	0,9	6	0	5,6	0,5	9	1	9,3	0,8	12	0	11,1	0,9	0,3912
<i>Bacillus difteroides</i>	11	1	10,5	1,5	6	0	5,3	0,8	7	3	8,8	1,3	11	1	10,5	1,5	0,2574
<i>Bacillus macerans</i>	12	0	11,7	0,3	6	0	5,9	0,2	10	0	9,8	0,3	11	1	11,7	0,3	0,4949
<i>Bacillus megaterium</i>	10	2	9,3	2,7	5	1	4,7	1,4	8	2	7,8	2,3	8	4	9,3	2,7	0,7543
<i>Bacillus subtilis</i>	11	1	9,6	2,4	4	2	4,8	1,2	8	2	8,0	2,0	9	3	9,6	2,4	0,5988
<i>Campylobacter fetus</i>	10	2	11,4	0,6	6	0	5,7	0,3	10	0	9,5	0,5	12	0	11,4	0,6	0,1783
<i>Candida albicans</i>	11	1	11,4	0,6	5	1	5,7	0,3	10	0	9,5	0,5	12	0	11,4	0,6	0,3679
<i>Enterobacter aerogenes</i>	12	0	11,4	0,6	6	0	5,7	0,3	10	0	9,5	0,5	10	2	11,4	0,6	0,1783
<i>Enterobacter cloacae</i>	12	0	11,7	0,3	6	0	5,9	0,2	10	0	9,8	0,3	11	1	11,7	0,3	0,4949
<i>Enterococcus spp</i>	10	2	11,1	0,9	6	0	5,6	0,5	10	0	9,3	0,8	11	1	11,1	0,9	0,4297
<i>Escherechia coli</i>	11	1	10,5	1,5	6	0	5,25	0,75	9	1	8,75	1,25	9	3	10,5	1,5	0,5582
<i>Estreptococcus alfa hemolítico</i>	10	2	11,4	0,6	6	0	5,7	0,3	10	0	9,5	0,5	12	0	11,4	0,6	0,1783
<i>Lactobacillus spp</i>	11	1	10,8	1,2	6	0	5,4	0,6	8	2	9,0	1,0	11	1	10,8	1,2	0,6037
<i>Micrococcus spp</i>	10	2	10,2	1,8	5	1	5,1	0,9	7	3	8,5	1,5	12	0	10,2	1,8	0,5476
<i>Sarcina lutea</i>	10	2	10,8	1,2	6	0	5,4	0,6	9	1	9,0	1,0	11	1	10,8	1,2	0,7300
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	1	9,6	2,4	5	1	4,8	1,2	7	3	8,0	2,0	9	3	9,6	2,4	0,5988
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9	3	10,2	1,8	5	1	5,1	0,9	9	1	8,5	5,1	11	1	10,2	1,8	0,6665

Fuente: Elaboración propia

Frec. Oi. = Frecuencia observada

Frec. Ei. = Frecuencia esperada

Valor de P = >0.05

4.4.2. Relación de la edad con la presencia de bacterias en útero con la fertilidad

En el caso de la relación edad y presencia de bacterias en útero, se planteo la siguiente hipótesis:

Ho: No existe relación entre la edad y la presencia de bacterias en útero con la fertilidad

H1: Existe relación entre la edad y la presencia de bacterias en útero con la fertilidad

Para este análisis se tomaron 13 animales hembras (Q'ara y Thampulli).

Los resultados son los siguientes:

Tabla 14. Relación edad y presencia de bacterias en útero con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

PRESENCIA DE BACTERIAS EN ÚTERO	EADADES																VALOR DE P
	4				5				6				7				
	Frec. oi.		Frec. ei.		Frec. oi.		Frec. ei.		Frec. oi.		Frec. oi.		Frec. oi.		Frec. oi.		
	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	
<i>Actinobacillus spp</i>	2	0	1,5	0,5	1	0	0,8	0,2	2	2	3,1	0,9	5	1	4,6	1,4	0,4450
<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	2	0	1,2	0,8	0	1	0,6	0,4	1	3	2,5	1,5	5	1	3,7	2,3	0,0974
<i>Bacillus difteroides</i>	1	1	1,4	0,6	1	0	0,7	0,3	4	0	2,8	1,2	3	3	4,2	1,8	0,3066
<i>Bacillus megaterium</i>	2	0	1,5	0,5	1	0	0,8	0,2	2	2	3,1	0,9	5	1	4,6	1,4	0,4450
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1	1,5	0,5	0	1	0,8	0,2	4	0	3,1	0,9	5	1	4,6	1,4	0,1393
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1	1,5	0,5	0	1	0,8	0,2	4	0	3,1	0,9	5	1	4,6	1,4	0,1393
<i>Escherechia coli</i>	1	1	1,2	0,8	0	1	0,6	0,4	4	0	2,5	1,5	3	3	3,7	2,3	0,2079
<i>Gaffkya tetragena</i>	2	0	1,7	0,3	1	0	0,8	0,2	3	1	3,4	0,6	5	1	5,1	0,9	0,8406
<i>Haemophilus spp</i>	2	0	1,5	0,5	1	0	0,8	0,2	3	1	3,1	0,9	4	2	4,6	1,4	0,7377
<i>Micrococcus spp</i>	2	0	1,7	0,3	0	1	0,8	0,2	3	1	3,4	0,6	6	0	5,1	0,9	0,0647
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1	1,7	0,3	1	0	0,8	0,2	4	0	3,4	0,6	5	1	5,1	0,9	0,4305
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1	1,4	0,6	1	0	0,7	0,3	3	1	2,8	1,2	4	2	4,2	1,8	0,8320

Fuente: Elaboración propia

Frec. Oi. = Frecuencia observada

Frec. Ei. = Frecuencia esperada

Valor de P = >0.05

Al igual que en la relación edad – bacterias en vagina, en este caso también aceptamos la hipótesis nula que indica que:

No existe relación entre la edad y la presencia de bacterias en útero con la fertilidad

Lo que quiere decir que en este estudio en particular estadísticamente la edad no influye con la presencia de bacterias en útero.

4.4.3. Relación de la raza/tipo/ecotipo con la presencia de bacterias en vagina con la fertilidad

Para esta relación se plantea las siguientes hipótesis:

Ho: No existe relación entre la raza/tipo/ecotipo y la presencia de bacterias en vagina con la fertilidad

H1: Existe relación entre la raza/tipo/ecotipo y la presencia de bacterias en vagina con la fertilidad

Para este análisis se tomaron los datos de 40 animales hembras (Q'ara y Thampulli).

Tabla 15. **Relación raza/tipo/ecotipo y presencia de bacterias en vagina con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.**

PRESENCIA DE BACTERIAS EN VAGINA	RAZA/TIPO/ECOTIPO								VALOR DE P
	Q'ARA				THAMPULLI				
	Frec. oi.		Frec. ei.		Frec. oi.		Frec. ei.		
	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	
<i>Micrococcus spp</i>	18	4	18,7	3,3	16	2	15,3	2,7	0,5332
<i>Escherechia coli</i>	19	3	19,3	2,8	16	2	17,8	2,3	0,8101
<i>Bacillus subtilis</i>	18	4	17,6	4,4	14	4	14,4	3,6	0,7506
<i>Actinobacillus spp</i>	20	2	19,8	2,2	16	2	16,2	1,8	0,8322
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	19	3	18,7	3,3	15	3	15,3	2,7	0,7895
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	4	17,6	4,4	14	4	14,4	3,6	0,7506
<i>Bacillus megaterium</i>	18	4	17,6	4,4	14	4	14,4	3,6	0,7506
<i>Lactobacillus spp</i>	19	3	19,8	2,2	17	1	16,2	1,8	0,3967
<i>Bacillus macerans</i>	21	1	21,5	0,6	18	1	17,6	0,5	0,3596
<i>Bacillus difteroides</i>	19	3	19,3	2,8	16	2	15,8	2,3	0,8101
<i>Enterococcus spp</i>	21	1	20,4	1,7	16	2	16,7	1,4	0,4329
<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	19	3	19,8	2,2	17	1	16,2	1,8	0,3967
<i>Arcobacter spp</i>	21	1	20,4	1,7	16	2	16,7	1,4	0,4329
<i>Enterobacter aerogenes</i>	20	2	20,9	1,1	18	0	17,1	0,9	0,1894
<i>Enterobacter cloacae</i>	21	1	21,5	0,6	18	0	17,6	0,5	0,3596
<i>Sarcina lútea</i>	19	3	19,8	2,2	17	1	16,2	1,8	0,3967
<i>Candida albicans</i>	20	2	20,9	1,1	18	0	17,1	0,9	0,1894
<i>Campylobacter fetus</i>	21	1	20,9	1,1	17	1	17,1	0,9	0,8841
<i>Acinetobacter spp</i>	21	1	20,4	1,7	16	2	16,7	1,4	0,4329
<i>Streptococcus alfa hemolítico</i>	21	1	20,9	1,1	17	1	17,1	0,9	0,8841

Fuente: Elaboración propia

Frec. Oi. = Frecuencia observada

Frec. Ei. = Frecuencia esperada

Valor de P = >0.05

De acuerdo a los resultados en la tabla 15 se acepta la hipótesis nula, que indica:

Ho: No existe relación entre la raza/tipo/ecotipo y la presencia de bacterias en vagina con la fertilidad.

Lo que quiere decir que en este análisis la raza en CSD no tiene ninguna relación con la presencia de bacterias en vagina.

4.4.4. Relación de la raza/tipo/ecotipo con la presencia de bacterias en útero con la fertilidad

Para esta relación se plantea las siguientes hipótesis:

Ho: No existe relación entre la raza/tipo/ecotipo y la presencia de bacterias en útero con la fertilidad

H1: Existe relación entre la raza/tipo/ecotipo y la presencia de bacterias en útero con la fertilidad

Para este análisis se tomaron los datos de 13 animales hembras (Q'ara y Thampulli).

Tabla 16. Relación raza/tipo/ecotipo y presencia de bacterias en útero con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

PRESENCIA DE BACTERIAS EN ÚTERO	RAZA/TIPO/ECOTIPO								VALOR DE P
	Q'ARA				THAMPULLI				
	Frec. oi.		Frec. ei.		Frec. oi.		Frec. ei.		
	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	
<i>Micrococcus spp</i>	6	1	5,9	1,1	5	1	5,1	0,9	0,9056
<i>Escherichia coli</i>	3	4	4,3	2,7	5	1	3,7	2,3	0,1348
<i>Actinobacillus spp</i>	6	1	5,4	1,6	4	2	4,6	1,4	0,4164
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	3	4,8	2,2	5	1	4,2	1,8	0,3077
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	0	5,9	1,1	4	2	5,1	0,9	0,0968
<i>Bacillus megaterium</i>	5	2	5,4	1,6	5	1	4,6	1,4	0,6115
<i>Bacillus difteroides</i>	5	2	4,8	2,2	4	2	4,2	1,8	0,8529
<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	5	2	4,3	2,7	3	3	3,7	2,3	0,4285
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6	1	5,4	1,6	4	2	4,6	1,4	0,4164
<i>Enterobacter cloacae</i>	7	0	6,5	0,5	5	1	5,5	0,5	0,2609
<i>Haemophilus spp</i>	5	2	5,4	1,6	5	1	4,6	1,4	0,6115
<i>Gaffkya tetragena</i>	5	2	5,9	1,1	6	0	5,1	0,9	0,1546

Fuente: Elaboración propia

Frec. Oi. = Frecuencia observada

Frec. Ei. = Frecuencia esperada

Valor de P = >0.05

La tabla 16, indica que se acepta la hipótesis nula que menciona:

Ho: No existe relación entre la raza/tipo/ecotipo y la presencia de bacterias en útero con la fertilidad.

4.4.5. Relación de la preñez con la presencia de bacterias en vagina con la fertilidad

Para esta relación se plantea las siguientes hipótesis:

Ho: No existe relación entre la preñez y la presencia de bacterias en vagina con la fertilidad

H1: Existe relación entre la preñez y la presencia de bacterias en vagina con la fertilidad

Para este análisis se descartaron los animales que no presentaron a la bacteria en vagina, asimismo también se descartaron a las que no tuvieron gestación, ver tabla 17.

Tabla 17. **Relación preñez y presencia de bacterias en vagina con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.**

PRESENCIA DE BACTERIAS EN VAGINA	PREÑEZ								VALOR DE P
	NO				SI				
	Frec. oi.		Frec. ei.		Frec. oi.		Frec. ei.		
	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	
<i>Micrococcus spp</i>	0	3	2,1	0,9	14	3	11,9	5,1	0,004108
<i>Escherechia coli</i>	0	3	2,3	0,8	15	2	12,8	4,3	0,001138
<i>Bacillus subtilis</i>	0	5	3,2	1,8	14	3	10,8	6,2	0,000765
<i>Actinobacillus spp</i>	0	3	2,4	0,6	16	1	13,6	3,4	0,000172
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	5	3,6	1,4	16	1	12,4	4,6	0,000033
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	6	3,9	2,1	15	2	11,1	5,9	0,000096
<i>Bacillus megaterium</i>	0	7	4,4	2,6	15	2	10,6	6,4	0,000049
<i>Lactobacillus spp</i>	0	3	2,4	0,6	16	1	13,6	3,4	0,000172
<i>Bacillus macerans</i>	0	1	0,9	0,1	17	1	16,1	0,9	0,000022
<i>Bacillus difteroides</i>	0	4	3,0	1	16	1	13,0	4,0	0,000070
<i>Enterococcus spp</i>	0	3	2,6	0,5	17	0	14,5	2,6	0,000008
<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	0	4	3,2	0,8	17	0	13,8	3,2	0,000005
<i>Arcobacter spp</i>	0	3	2,6	0,5	17	0	14,5	2,6	0,000008
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	2	1,8	0,2	17	0	15,2	1,8	0,000013
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	1	0,9	0,1	17	0	16,1	0,9	0,000022
<i>Sarcina lútea</i>	0	3	2,4	0,6	16	1	13,6	3,4	0,000172
<i>Candida albicans</i>	0	1	0,9	0,1	16	1	15,1	1,9	0,003609
<i>Campylobacter fetus</i>	0	2	1,8	0,2	17	0	15,2	1,8	0,000013
<i>Acinetobacter spp</i>	0	1	0,8	0,2	15	2	14,2	2,8	0,021398
<i>Estreptococcus alfa hemolítico</i>	0	2	1,8	0,2	17	2	15,2	1,8	0,000013

Fuente: Elaboración propia

Frec. Oi. = Frecuencia observada

Frec. Ei. = Frecuencia esperada

Valor de P = >0.05

Según la tabla 17, se infiere que estadísticamente a una probabilidad del 95% de confiabilidad que se acepta la hipótesis alterna, que menciona:

H1: Existe relación entre la preñez y la presencia de bacterias en vagina con la fertilidad

Por lo que, cualquier presencia de bacterias en vagina puede ser causa probable de una infertilidad.

4.4.6. Relación de la preñez con la presencia de bacterias en útero con la fertilidad

Para este análisis se toma en cuenta solo muestras de animales no gestantes, siendo en número de 13, obteniendo la siguiente tabla:

Tabla 18. Relación preñez y presencia de bacterias en útero con la fertilidad en camélidos sudamericanos domésticos (CSD) *Lama glama* en el CEAC 2013 – 2014.

PRESENCIA DE BACTERIAS EN ÚTERO	NO PREÑEZ		PORCENTAJE (%) DE PROBABILIDAD DE NO PREÑEZ A CAUSA DE LA BACTERIA
	PRESENCIA DE LA BACTERIA		
	NO	SI	
<i>Micrococcus spp</i>	11	2	18
<i>Escherichia coli</i>	8	5	63
<i>Actinobacillus spp</i>	10	3	30
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	9	4	44
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	2	18
<i>Bacillus megaterium</i>	10	3	30
<i>Bacillus difteroides</i>	9	4	44
<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	8	5	63
<i>Enterobacter aerogenes</i>	10	3	13
<i>Enterobacter cloacae</i>	12	1	13
<i>Haemophilus spp</i>	10	3	30
<i>Gaffkya tetragena</i>	11	2	18

Fuente: Elaboración propia

La tabla 18, muestra el porcentaje de probabilidad que una bacteria tiene de provocar infertilidad.

Por supuesto que esta relación, está en directamente dependencia de la presencia de bacterias en vagina las mismas que pueden ser transferidas al útero en el momento de la copula o por simplemente presentar las condiciones adecuadas para un desarrollo bacterial.

4.5. Discusión de resultados

En Bolivia y en particular en las zonas potenciales de la crianza de camélidos sudamericanos domésticos (CSD) *Lama glama*, es decir en los departamentos de La Paz, Potosí y particularmente Oruro no existen estudios que determinen la prevalencia de gérmenes que tienen importancia como gérmenes asociados a las afecciones reproductivas en CSD. Debido a

la baja fertilidad en estos animales y teniendo un impacto en la producción de esta ganadería, se realizó este estudio en el cual se determinó la prevalencia de dichos gérmenes.

En el presente estudio se determinó la flora bacteriana presente en vagina y útero, y su relación con la preñez en camélidos sudamericanos domésticos (*Lama glama*) del Centro Experimental Agropecuario Condoriri (CEAC). Para tal efecto se tomaron muestras de hembras gestantes (solo de vagina) en número de 27, hembras no gestantes (vagina y útero) en número de 13 (una por cada órgano) y además de mucosa prepucial de seis animales machos. Dichos resultados se tomaron como referencia para establecer diferencias en la proporción de la frecuencia de aislamiento de dichos gérmenes en vagina, útero y mucosa prepucial, de acuerdo con esta diferencia se logró determinar cuáles bacterias se encontraban como flora normal en vagina y cuales estaban relacionadas con la producción de infección en útero y como consecuencia la infertilidad.

4.5.1. Resultados de útero

El alto número de microorganismos aislados de las muestras uterinas de camélidos sudamericanos domésticos (CSD), *Lama glama* sugiere la existencia de una microflora saprofítica normal. Sin embargo la evidencia de otros microorganismos clasificados como patógenos (ver tabla 8), pudiera tener importancia en la infertilidad de los CSD *Lama glama*. Las infecciones uterinas son uno de los problemas reproductivos más comúnmente adquiridos lo que resulta en la infertilidad en camélidos (Vaughan, et al., 2005).

Según un estudio de Vanroose, 2000; citado por Mendez, 2008 los agentes infecciosos están relacionados indirectamente con muertes embrionarias, septicemias, viremias y toxemias, o directamente por afectar al medio ambiente uterino, la muerte embrionaria es causada por patógenos sistémicos y se relaciona con fiebre durante la infección, cuando el animal presenta estados febriles elevados la muerte embrionaria se da por la denaturación de las proteínas, en el caso de altas concentraciones de prostaglandina causa luteolisis y abortos; factores como

estrés elevan la concentración de esteroides y en consecuencia se produce una baja respuesta inmune.

Teniendo esos antecedentes y en base a estudios presentados en determinar el potencial de patogenicidad (ver tabla 8), donde se mencionan tres categorías, siendo: (1) los agentes patógenos conocidos por causar lesiones endometriales; (2) otros patógenos uterinos reconocidos; y (3) bacterias no reconocidas como patógenos uterinos, (Sheldon, *et al.*, 2002). Con relación a lo anteriormente citado, como se observa en la tabla 8 y figura. 2, se puede deducir que en el trabajo se aislaron bacterias de los tres grupos mencionados. Dentro del grupo de los microorganismos conocidos que causan lesiones endometriales, se aislaron *Escherichia coli* (14,3%); dentro del grupo de patógenos uterinos reconocidos (bacterias que causan esporádicamente endometritis), se aislaron *Staphylococcus aureus* (5,7%) y una especie de *Haemophilus spp.*, (8,6%), asimismo dentro del grupo de las bacterias no reconocidas como patógenas uterinas, se aislaron *Enterobacter aerogenes* (8,6%) y *Micrococcus spp* (5,7%).

Tibary, 2001, con la técnica de biopsia empleada para la toma de muestras en útero para CSD encuentra las siguientes bacterias: *Actinomyces piogenes*, *Bacillus spp*, *Staphylococcus spp*, *Escherichia coli*, *Streptococcus spp*, *Bacteroides spp*, *Fusobacterium necrophorum*, resultando coincidentes la *Escherichia coli* y el *Staphylococcus*, ambas bacterias catalogadas en las categorías 1 y 2 de patogenicidad.

En otros estudios (Tibary, A.; Fite, C. *et al.*, 2006), demuestra que las bacterias responsables de endometritis en el camello son similares a los encontrados en bovinos y equinos. Las bacterias más aisladas del útero de camélidos con endometritis son *Escherichia coli*, *Zooepidemicus Streptococcus b-hemolítico estreptococos*, *Enterococcus*, *Staphylococcus coagulasa negativo*, *Proteus spp.*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* y *Arcanobacter pyogenes*.

Otros trabajos relacionados, en la que se realiza estudios “comparativos sobre las infecciones genitales en camellos (*Camelus dromedarius*) y vacas (*Bos indicus*)” donde se menciona que de todos los aislamientos realizados se calculó la infección; en base a la tasa más alta de infección la misma que se asoció con *E. coli* (79%) seguido de *Str. pyogenes* (32%) y *S. aureus* (25%), Mshelia, et al., 2014, datos que corroboran los resultados obtenidos en el presente estudio encontrando a *E. coli* (14.3%) y *S.aureus* (5,7%), (tabla 8).

Una bacteria con presencia importante en el aislamiento uterino que no coincide con ningún trabajo relacionado fue la *Arcobacter nitrofigilis*, para lo cual algunos autores mencionan lo siguiente: Es un bacilo Gram negativo curvo, en forma de S cuando está en cultivos jóvenes y de forma cocoide o esférica en cultivos viejos. Es una bacteria no esporulada y su tamaño oscila entre 0,2 y 0,9 µm de ancho, con un largo entre 0,5 y 3,0 µm. Es móvil debido a la presencia de flagelos polares simples. Esta bacteria fue aislada por primera vez a partir de fetos bovinos abortados de manera espontánea en 1977 y posteriormente fue también aislada a partir de fetos de cerdo. La bacteria fue inicialmente nombrada como *Campylobacter aerotolerante* por Neill, no obstante su nombre fue cambiado luego a *Campylobacter cryaerophila* por Neill en 1985 y, finalmente, Vandamme *et al.*, propusieron la creación del genero *Arcobacter*. (Calvo, *et al.*, 2013).

Arcobacter nitrofigilis, es la especie tipo del género y fue inicialmente aislada en el año 1983 por McClung et al., en la costa este de Canadá. Es una bacteria fijadora de nitrógeno y fue encontrada en asociación con las raíces de *Spartina alterniflora*, una planta acuática. Esta bacteria ha sido aislada de diversas muestras tales como, heces, tractos reproductivos y fetos producto de abortos de muchos animales de granja, así como demuestras de leche de vaca que tenían mastitis, (Calvo, *et al.*, 2013).

En los últimos años, el género *Arcobacter* ha adquirido una mayor relevancia debido a que algunos de sus miembros han sido considerados enteropatógenos oportunistas emergentes y potenciales agentes zoonóticos (Ho y col., 2006; Collado y col., 2009b; Wesley y Miller, 2010 todos ellos mencionado por Rojas, Z., 2011), esto debido a que ciertas especies han sido

aisladas de muestras fecales de personas con diarrea y en algunos casos en personas con bacteremia, endocarditis y peritonitis, aunque también han sido aisladas de muestras fecales de personas asintomáticas.

4.5.2. Resultados de vagina

En base al potencial de patogenicidad dentro del grupo de las bacterias que causan frecuentemente endometritis, se aislaron de la vagina de hembras no gestantes (VHNG), lo siguiente: *Escherichia coli* (9.4%); dentro del grupo de las bacterias que causan esporádicamente endometritis, se aislaron *Staphylococcus aureus* (12.5%) y dentro del grupo de las bacterias no patógenas uterinas, se aislaron *Enterobacter aerogenes* (6.3%) y *Micrococcus spp* (6.3%). De la misma manera se procedió a clasificar a las bacterias aisladas de VHNG en función al potencial de patogenicidad siendo como sigue: *Escherichia coli* (4,7%); dentro del grupo de las bacterias que causan esporádicamente endometritis, se aislaron *Staphylococcus aureus* (7,0%) y *Acinetobacter spp* (7%) y dentro del grupo de las bacterias no patógenas uterinas, se aislaron *Micrococcus spp* (9.3%). Datos corroborados por Boscan *et al.* 2010 en estudios en vaginas de vacas donde aisló *Escherichia coli* (5%) y *Staphylococcus aureus* (16%) además de otro grupo de bacterias como *Arcanobacterium pyogenes* (23%), *Peptostreptococcus spp.* (7%), *Providencia stuartii* (2%) y *Staphylococcus coagulasa negativo* (18%).

Dentro de las bacterias aerobias aisladas de vaginas, *Bacillus megaterium* fue la bacteria con mayor frecuencia de aislamiento, tanto en el grupo de vaginas de hembras no gestantes (VHNG) con 15,6% y de vaginas de hembras gestantes (VHG) con 11,6%; aislando con predominancia además de esta bacteria a *S. aureus* con 12.5% (VHNG) y 7,0% (VHG) y 9,4% (VHNG) y 4,7% (VHG) de *E. coli* respectivamente. Estos datos coinciden exactamente con el estudio de Boscan, *et al.*, 2010, debido a que estas bacterias presentaron también proporciones considerables. En otros estudios, esta bacteria se encontró en vacas clínicamente sanas en un 20% (Ross, 2003) y en un 15,4% (Alba, *et al.*, 2006)

Otra bacteria aislada con mayor frecuencia fue el *Bacillus subtilis* estando presente con 7% (VHG) y 12,5% (VHNG).

Otro *Staphylococcus* encontrado frecuentemente en este estudio fue *S. epidermidis* con un 9,3% de ocurrencia en VHG y con menor porcentaje en VHNG con 6,3%, coincidiendo con Ali, *et al.* (2010), donde también aisló en su trabajo en menor porcentaje la bacteria de la vagina de hembras de Dromedario, así también otros hallazgos encontrados por otros investigadores (Panangala, *et al.*, 1978), los cuales reportaron un 19 y 17% en vacas con fertilidad normal y repetidoras de servicios, respectivamente. En otro experimento más reciente, se estudió la flora bacteriana vaginal de novillas sanas durante su crecimiento y desarrollo, encontrando un elevado contaje de *S. epidermidis* de 10^6 a 10^8 unidades formadoras de colonias (Otero, *et al.*, 2000). De igual manera, se reportó una ocurrencia del 20,5% para esta bacteria (Alba, *et al.*, 2006). Sin embargo, otros estudios lograron aislar otros *Staphylococcus* (*S. albus*, *S. citreus*, *S. aureus*), Fernandez, *et al.* (2006).

Dentro de las bacterias aerobias aisladas, el *Micrococcus spp.*, presentó una frecuencia de aislamiento de un 8% en VHG y 6,3% en VHNG respectivamente, misma bacteria fue encontrada en muestras de útero de dromedario, hallazgos realizados en matadero como también en hisopados uterinos reportado en trabajos de Tibary, A.; Fite, C. *et al.*, (2006).

En las muestras de vagina de hembras gestantes (VHG), se encontró un único germen anaerobio; la *Sarcina lutea* con 9,3%. En trabajos realizados en vacas se encontró con una alta frecuencia la bacteria del género *Bacteroides spp.*, (anaerobio). Reportándose un 24,99% del total de crecimientos logrados, Boscan, *et al.*, 2010. En otro estudio se obtuvo resultados contradictorios al no aislar esta bacteria en las vaginas clínicamente sanas de vacas. Asimismo, se aislaron bacterias anaerobias pleomórficas sin llegar a una identificación clara con una ocurrencia del 2%. En resumen, la mayoría de los autores citados no determinaron la presencia de bacterias anaerobias en la vagina y únicamente reportaron los crecimientos bacterianos aislados bajo ambiente aerobio, (Boscan, *et al.*, 2010).

Al margen de la *E. coli*, que se presentó de manera constante también se aisló en este estudio otras enterobacterias, siendo la *Enterobacter Cloacae* reflejando una ocurrencia del 2,3% (VHG) y 0% (VHNG) respectivamente, asimismo la *E. aerogenes* con 0% (VHG) y 6,3% (VHNG). En otros hallazgos se aislaron un número mayor de enterobacterias (36%) en vacas con una buena fertilidad, además autores trabajando con perras encontraron una frecuencia de aislamiento del 21% de enterobacterias, (Boscan, *et al.*, 2010).

Al igual que los reportes anteriores, estudiando la flora bacteriana de la vagina de cabras postparto, se describe una elevadísima ocurrencia de enterobacterias del 86%, Ababneh, *et al.*, 2006. Caso contrario, en hallazgos provenientes de vaginas clínicamente sanas de novillas, se encontraron niveles bajos de enterobacterias de 10_0 a 10_1 UFC durante el período de estudio, (Otero, *et al.*, 2000).

En relación a la infección uterina causada por bacterias y de acuerdo a estudios realizados por Ali, A. *et al.* 2010 se menciona que el *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* se ha aislado de útero de yeguas, vacas y dromedarios con endometritis, siendo los mencionados microorganismos considerados como agentes causantes de la infección en camellos. Mismas bacterias se aislaron en este estudio de útero y vagina tanto de hembras gestantes como de no gestantes.

4.5.3. Resultados de mucosa prepucial

En el caso de las muestras de mucosa prepucial, se realizaron 14 aislamientos de las 6 muestras tomadas, encontrando 10 géneros de bacterias; de todas las muestras se pudieron aislar microorganismos (tablas 3 y 10). El género más común a ser aislado en orden descendente de frecuencia de aparición fue: *Bacillus subtilis* (21,4%), *Actinobacillus spp* (14,3%), *Bacillus difteroides – coreniformes* (14,3), *Staphylococcus aureus* (7,1%), *Bacillus megaterium* (7,1%) y *Enterococcus* (7,1%) entre los más representativos, resultados similares se obtuvieron en un trabajo reportado por Jarvinen, *et al.*, 2010 donde en machos de *Lama glama* y *Vicugna pacos* se aislaron con mayor frecuencia en orden descendente

Staphylococcus, *Bacillus* y *Streptococcus* además de otras como *Bacteroides*, *Corynebacterium*, *Arcanobacterium* y *Actinomyces*.

Jarvinen, *et al.*, (2010), menciona que las bacterias colonizan la mucosa prepucial poco después del nacimiento. En los machos de otras especies, la edad, la experiencia sexual y la raza influyen en la prevalencia, intensidad y la diversidad de las cepas bacterianas del prepucio (Bjurstrom y Linde-Forsberg, 1992; Humphrey *et al.*, 1982.; Johnson *et al.*, 2006; Walker y Lea Master, 1986).

La mayoría de las bacterias cultivadas a partir de prepucio de camélidos sudamericanos domésticos machos son organismos comensales generalmente inofensivos, pero varios de ellos pueden ser patógenos oportunistas del tracto reproductivo del macho en otras especies, (Jarvinen, *et al.*, 2010).

Además de los aislamientos mencionados también se encontraron *Arcobacter spp*, *Sarcina lutea*, *Haemophilus spp* y *Streptococcus viridans* todos ellos con 7,1%, es decir con una relación de 1/14, ninguna de estas bacterias son reportadas en trabajos similares.

Ninguno de estos aislamientos se asoció a una evidencia manifiesta de una enfermedad clínica; sin embargo, no se evaluó microscópicamente al prepucio para tener evidencia de alguna inflamación. Nuestros resultados observados se apoyan en otros estudios donde se menciona que la enfermedad bacteriana del sistema reproductivo del macho de los camélidos del nuevo mundo (CSD), es poco común y ningún patógeno bacteriano existente el tracto reproductivo de machos de *Lama glama* y *Vicugna pacos* de Norte América es transmitido sexualmente (Fowler, 1998).

Tibary, A. *et al.*, (2006). Mencionan que, la infección uterina por bacterias oportunistas es la causa más común de infertilidad adquirida en llamas hembras y alpacas en América del Norte y la repetición de la monta natural es considerado el único factor predisponente más importante. La Contaminación bacteriana del útero es una consecuencia natural de la cópula

(Bjurstrom y Linde-Forsberg, 1992). Aunque por lo general se tenga un útero sano, estos contaminantes pueden establecer la infección y potencialmente causar infertilidad si los mecanismos uterinos de defensa no actúan de manera adecuada y oportuna (Almond et al, 2006; Asbury, 1983; Causey, 2006). En la cópula de camélidos del nuevo mundo (CSD) dura un promedio de 20-25 min, pero puede durar hasta 60 minutos durante este tiempo el semen es depositado directamente en ambos cuernos uterinos por la penetración repetida del pene (Fowler, 1998; Johnson, 1989; Tibary y Vaughan, 2006). Bravo *et al.* (1996) informaron de edema, inflamación e hiperemia en el útero de alpacas después de una sola cópula.

Repetir la monta natural podría ser un predisponente a las infecciones del útero por la introducción de bacterias en la matriz y comprometer los mecanismos de defensa uterina (Tibary y Anouassi, 2001). *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *E. coli*, *Arcanobacterium* (*Corynebacterium pyogenes*), *Fusobacterium necrophorum* y diversos anaerobios han sido frecuentemente aislados del útero de camélidos del nuevo mundo (CSD) con endometritis / metritis (Fowler, 1998; Johnson, 1989; Powers *et al.*, 1990). *Bacillus*, *Staphylococcus* y *Streptococcus* también se aislaron del prepucio en el presente estudio (tablas 1 y 2). Si bien en conjunto estos hallazgos son sugestivos en la epidemiología la confirmación para indicar de manera certera que las bacterias del prepucio juegan un papel importante en el desarrollo de la infección uterina en CSD (*Lama glama*) está más allá del alcance de este estudio y requiere una investigación adicional.

Con respecto al tipo de aislamiento, los datos confirman los resultados obtenidos por otros autores al mencionar que *E. coli* es uno de los principales gérmenes bacterianos oportunistas de la vagina, que sólo espera condiciones favorables como la alteración de los mecanismos fisiológicos de defensa de la vagina y el útero, de esta manera debilitándose la resistencia local y sistémica de la vaca (Fernandez, 2006; Otero, 2000; Sheldon, et. al. 2002, Tibary, 2006). Bajo este ambiente, la virulencia aumenta y la proliferación de la bacteria es iniciada dejando su papel de oportunista para convertirse en patógeno. Estos datos también son corroborados por Dellepiane y Morales (2015), donde mencionan que la *E. Coli* ha sido aislada de útero de hembras primerizas en mayor porcentaje que en hembras no primerizas (alpacas), sin mostrar ningún tipo de alteración infecciosa aparente, dando a entender que esta puede considerarse

parte de la flora normal en útero de alpacas. Pero como muchas de las enterobacterias, tiene la capacidad de volverse patógena al encontrar un medio propicio para su proliferación.

En el presente estudio se aislaron bacterias que, a pesar de pertenecer a la flora normal de la vagina, algunas de ellas están descritas como patógenas oportunistas, es decir, en situaciones favorables causarán infecciones y otras descritas como saprofitas, por lo que, raramente causarán infecciones. Estas afirmaciones, permiten tomar en cuenta la flora vaginal en momentos donde la hembra de CSD enfrente situaciones adversas durante y después del parto como distocia, retención placentaria, cervicitis, vaginitis, metritis, endometritis y piómetra; de esta manera reunir herramientas terapéuticas y de manejo para curar y prevenir estas patologías reproductivas y minimizar los efectos desfavorables sobre la eficiencia reproductiva en camélidos sudamericanos domésticos (*Lama glama*).

4.5.4. Resultados estadísticos

De acuerdo a los resultados obtenidos con el uso del chi cuadrado en las relaciones:

- Edad – presencia de bacterias en vagina
- Edad – presencia de bacterias en útero
- Raza – presencia de bacterias en vagina
- Raza – presencia de bacterias en útero

Y aceptando la hipótesis nula de todas ellas donde nos indica que no existe relación, se puede indicar que: los animales en estudio comprendidos entre las edades de 4 a 7 años tienen la misma probabilidad de presentar bacterias tanto en vagina como en útero. El mismo análisis se sigue con la relación raza – bacterias, es decir que la raza no es un factor para la ausencia de bacterias, es decir que tanto la raza Q'ara y Thampulli son predisponentes a la presencia de bacterias en vagina y útero.

Para el caso de la relación preñez – presencia de bacterias tanto en vagina como útero, nos muestra que si existe relación, donde se acepta la hipótesis alterna.

Según, Avalos, (2014), menciona: los hallazgos permiten demostrar que en la vagina aparentemente sana de los animales, residen microorganismos aerobios saprofitos la cual se puede considerar normal y microorganismos aerobios con potencial de patogenicidad, los cuales causan frecuentemente endometritis y problemas reproductivos posteriores.

Es decir que la presencia de bacterias en vagina y útero de los camélidos sudamericanos domésticos (*Lama glama*) es causa probable de infertilidad.

4.5.5. Antibiograma

En la tabla 19 se muestra la resistencia y sensibilidad de las bacterias presentes en útero y vagina.

Tabla 19. Resistencia y sensibilidad de las bacterias presentes en vagina y útero a diferentes antimicrobianos.

Especie bacteriana	Quimioterápicos y/o antibióticos																																				
	Amilicidina	Amikacina	Amoxicilina	Acido clavulánico	Ampicilina	Ampicilina - Sulba	Azitromicina	Aztreonam	Cefalotina	Cefepima	Cefixima	Cefotaxima	Cefoxitina	Ceftriaxona	Ciprofloxacina	Clindamicina	Cloxacilina	Cloranfenicol	Cotrimoxazol	Doxiciclina	Eritromicina	Estreptomina	Gentamicina	Imipenem	Kanamicina	Levofloxacina	Metromidazol	Oxacilina	Penicilina	Penicilina G	Piperacilina	Rifampicina	Smipenem	Tetraciclina	Vancomicina		
<i>Acinetobacter spp</i>		S														R		R					S		S							S	S				
<i>Actinobacillus spp</i>	S		S									S						R	R	S															R		
<i>Arcobacter nitrofigilis</i>		S																R	R	S					S			R							R		
<i>Arcobacter spp</i>		S																R							S		R										
<i>Bacillus difteroides (coreniformes)</i>																		R	S	S					S		R				S				S		
<i>Bacillus macerans</i>																S		S		S				S	S						S				S		
<i>Bacillus megaterium</i>																S		S		S				S	S						S				S		
<i>Bacillus subtilis</i>																S		S		S				S	S						S				S		
<i>Campylobacter fetus</i>			S			S								R				R			S					R											
<i>Enterobacter aerogenes</i>		S			R				S						S			R	R																R		
<i>Enterobacter cloacae</i>		S			R				S						S			R	R																R		
<i>Enterococcus</i>						S								S								S						S			S	S			S		
<i>Escherichia coli</i>					R			S							S			S	R				R												S		
<i>Streptococcus Alfa hemolítico</i>		S												S	S				R		S				S				S								
<i>Streptococcus viridans</i>		S												S	S				R		S				S				S								
<i>Gaffkya tetrágena</i>		S	S					S					S					S									S									S	
<i>Haemophilus spp</i>			S								S							S			R				S					R					R		
<i>Lactobacillus spp</i>																																					
<i>Micrococcus spp</i>		S				S									S		S				R										S				S		
<i>Sarcina lútea</i>																																					
<i>Staphylococcus aureus</i>		S										S			S		S	R		R					S										S		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		S	R														S	S							S			R								S	

R= resistente
S= sensible

La utilidad de la realización de un antibiograma como base para la terapéutica antimicrobiana, se pone de manifiesto en la tabla N° 19. Dicha tabla nos muestra que microorganismos son sensibles y/o resistentes a cierto tipo de antimicrobianos.

Es importante para llevar a cabo una elección racional al momento de instaurar una terapia, aún sabiendo que no siempre las acciones *in vitro* son garantía de una eficacia similar *in vivo* (San Martín, *et. al.*, 1991).

Los betalactámicos, gentamicina, lincomicina y sulfamidas constituyen una de las primeras opciones al momento de instaurar una terapia de endometritis clínica, especialmente penicilina, amoxicilina y ampicilina (Kaneene *et. al.*, 1992; Sumano y Ocampo, 1997).

Para el caso de los betalactámicos, en este ensayo, se obtuvo resistencia de *Escherichia coli* frente a ampicilina, lo que concuerda con lo obtenido por San Martín *et. al.* (1991), quienes obtuvieron un 25,8% de resistencia.

Con respecto a los restantes bacilos Gram negativo (*Acinetobacter spp*, *Campylobacter fetus* y *Actinobacillus spp*) los resultados obtenidos permiten concluir que son muy resistentes a clindamicina y cloranfenicol (tabla 10).

Para el caso de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* se observó resistencia frente a macrolidos y sulfas lo que concuerda con resultados obtenidos por otros autores (Gentilini, *et. al.*, 2002).

También presentaron resistencia a cloranfenicol, ampicilina, cotrimoxazol y tetraciclina las *Enterobacter aerogenes* y *Enterobacter cloacae* esto concuerda con Vanegas, *et. al.* (2009) que menciona, que de las 29 bacterias aisladas en su trabajo la *S. liquefaciens*, *E. cloacae*, *Enterobacter* fueron las bacterias multirresistentes con mayor índice de resistencia (MAR).

5. CONCLUSIONES

- Es posible que algunas de las bacterias aisladas hayan provenido de contaminación externa principalmente a partir de las heces dadas las condiciones en las cuales se realizó el lavado de vulva y vagina para poder obtener las muestras.
- La toma de muestras es una técnica de diagnóstico de gran utilidad en la práctica de medicina veterinaria, pero muy poco usada en camélidos sudamericanos domésticos especialmente en nuestro medio. Esta nos permite identificar hembras con endometritis de manera fácil y rápida, de esta forma se puede tomar la decisión de cruzar un animal que presente un útero en estado saludable, o identificar la causa de un proceso inflamatorio en curso, tratarla y cruzarla en ciclos posteriores. De esta forma se puede optimizar la eficiencia reproductiva de estos animales, ya que se aumentarían los porcentajes de preñez de aquellas con inflamación moderada y severa, que son previamente diagnosticadas y tratadas.
- El tiempo de duración de la monta (25 – 60 min) podría ser un predisponente a las infecciones del útero ya que dicho acto puede provocar edema, inflamación e hiperemia en el útero siendo este un ambiente óptimo para la proliferación de bacterias.
- Con respecto al tipo de aislamiento, los datos confirman los resultados obtenidos por otros autores al mencionar que *E. coli* es uno de los principales gérmenes bacterianos oportunistas que forma parte de la flora normal de la vagina, pudiendo colonizar útero si se le da las condiciones. Por otro lado se asume que tanto los géneros de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Bacillus megaterium* son microorganismos relacionados con la endometritis en camélidos.
- Por último se concluye que la presencia de bacterias en útero, vagina y pene tienen efectos negativos sobre la fertilidad de hembras de camélidos sudamericanos domésticos. Por lo

tanto se acepta la hipótesis que la fertilidad disminuye con la presencia de algunas bacterias patógenas.

6. RECOMENDACIONES

- Se hace imperativo continuar en estos estudios con el objeto de correlacionar la presencia de microflora patógena con efectos directos sobre el embrión, el microambiente oviductal y uterino, las cuales podrían contrarrestar parcialmente la mortalidad embrionaria.
- Se requiere iniciar nuevos estudios con el objeto de identificar la microflora bacteriana en edad juvenil de los animales, asimismo realizar el mismo estudio en otras especies de camélidos sudamericanos.
- Sería conveniente realizar cultivo bacteriológico a todas las hembras reproductoras dos meses antes de entrar al empadre con el objeto de identificar aquellas bacterias patógenas persistentes e instaurar tratamiento local o parenteral para disminuir la carga bacteriana antes de realizar cualquier procedimiento de cruce.
- También se recomienda iniciar un tratamiento con antibióticos establecidos tanto a hembras como a macho dos semanas antes de los empadres de monta natural controlada para prevenir cualquier persistencia de agente infeccioso en vagina, útero y pene.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABABNEH, M.M. y DEGEFA, T. Bacteriological findings and hormonal profiles in the postpartum balady goats. *Reprod. Dom. Anim.* 41: 12-16. 2006.
2. ALBA, L.O. y SILVEIRA, E.A. La leucorrea vaginal bovina de carácter no inflamatorio y su significación clínica. [En línea]. *Rev. Electr. de Vet. REDVET.* VII (10). Octubre 2006: [Fecha de consulta 29 de abril de 2014 http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101_006.html].
3. ALI, A.; AL-SOBAYIL, F.A.; THARWAT, M.; AL-HAWAS, A., AND AHMED, A.F. *Causes of Infertility in Female Camels (Camelus dromedarius) in Middle of Saudi Arabia.* *Journal of Agricultural and Veterinary Sciences, Qassim University, Vol. 2, No. 2, pp. 59-66 (January 2010).*
4. ALMOND, G.W.; FLOWERS, W.L.; BATISTA, L. y D'ALLAIRE, S., *Diseases of the reproductive system.* In: Straw, B.E., Zimmerman, J.J., D'Allaire, S., Taylor, D.J. (Eds.), *Diseases of Swine, ninth edition: Blackwell Publishing, Ames, pp. 113–147. 2006.*
5. ALLER, J. Reproducción en camélidos sudamericanos (capítulo IX) [en línea]. INTA, Argentina. p 214-216. 2009. Disponible en: fvet.edu.uy
6. ALTAMIRANDA, J. y WELSH VALOYES, LA. *Microbiología General*, [en línea]. Tema Nro. 2. Cultivo de microorganismos. p 1. 2010 - [fecha de consulta: 24 julio 2015]

7. AQUIHUALT, M^A.; VOLKE, T.; PRADO, L. y SHIRAI, K.. Manual de prácticas de laboratorio Microbiología General. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. México D.F. p 17. 2012
8. AVALOS LÓPEZ T. Y., Determinación de la flora bacteriana aeróbica normal en vagina de vaquillas. Tesis de grado (Médico veterinario zootecnista). Torreón - México, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 2014. 21 p.
9. BONACIC, C. Características biológicas y productivas de los camélidos sudamericanos (en línea). Chile: 2001. Avances en ciencias veterinarias. Vol. 6, No. 2. [fecha de consulta: 3 dic. 2015]. Disponible en <http://www.avancesveterinaria.uchile.cl/index.php/ACV/article/viewArticle/4642/452>.
10. BOSCÁN, J.; ZAMBRANO, S.; NAVA, J. y PORTILLO, G. Perfil de la flora bacteriana vaginal: Un riesgo potencial para la reproducción de vacas criollo limonero. Revista Científica: *FCV-LUZ* / Vol. XX, (Nº 3): 20, 227–234. 09/2010.
11. BJURSTROM, L. y LINDE-FORSBERG, C., Long-term study of aerobic bacteria of the genital tract in stud dogs. *American journal of veterinary research*. Res. 53 (5): pp 670–673. 1992.
12. BRAVO, PW.; MAYTA, M. y ORDOÑEZ, C. A. Growth of the conceptus in alpacas. *American journal of veterinary research*. 61 (12): 1508-1511. 2000.
13. BROWN, B. W. A review on reproduction in South American camelids. *Animal reproduction science*, 58 (3): 169-195. 2000
14. CALVO, G.; ARIAS, M. y FERNÁNDEZ, H. Arcobacter: un patógeno emergente de origen alimentario. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 63 (2): 164. 2013.

15. CARDOZO, A. El complejo de cría, producción e industrialización de camélidos en el cantón Turco. Publicación Digital Saberes Bolivianos 2012.
16. CAUSEY, R.C. Making sense of equine uterine infections: the many faces of physical clearance. *The Veterinary Journal*. 172: 405–421. 2006.
17. CAYUL, A. A. Estudio de resistencia a antimicrobianos de uso frecuente en medicina veterinaria, de patógenos bacterianos aislados de metritis bovina en rebaños lecheros en la decima región. Tesis de grado (Médico veterinario). Valdivia - Chile. Universidad Austral de Chile. 2003. 60 p.
18. CEBRA, C.; ANDERSON, D. E.; TIBARY, A.; VAN SAUN, R. J. Y JOHNSON, L. W. *Llama and Alpaca Care: Medicine, Surgery, Reproduction, Nutrition, and Herd Health*. Canada: Elsevier Health Sciences, 2014.
19. CERCENADO E.; CANTÓN R. Procedimientos en Microbiología Clínica. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2010.
20. CHIRI, R. Determinación de la Mortalidad Embrionaria y fetal en llamas. Tesis de grado (Ingeniero Agrónomo). Centro Experimental Agropecuario Condoriri - FCAP UTO. Oruro - Bolivia. 1994
21. CHIRI, R. Estudio anatómico del aparato reproductor femenino de la llama. *Informe anual de Investigaciones IDH* Dirección de Postgrado e Investigación Científica, BANCAMEL INIAF. FCAPV UTO. 2009

22. DASCANIO, J. W. y LEY, J BOWEN. How to perform and interpret uterine cytology. *Proceeding of the 43rd Annual Convention American Association Equine Practitioners*. p. 43, 182-186. 1997
23. DE LAMO, D. *Camélidos Sudamericanos, Historia usos y sanidad animal*. Ciudad Autónoma de Bs. Aires: SENASA, 2011.
24. DELLEPIANE H.; MORALES S. Enterobacterias aisladas en mucosa uterina pre copula de alpaca (*Vicugna pacos*) en Cerro de Pasco. VII WORLD CONGRESS ON SOUTH AMERICAN CAMELIDS. Conference Paper. Puno – Perú. pp 50-53. Octubre 2015.
25. EGEY, J. Camélidos sudamericanos. [en línea]. Info. Vet. Buenos Aires: 2004 N° 62. Documento electrónico. Sitio argentino de producción animal. URL http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_de_camelidos/camelidos_general/13-camelidos_sudamericanos.pdf.
26. ESTEVEZ, R. *Pruebas Bioquímicas de Microbiología*. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Medicina laboratorio de patología. Informe de laboratorio. La Paz - Bolivia. 2014.
27. FELDMAN, E.C. y NELSON, R. W., *Endocrinología y Reproducción en perros y gatos*. Segunda Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. 2000.
28. FERNÁNDEZ, B. Manipulation of reproductive functions in male and female New World camelids. *Animal Reproduction Science*. [33: 1–4](#), October 1993.
29. FERNÁNDEZ, A.; SILVEIRA, E.A. Y LÓPEZ, O.F. Las infecciones uterinas en la hembra bovina. [en línea]. *Revista Electrónica de Veterinaria*. REDVET. VII, (10).

Octubre: 2006. [fecha de consulta: 17 de agosto de 2013].
<http://www.redalyc.org/revista.oa?id=636>.

30. FOWLER, M.E. *Medicine and surgery of South American camelids: llama, alpaca, vicuña, guanaco*. (2). Iowa State University Press. 1998.
31. FRANK, N.E. *Curso de manejo reproductivo de camélidos sudamericanos domésticos*. Universidad Católica de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias. PLANCAD, pp. 3–5. 1997
32. GARCÍA M. y MENÉNDEZ M^a. *Técnicas avanzadas en microbiología, Comparación de secuencias, Identificación y Tipificación, Medicina Preventiva, Salud Pública y Microbiología*, Facultad de Medicina. UAM., p 3. 2010.
33. [GENTILINI, E.](#); [DENAMIEL, G.](#); [BETANCOR, A.](#); [REBUERTO, M.](#); [RODRIGUEZ, M.](#); [FERMEPIN[†]](#) Y [DE TORRES, R.[‡]](#). Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative *Staphylococci* isolated from bovine mastitis in Argentina. *American Dairy Science Association*. 85: 1913-1917. 2000
34. GOBERNADO, M. y LÓPEZ-HONTANGAS, J.L. *Identificación bacteriana. Presente y futuro de la microbiología clínica*. Servicio de Microbiología. Hospital La Fe. Valencia. España. p 54-55. 2003
35. HUANCA, W. Los desafíos en el manejo reproductivo de los camélidos sudamericanos. *Sitio Argentino de Producción Animal* [En línea]. Perú: 2013 [fecha de consulta: 24 junio 2016]
http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_de_camelidos/reproduccion/37-manejo_reproductivo.pdf].

- 36.** HUMPHREY, J.D.; LITTLE, P.B.; STEPHENS, L.R.; BARNUM, D.A.; DOIG, P.A. AND THORSEN, J. Prevalence and distribution of *Haemophilus somnus* in the male bovine reproductive tract. *American journal of veterinary research*, 43(5): 791-795. 1982.
- 37.** JARVINEN, J. A. y KINYON, J. M. Preputial microflora of llamas (*Lama glama*) and alpacas (*Vicugna pacos*). *Small Ruminant Research*. 90: 156-160. 2010.
- 38.** JIMÉNEZ, P.; EVELYN, C. Y VÁZQUEZ, M. Camélidos sudamericanos: Clasificación, Origen y Características. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 4 (1): pp. 24-36. 2010.
- 39.** JOHNSON, S.; LOWENSTINE, L.; GULLAND, F.; JANG, S.; IMAI, D.; ALMY, F.; DELONG, R. y GARDNER, I. Aerobic bacterial flora of the vagina and prepuce of California sea lions (*Zalophus californianus*) and investigation of associations with urogenital carcinoma. *Veterinary microbiology*, 114(1): 94-103. 2006.
- 40.** KANEENE, JB; COE, PH; JH SMITH; P. RAPNICKI; CL. SMITH; B. GERLOFF; DAMORROW. Drug residues in milk after intrauterine injection of oxtetracycline, lincomycin – spectinomycin, and povidone iodine in cows with metritis. *American Journal Research*. 47: 1363 – 1365. 1992.
- 41.** LACOLLA, D. y CANELA, F. Diagnóstico de gestación por tacto rectal y ecografía en llama (*Lama glama*). [en línea]. Argentina: 2000. *Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Pampa*. <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/anuavet/n2000a28gauna.pdf>.
- 42.** LEÓN, E.; SATO, A.; NAVARRETE, M.; CISNEROS, J. Anatomía macroscópica, irrigación y drenaje venoso del aparato reproductor femenino de la llama (*Lama*

glama). Revista de investigación veterinaria. Perú: 2011 [en línea]. 22(1) [citado 2016-07-28], pp. 01-08. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S160991172011000100001&lng=es&nrm=iso>.ISSN1609-9117.

43. MÉNDEZ, D. C. Determinación de la microflora bacteriana uterina en vacas donantes de embriones. Tesis de grado (*Microbióloga agrícola y veterinaria*). Bogotá DC, Pontificia Universidad Javeriana. 2008 21-22 p. Fuente original: Madigan, M. Martinko, J. et al. Brock Biología de microorganismos. Editorial Prentice Hall, Madrid.
44. MÉNDEZ, D. C. Determinación de la microflora bacteriana uterina en vacas donantes de embriones. Tesis de grado (*Microbióloga agrícola y veterinaria*). Bogotá DC, Pontificia Universidad Javeriana. 2008. 21-22 p. Fuente original: Mattar, S. Melo, M. 1998. Bacteriología clínica: Estudio etiológico de las enfermedades infecciosas de origen bacteriana. Santa Fe de Bogotá-Colombia. Editorial Ceja. Tomo 1. p 278-322.
45. MÉNDEZ, D. C. Determinación de la microflora bacteriana uterina en vacas donantes de embriones. Tesis de grado (*Microbióloga agrícola y veterinaria*). Bogotá DC, Pontificia Universidad Javeriana. 2008. 21-22 p. Fuente original: Moat, A. Foster, J. 1988. Microbial Physiology. Second edition. United Stated of America. Editorial Jhon Wiley and Sons. Chapter. p 1-50.
46. MÉNDEZ, D. C. Determinación de la microflora bacteriana uterina en vacas donantes de embriones. Tesis de grado (*Microbióloga agrícola y veterinaria*). Bogotá DC, Pontificia Universidad Javeriana. 2008. 24 p. Fuente original: Vadillo, S. Piriz, S. Manual de Microbiología Veterinaria. Editorial Mc Graw Hill Interamericana España. p 261-325.
47. MESA-CRUZ J. Patologías Relacionadas con el Tracto Reproductivo en Herbívoros, Carnívoros y Primates. Mem. Conf. Interna Med. Aprovech. Fauna Silv. Exót. Conv.

[en línea]. 2010 oct 15 [fecha de consulta 2016 jul 31]; 6 (2): 27 - 47. Disponible en: <http://veterinariosvs.org/pub/index.php/cima/article/view/10>

48. MITRO, S.J. Survey of Disease Issue Concerns on Alpaca and Llama Farms. College of Veterinary Medicine The Ohio State University. Jun. 2003. 1-2 p.
49. MONROY, M. La Adaptación de los animales a la altura [en línea]. Lima, Perú. 2011. Disponible en: http://altitudchulec.blogspot.com/2011_02_01_archive.html.
www.fao.org
50. MSHELIA, G.; OKPAJE, G.; VOLTAIRE, Y.; y EGWU, G. Comparative studies on genital infections and antimicrobial susceptibility patterns of isolates from camels (*Camelus dromedarius*) and cows (*Bos indicus*) in Maiduguri, north-eastern Nigeria. *Springer Plus – Springer Open Journal*. 2014. pp 3:91.
51. OTERO, C.; SAAVEDRA, L.; SILVA DE RUIZ, C.; WILDE, O.; HOLGADO, A.R.; NADER-MACÍAS, M.E. Vaginal bacterial microflora modifications during the growth of healthy cows. *Letters in Applied Microbiology* 31 (3): 251-254. 2000. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2672.2000.00809.x/full>
52. PANANGALA, V.S.; FISH, N.A.; BARNUM, D.A. Microflora of the cervico-vaginal mucus of repeat breeder cows. [en línea] 1978. *The Canadian Veterinary Journal*. 19 (4) 83. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1789384/>.
53. PACHECO, J.; VÉLEZ, V.; ZEA, O.; PEZO, D. y FRANCO, F. 2013. Eficiencia del empadre controlado en llamas (*Lama glama*) de la Estación Experimental Ivita Maranganí. *Asociación Peruana de Producción Animal - SPERMOVA*. 3 (1): 79-80. 2013.

54. PREPARED BY AAA INC. EDUCATION & TRAINING SUB-COMMITTEE, 2008. Body condition score (BCS) of alpacas [en línea]. URL <http://www.alpaca.asn.au/docs/about/info/4bodycondition.pdf>
55. PURDY, ER. Diagnosis and treatment of Uterine Infections in Alpacas. The Camelid Quarterly. mar. 2002: 1-3 p.
56. PRESCOTT, L.; HARLEY, J.; KLEIN, D. Microbiología. Cuarta edición. McGraw-Hill Interamericana. 1999.
57. QUISPE, E. C.; RODRÍGUEZ, T. C.; IÑIGUEZ, L. R. Y MUELLER, J. P. *Producción de fibra de alpaca, llama, vicuña y guanaco en Sudamérica*. Animal Genetic Resources Information, 2009.
58. RAGGI, S.; ULLRICH, T.; CASTELLARO, G.; ZOLEZZI, M.; ROJAS R.; FERRANDO, R.; PARRAGUEZ V. H. Utilización de diferentes métodos de diagnóstico de gestación, en un rebaño experimental de alpacas (*Lama pacos*) y llamas (*Lama glama*) en el altiplano de la I región de Chile. Avances en Ciencias Veterinarias. 11(1). 1996. [Fecha de consulta: 27 jul. 2016] Disponible en: <<http://www.revistas.uchile.cl/index.php/ACV/article/view/4760/4645>>
59. ROSS, H. J. Bacterial and fungal organisms in the vagina of normal cows and cows with vaginitis. [on line]. December: 2003. Masters Thesis (Veterinary Microbiology). Office of Graduate Studies of Texas A&M University. December. Available: 17 de agosto de 2014. <http://www.researchgate.net/>.
60. ROJAS, Z. Evaluación de la especificidad de dos métodos moleculares para la identificación de especies pertenecientes al género *Arcobacter*. Tesis de grado

(Licenciado en Ciencias Biológicas). Valdivia - Chile, Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Escuela de Ciencias Biológicas. 2011. 3-5 p.

61. SAN MARTÍN, B.; H. CAÑÓN. Resistencia bacteriana: un problema mundial en medicina veterinaria y humana. *Monografías de Medicina Veterinaria*. 20 (2): 17-25. 1991.
62. SATO, A. y ORTEGA, L. Aparato reproductor de la alpaca (*Lama pacos*). Anatomía Macroscópica. *Revista de Camélidos Sudamericanos* 7. Universidad Nacional M. de San Marcos, Lima Perú. 1990.
63. SHELDON, I.; NOAKES, D.; RYCROFT, A.; PFEIFFER, D. y DOBSON, H. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Society for Reproduction and Fertility*. 123 (6): p 9. 2002.
64. SUMANO, H.S. y L. OCAMPO. Farmacología Veterinaria 2ª ed., México, McGraw-Hill Interamericana 1997. pp. 680.
65. TIBARY, A. y ANOUASSI, A. Desordenes reproductivos en la hembra camélida. *Avances recientes en la reproducción de camélidos*. Eds. JA Skidmore y GP Adams. Servicio Internacional de Información Veterinaria. 11/2000.
66. TIBARY, A.; FITE, C.; [ANOUASSI, A.](#) y [SGHIRI, A.](#) 2006. Infectious causes of reproductive loss in camelids. *Theriogenology* 66 (3): pp 633-647. May. 2006.
67. TIBARY, A. y ANOUASSI, A. Uterine Infections in Camelidae. *Veterinary Sciences Tomorrow*. Department of Veterinary Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Washington State University, Pullman: p 4. august 2001.

68. TRIGOSO, C. Bacteriología Básica - Biblioteca de Medicina. Tomo 1 - Segunda edición. Universidad Mayor de San Andrés. 2013.
69. VANEGAS, M.; CORREA, N.; MORALES, A.; MARTÍNEZ, A.; RÚGELES, L. Y JIMÉNEZ, F. Resistencia a antibióticos de bacterias aisladas de biopelículas en una planta de alimentos. *Córdoba* 14(2):1677-1683, julio, 2009.
70. VAUGHAN, J.L. y TIBARY, A. Reproduction in female South American camelids: A review and clinical observations. *Small Ruminant Research*. 61: 259–281. september 2005.
71. VIZCARRONDO, M. y DE. GAMBOA, S. Identificación microbiana mediante métodos basados en sistema de utilización de sustratos, inmunoensayos y detección molecular. p 2-4. 2008.
72. WALKER, R.L. y LEAMASTER, B.R. Prevalence of *Histophilus ovis* and *Actinobacillus seminis* in the genital tract of sheep. *American journal of veterinary research*. 47(9): 1928-1930. 1986.

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1.	Fotografías	Pág.
Fotografía 1	Explicación para realizar la toma de muestras al personal técnico y trabajadores del Centro Experimental Agropecuario Condoriri (CEAC), minutos antes de proceder a la toma de muestras. Fotógrafo: Ing. Zenobio Villca – Fuente: Jherson Jiménez).	1
Fotografía 2	Envolviendo la cola de las hembras para la toma de muestras tanto de útero como de vagina en el CEAC. Fotógrafo: Ing. Zenobio Villca – Fuente: Jherson Jiménez).	1
Fotografía 3	Limpieza de la zona perianal y vulva de la hembra con solución iodada. Fotógrafo: Jherson Jiménez – Fuente: Jherson Jiménez.	2
Fotografía 4	Realizando la toma de muestras de la mucosa vaginal (CEAC). Fotógrafo: Ing. Zenobio Villca – Fuente: Jherson Jiménez.	2
Fotografía 5	Toma de muestras uterinas con la ayuda de una torula bacteriológica a través de un vaginoscopio de ovinos, CEAC. Fotógrafo: Wendy Irusta – Fuente: Jherson Jiménez).	3
Fotografía 6	Toma de muestra de mucosa prepucial en el CEAC. Fotógrafo: Wendy Irusta – Fuente: Jherson Jiménez.	3

Fotografía 7	Siembra de las muestras tomadas en el laboratorio de Microbiología del Departamento de Patología de la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA). Fotógrafo: Dr. Remo Estévez - Fuente: Jherson Jiménez.	4
Fotografía 8	Incubación de las siembras bacteriológicas – (UMSA). Fotógrafo: Dr. Remo Estévez - Fuente: Jherson Jiménez.	4
Fotografía 9	Crecimiento y desarrollo bacteriano, (UMSA). Fotógrafo: Dr. Remo Estévez - Fuente: Jherson Jiménez.	5
Fotografía 10	Crecimiento y desarrollo bacteriano, (UMSA), Fotógrafo: Jherson Jiménez - Fuente: Jherson Jiménez.	5
Fotografía 11	Uso de la tinción Gram para la identificación de bacterias Gram (+) y Gram (-), UMSA. Fotógrafo: Dr. Remo Estévez - Fuente: Jherson Jiménez.	6
Fotografía 12	Dr. Remo Estévez supervisando el trabajo realizado en laboratorio, (UMSA). Fotógrafo: Jherson Jiménez - Fuente: Jherson Jiménez.	6
ANEXO 2.	Medios de cultivo – Pruebas bioquímicas	7
Anexo 2.1.	Caldo BHI (OXOID)	7
Anexo 2.1.1.	Preparación	7
Anexo 2.1.2.	Descripción	7

Anexo 2.1.3.	Condiciones de conservación y tiempo de vida	8
Anexo 2.2.	Mac Conkey (OXOID)	8
Anexo 2.2.1.	Fundamento	8
Anexo 2.2.2.	Preparación	9
Anexo 2.2.3.	Técnica	9
Anexo 2.3.	Agar nutritivo	9
Anexo 2.3.1.	Preparación	10
Anexo 2.3.2.	Forma de las colonias	10
Anexo 2.4.	Medio agar sangre (hemolisis)	10
Anexo 2.4.1.	Fundamento	10

Anexo 2.4.2.	Preparación	11
Anexo 2.4.3.	Técnica	11
Anexo 2.4.4.	Interpretación	11
Anexo 2.5.	Agar Sal Manitol	12
Anexo 2.5.1.	Fundamento	12
Anexo 2.5.2.	Preparación	13
Anexo 2.5.3.	Técnica	13
Anexo 2.6.	Prueba de la catalasa	13
Anexo 2.6.1.	Fundamento	13
Anexo 2.6.2.	Material y reactivos	13
Anexo 2.6.3.	Método	14

Anexo 2.7.	Oxidasa	14
Anexo 2.7.1.	Fundamento	14
Anexo 2.7.2.	Preparación	14
Anexo 2.7.3.	Técnica	15
Anexo 2.8.	Producción de coagulasa	15
Anexo 2.8.1.	Procedimiento	15
Anexo 2.8.2.	Interpretación	15
Anexo 2.9.	Pruebas bioquímicas	16
Anexo 2.9.1.	Agar Citrato SIMMONS (OXOID)	16
Anexo 2.9.1.1	Fundamento	16

Anexo 2.9.1.2.	Preparación	17
Anexo 2.9.1.3.	Técnica	17
Anexo 2.9.2.	Agar lisina hierro (LIA) (BBL)	17
Anexo 2.9.2.1.	Fundamento	17
Anexo 2.9.2.2.	Preparación	18
Anexo 2.9.2.3.	Técnica	18
Anexo 2.9.2.4.	Interpretación	19
Anexo 2.9.3.	Triple azúcar hierro (TSI) (OXOID)	19
Anexo 2.9.3.1.	Fundamento	19
Anexo 2.9.3.2.	Preparación	20
Anexo 2.9.3.3.	Técnica	21

Anexo 2.9.4.	Nitritos	22
Anexo 2.9.4.1.	Reactivos Erlich	22
Anexo 2.9.4.2.	Preparación	22
Anexo 2.9.4.3.	Técnica	22
Anexo 2.9.5.	Medios con azúcares	23
Anexo 2.9.5.1.	Preparación del medio	23
Anexo 2.9.5.2.	Técnica	23
Anexo 2.9.5.3.	Interpretación	23
Anexo 2.9.6.	Tinción de Gram (MERCK)	24
Anexo 2.9.6.1.	Reactivos	24

Anexo 2.9.6.2.	Técnica	25
Anexo 2.9.7.	Agar XLD	26
Anexo 2.9.7.1.	Composición	26
Anexo 2.9.7.2.	Preparación	27
Anexo 2.9.8.	Agar Levine o agar EMB Levine	27
Anexo 2.9.8.1.	Composición	28
Anexo 2.9.9.	Agar Salmonella Shigella	28
Anexo 2.9.9.1.	Fundamento	28
Anexo 2.9.9.2.	Siembra	30
Anexo 2.9.9.3.	Incubación	30
Anexo 2.9.10.	Voges-Proskauer	30

Anexo 2.9.10.1.	Objeto	30
Anexo 2.9.10.2.	Fundamento	30
Anexo 2.9.10.3.	Principio	31
Anexo 2.9.11.	Urea	31
Anexo 2.9.11.1.	Objeto	31
Anexo 2.9.11.2.	Fundamento	32
Anexo 2.9.11.3.	Principio	32
Anexo 2.9.11.4.	Método en caldo	32

ANEXOS

ANEXO 1. Fotografías



Fotografía 1. Explicación para realizar la toma de muestras al personal técnico y trabajadores del Centro Experimental Agropecuario Condoriri (CEAC), minutos antes de proceder a la toma de muestras. Fotógrafo: Ing. Zenobio Villca – Fuente: Jherson Jiménez).



Fotografía 2. Envolviendo la cola de las hembras para la toma de muestras tanto de útero como de vagina en el CEAC. Fotógrafo: Ing. Zenobio Villca – Fuente: Jherson Jiménez).



Fotografía 3. Limpieza de la zona perianal y vulva de la hembra con solución iodada.

Fotógrafo: Jherson Jiménez – Fuente: Jherson Jiménez.



Fotografía 4. Realizando la toma de muestras de la mucosa vaginal (CEAC).

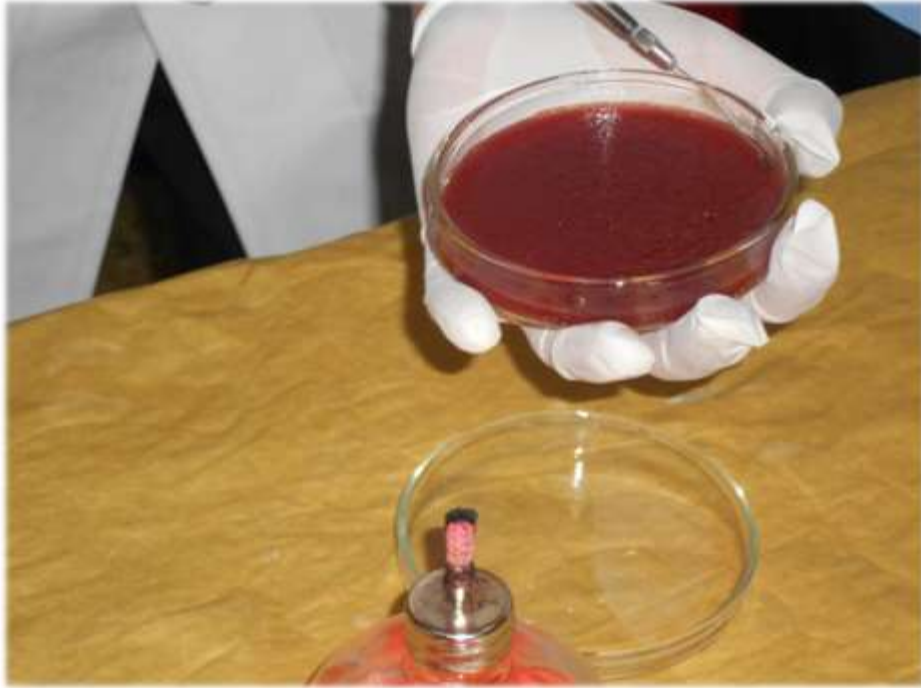
Fotógrafo: Ing. Zenobio Villca – Fuente: Jherson Jiménez.



Fotografía 5. Toma de muestras uterinas con la ayuda de una torula bacteriológica a través de un vaginoscopio de ovinos, CEAC. Fotógrafo: Wendy Irusta – Fuente: Jherson Jiménez).



Fotografía 6. Toma de muestra de mucosa prepucial en el CEAC. Fotógrafo: Wendy Irusta – Fuente: Jherson Jiménez.



Fotografía 7. Siembra de las muestras tomadas en el laboratorio de Microbiología del Departamento de Patología de la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA).
Fotógrafo: Dr. Remo Estévez - Fuente: Jherson Jiménez.



Fotografía 8. Incubación de las siembras bacteriológicas – (UMSA). Fotógrafo: Dr. Remo Estévez - Fuente: Jherson Jiménez.



Fotografía 9. Crecimiento y desarrollo bacteriano, (UMSA). Fotógrafo: Dr. Remo Estévez - Fuente: Jherson Jiménez.



Fotografía 10. Crecimiento y desarrollo bacteriano, (UMSA), Fotógrafo: Jherson Jiménez - Fuente: Jherson Jiménez.



Fotografía 11. Uso de la tinción Gram para la identificación de bacterias Gram (+) y Gram (-), UMSA. Fotógrafo: Dr. Remo Estévez - Fuente: Jherson Jiménez.



Fotografía 12. Dr. Remo Estévez supervisando el trabajo realizado en laboratorio, (UMSA). Fotógrafo: Jherson Jiménez - Fuente: Jherson Jiménez.

ANEXO 2. Medios de cultivo – Pruebas bioquímicas

2.1. Caldo BHI (OXOID)

Composición (g/litro)

infusión de sólidos de cerebro bovino	112.5
Infusión sólidos de cerebro de ternera	5.0
Proteasa peptona	10.0
Glucosa	2.0
Cloruro sódico	5.0
Fosfato sódico	2.5
pH	7.4

Fuente: Estévez. R. 2014

2.1.1. Preparación

Disolver 37 g, en un litro de agua destilada, mezclar bien y distribuir en recipientes finales, esterilizar en autoclave a 121 °C, 15 minutos.

2.1.2. Descripción

Medio líquido útil para el cultivo de *Streptococcus*, *Pneumococos*, *Meningococos* y otros organismos exigentes. Este medio se recomienda para hemocultivo, es útil para cultivar y suspender *Staphylococcus* para la prueba de coagulasa, Newman empleo un medio similar para el estudio de intoxicación alimentarias producidas por derivados de la leche.

El caldo corazón cerebro suplementado con extracto de levaduras y menadiona es superior en el crecimiento de cinco especies de Bacteroides, que los caldos de anaerobios estándar. El examen microscopio de los cultivos de 18 horas muestra en este medio su morfología normal, mientras que esto no ocurre en caldos de anaerobios.

2.1.3. Condiciones de conservación y tiempo de vida

El medio deshidratado debe conservarse a menos de 25 °C y utilizado antes de la fecha de caducidad expresada en la etiqueta.

Los tubos y frascos con el medio conservar en ambientes con oscuridad y por debajo de 20 °C.

2.2. Mac Conkey (OXOID)

2.2.1. Fundamento

Es un medio diferencial para determinar patógenos intestinales en agua, productos lácteos y muestras biológicas y coliformes, es recomendado para el aislamiento de muestras tales como orina, heces e hisopos de heridas. Contiene peptona como base nutriente, una sal biliar que impide el desarrollo de microorganismos que no sean Entéricos, lactosa que es el azúcar del medio y rojo neutro como indicador de La lactosa.

Composición (g/litro)

Peptona	20.0
Lactosa	10.0
Sales biliares	5.0
Cloruro sodico	5.0
Rojo neutro	0.075
Agar	12.0
pH	7.4

Fuente: Estévez. R. 2014

2.2.2. Preparación

Agregar los 52 g de la composición a un litro de agua destilada, llevar a ebullición hasta disolución completa, esterilizar en autoclave 121°C por 15 min, luego se versa en cajas de petri.

2.2.3. Técnica

Este medio se sembró por aislamiento de la cepa que se aisló del caldo BHI, se incubaron a 24 horas a 37°C obteniendo colonias con las siguientes características:

organismo	color	observaciones
<i>Escherichia coli</i>	Rojo	No mucoide
<i>Aerobacter aerogenes</i>	Rosa	Mucoide
<i>Enterococcus sp.</i>	Rojo	Diminuta redonda
<i>Staphylococcus sp.</i>	Rosa pálida	Opaca
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Verde - marrón	Crecimiento fluorescente

Fuente: Elaboración propia

2.3. Agar nutritivo

El agar nutritivo es un medio base utilizado en el subcultivo de organismos con fines de mantenimiento o comprobar su pureza en subcultivos, antes de ensayos bioquímicos o serológicos.

Composición (g/L)

Polvo lab lemco	1.0
Extracto de levadura	2.0
Peptona	5.0
Cloruro sódico	5.0
Agar	15.0
pH	7.4

Fuente: Estévez. R. 2014

2.3.1. Preparación

Agregar 28 gramos a un litro de agua destilada, llevar a ebullición hasta que el medio quede homogéneo, luego autoclavar a 121°C por 15 min.

2.3.2. Forma de las colonias

En el medio crece toda clase de microorganismos no exigentes en requerimiento nutritivo.

2.4. Medio agar sangre (hemolisis)

2.4.1. Fundamento

Es un medio con propiedades nutritivas que permite el crecimiento de la mayoría de microorganismos; adecuado para el crecimiento de patógenos muy exigentes que generan reacciones hemolíticas. (Mattar y melo, 1998).

Composición (g/litro)

Triptona	14
Peptona	4.5
Extracto de levadura	4.5
Cloruro de sodio	5.0
Agar - agar	12.5

Fuente: Estévez. R. 2014

2.4.2. Preparación

Suspender 40 g en un litro de agua destilada y llevar a ebullición hasta su completa disolución no dejando que hierva el medio y constantemente revolviéndolo. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos, dejamos enfriar a 50 °C y agregamos asépticamente 7% (v/v) de sangre de cordero estéril. Versar en cajas de petri y almacenar en refrigeración hasta su uso, (Estévez, 2014)

2.4.3. Técnica

La muestra se sembró por aislamiento en duplicado, y en otras dos cajas se sembró masivo, y se llevó a incubar a 37 °C por 24 horas.

2.4.4. Interpretación

La hemólisis producida en glóbulos rojos de cordero puede ser:

α hemolisis: cuando los eritrocitos se lisan completamente alrededor de la colonia, produciendo un viraje a verde-marrón del medio de cultivo. (*Staphylococcus pneumoniae* o *Staphylococcus viridans*).

β hemolisis: una zona clara decolorada alrededor de la colonia, por destrucción total de los eritrocitos puede observarse perfectamente (*Staphylococcus pyogenes* grupo B o *Staphylococcus agalactiae*).

Gamma hemolisis: no hay actividad hemolítica aparente (*Staphylococcus viridans* o *Enterococcus*)

2.5. Agar Sal Manitol

2.5.1. Fundamento

Medio selectivo, preparado con las recomendaciones de Chapman para el aislamiento de *Staphylococcus* que se suponen patógenos. La mayoría de las bacterias se inhiben por la concentración de sal, con la excepción de algunas bacterias halófilas.

Se recomienda para la detección y enumeración de los *Staphylococcus* coagulasa positivo en leches, alimentos y otras muestras.

Composición (g/l)

Lab lemco en polvo	1.0
Peptona	10.0
Manitol	10.0
Cloruro de sodio	75.0
Rojo de fenol	0.025
Agar	15.0
pH	7.5

Fuente: Estévez. R. 2014

2.5.2. Preparación

Se suspenden 111 gramos en un litro de agua destilada y se hierve hasta que el medio quede completamente homogéneo. Se esteriliza en autoclave a 121 °C durante 15 min.

2.5.3. Técnica

Se siembra el inóculo con asa curva en el medio y se incuba a 37°C por 24 horas y si las colonias crecen muy despacio es necesario dejar el medio nuevamente en incubadora.

Aspectos de la colonia

<i>Staphylococcus</i> coagulasa positivo	Colonias con zonas brillantes amarillas
Coagulasa negativa	Colonias rodeadas de una zona rojo purpura

Fuente: Estévez. R. 2014

2.6. Prueba de la catalasa

2.6.1. Fundamento

La catalasa es una enzima que poseen la mayoría de las bacterias aerobias. Descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. El desprendimiento de burbujas procedentes del oxígeno indica que la prueba es positiva.

2.6.2. Material y reactivos

- Portaobjetos.
- H₂O₂ de 10 volúmenes cultivos en fase exponencial de bacterias.
- Ansas e hilos de siembra.

- Pipetas Pasteur

2.6.3. Método

- a) Colocar una gota de agua oxigenada sobre un portaobjetos con ayuda de una pipeta Pasteur.
- b) Suspender la bacteria
- c) Detectar la formación de burbujas

2.7. Oxidasa

2.7.1. Fundamento

Determina la presencia del citocromo C, El citocromo C oxida al NNN'N',tetrametil,1-4, fenilendiamina (solución acuosa al 1% (p/v).

2.7.2. Preparación

Una solución reciente de 0,5% de clorhidrato de tetrametilparafenileno diamina es el más sensible de los reactivos disponibles.

Una solución acuosa al 0,5 % de oxalato de para-aminodimetilanalina es bastante sensible y comparativamente estable.

Algunas firmas ofrecen tiras preparadas para la prueba de la oxidasa, sin embargo no todas ellas son tan sensibles como los reactivos líquidos y en el caso de *Pasteurella multocida*, un microorganismo patógeno muy corriente en veterinaria, puede dar reacción negativa.

2.7.3. Técnica

Agrega unas gotas de reactivo líquido directamente al cultivo en placas de agar sangre o extender algunas colonias sobre una toallita de papel y se agrega el reactivo.

Las colonias que producen citocromo oxidasa, tras algunos minutos, toman un tinte rosa y después rojo y a veces negro. Las tiras dan una coloración rosa evidente o un color púrpura, la colonia se debe incubar a 37°C, ya que se retrasa la reacción cuando está a temperatura ambiente.

2.8. Producción de coagulasa

Esta prueba es usada para la identificación de *Staphylococcus* patógenos más comunes como el *Staphylococcus aureus* en humanos (Sánchez, 1998)

2.8.1. Procedimiento

Esta prueba debe realizarse en tubo inclinado plasma humano o de conejo estéril, se prepara una suspensión de varias colonias de un cultivo que tenga 18 a 24 horas de incubación, en 0,5 ml de caldo nutritivo (OXOID), agregamos 1 ml de plasma fresco e incubar a 37 °C.

2.8.2. Interpretación

Se observa a partir de las cuatro horas siguientes para ver la formación de coágulos. Generalmente el *Staphylococcus aureus* puede coagular el plasma en este tiempo, algunas veces se demora de 8 a 16 horas. Si el tiempo se prolonga más de un día incubando la muestra, debemos tener en cuenta la producción de estafiloquinasa por algunas cepas, lisando el coagulo mostrando resultados falsos negativos. (Sánchez, 1998)

2.9. Pruebas bioquímicas

2.9.1. Agar Citrato SIMMONS (OXOID)

Es utilizado para la diferenciación de bacterias gram negativas sobre la base la utilización del citrato. Koser en 1923, desarrollo un medio líquido consistente de sales inorgánicas en las cuales la sal de amonio fue la única fuente de nitrógeno y el citrato la única fuente de carbono para diferenciar especialmente las cepas de *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes* como parte de las reacciones INVIC.

2.9.1.1. Fundamento

Los organismos hábiles para utilizar el amonio dihidrogeno fosfato y el citrato de sodio como la única fuente de nitrógeno y carbono, pueden crecer sobre este medio, producen una reacción alcalina donde vira el color del indicador azul de bromotimol de verde (neutro) a azul turquesa (alcalino).

Composición (g/litro)

Amonio dihidrogeno fosfato	1.0
Fosfato dipotasico	1.0
Citrato de sodio	2.0
Cloruro de sodio	5.0
Sulfato de magnesio	0.2
Agar	15.0
Azul de bromotimol	0.08

Fuente: Estévez. R. 2014

2.9.1.2. Preparación

Suspender 24,2 g de medio en un litro de agua destilada, se disuelve calentándolo; luego se distribuyen cantidades aproximadamente 5 ml en tubos de ensayo tapa rosca y se esteriliza a 121° por 15 min, que posteriormente se deja solidificar de manera inclinada y se almacenan en refrigeración hasta su uso.

2.9.1.3. Técnica

Se siembra en el medio la muestra por picadura, y en la superficie se hace una estría, únicamente crecen en este agar los microorganismos capaces de utilizar el citrato como fuente de carbono.

Si hay solo crecimiento la prueba debe interpretarse como positiva indicando que la bacteria utilizo la fuente de carbono del citrato sódico, si el crecimiento está acompañado por un color azul turquesa indicara la presencia de productos alcalinos, originados por la acción de la bacteria sobre el fosfato de amonio extrayendo su nitrógeno y convirtiéndolo en un producto fuertemente básico que es el amonio, ocasionando un viraje del pH del medio.

Positivo	Color azul turquesa
negativo	Color verde (neutro)

2.9.2. Agar lisina hierro (LIA) (BBL)

2.9.2.1. Fundamento

Es útil para la demostración de lisina decarboxilasa (LD) y formación de ácido sulfhídrico para la identificación de la familia *Enterobacteriaceae*. La lisina al ser decarboxilada por microorganismos LD-positivos, se transforma en cadaverina, amina que en medio ácido

provoca el viraje del indicador púrpura de bromocresol, en el cual la lectura es K/K. Los microorganismos LD-negativo fermentadores de glucosa producirán un viraje a amarillo de la totalidad del medio, la lectura es A/A.

Los géneros *Proteus*, *Providencia* y *Morganella* desaminan la lisina generando ácido-acetocarbónico, que forma compuestos rojizos al mezclarse con sales de hierro en presencia de oxígeno, la lectura es R/A.

Composición (g/litro)

Gelatina pancreática digerida	5.0
Extracto de levadura	3.0
Dextrosa	1.0
L-lisina	10.0
Citrato amonio férrico	0.5
Tiosulfato sódico	0.04
Púrpura de bromocresol	0.02
agar	13.5

Fuente: Estévez. R. 2014

2.9.2.2. Preparación

Se suspenden 33 g de medio en un litro de agua destilada mezclado; seguidamente se calienta bajo constante agitación hasta que se disuelva por completo y es distribuido en tubos de ensayo, para ser esterilizados en autoclave a 121°C durante 15 minutos y dejar enfriar en posición inclinada.

2.9.2.3. Técnica

Este medio se inocula paralelamente a TSI y es llevado a incubar por 24 horas a 37°C.

2.9.2.4. Interpretación

Decarboxilacion de la lisina	Reacción alcalina púrpura en el fondo
Deaminacion de la lisina	Reacción de color rojo en el medio en la parte superior
Producción de sulfuro de hidrogeno	Presencia de precipitado negro
Reacción negativa	Púrpura en la superficie y amarilla en el fondo, indicando la fermentación de solamente la lactosa

Fuente: Estévez. R. 2014

2.9.3. Triple azúcar hierro (TSI) (OXOID)

2.9.3.1. Fundamento

El medio tiene como objetivo la diferenciación de enterobacterias; realizan o no 4 procesos bioquímicos a saber:

- **Fermentación de azúcares:** (lactosa, sacarosa, dextrosa) cuando se fermenta un azúcar este da un productor de carácter ácido lo cual hace que el medio vire.
- **Formación de H₂S:** algunos microorganismos transforman el tiosulfato de sodio en sulfuro de hidrogeno (H₂S) el cual reacciona con las sales de hierro que tiene el medio y forma un precipitado negro insoluble (sulfuro ferroso). Para que un microorganismo produzca H₂S necesariamente necesita un medio ácido, ya que en este medio se proporcionan los hidrogeniones (H⁺) que forman el H₂S, razón por la cual esta formación solo se da cuando el medio vira a amarillo (ácido por la fermentación).
- **Producción de CO₂ (gas):** algunos microorganismos no solo tienen la capacidad de fermentar los azúcares sino también de descarboxilarlos hasta CO₂, observándose

desplazamiento del medio, rompimiento de este o formación de burbujas.

- **Degradación aeróbica de aminoácidos:** en el slant del medio hay microorganismos que en presencia de oxígeno son capaces de desdoblar péptidos en aminoácidos, los cuales ricos en sus grupos amina (grupo básico) viran el color del medio a púrpura o rojizo.

Composición (g/litro)

Lab- lemco en polvo	3.0
Extracto de levadura	3.0
Peptona	20.0
Cloruro de sodio	5.0
Lactosa	10.0
Sacarosa	10.0
Dextrosa	1.0
Citrato férrico	0.3
Tiosulfato de sodio	0.3
agar	12.0

Fuente: Estévez. R. 2014

2.9.3.2. Preparación

Se suspende 60 g en 1 litro de agua destilada y se hierve hasta disolver el medio por completo. Se mezcla bien y es distribuido en cantidades de 5 ml aproximadamente en tubos de ensayo, luego se esteriliza a temperaturas no superiores a 121 °C durante 15 min, se deja que el agar solidifique manteniendo los tubos inclinados en ángulo de 45°, de forma que se forme una masa de picadura y una superficie inclinada.

2.9.3.3. Técnica

Empleando un asa recta, se toma la muestra de la colonia de un medio selectivo, se inocula el tubo de TSI, se lleva a incubación por 24 horas para la lectura posterior:

Identificación: Fermentación de azúcares

Positivo	Acido (color amarillo)
Negativo	Alcalino o no hay cambio (color púrpura para alcalino o naranja para no cambio)

Fermentación de H₂S

Positivo	Color negro
negativo	No color

Producción de CO₂

Positivo	Gas
negativo	No gas

Degradación de aminoácidos

Positivo	Púrpura
negativo	Cualquier otro color

Fuente: Estévez. R. 2014

2.9.4. Nitritos

2.9.4.1. Reactivos Erlich

Preparar 200 ml de solución de ácido acético 5 N mediante la adición de 56,8 ml de ácido glacial a 143 ml de agua. Se divide en dos partes de 100 ml cada uno.

Luego se agrega 0,8 g de ácido sulfanilico a 100 ml de ácido 9 acético 5 N, agregamos 0,5 g de 1-naftilamina a 100 ml.

2.9.4.2. Preparación

Añadir 2 g de agar a 25 g de medio indol nitrato y disolver en un litro de agua calentando, luego se distribuye de 5 ml aproximadamente, en tubos tapa rosca, esteriliza en autoclave a 121°C por 15 min, se deja enfriar los tubos en posición vertical.

2.9.4.3. Técnica

Sembrar por picadura en profundidad hasta la mitad del medio aproximadamente, luego de incubarse se le agrega 2 gotas del reactivo Erlich.

Positivo = Color rojo

- *Pseudomonas* - *Bacillus* pueden desnitrificar el nitrato; es decir pueden reducir el nitrato a nitrito y este a nitrógeno gaseoso.
- Cuando hay presencia de exceso de gas, desnitrificación que pueden ser sospechosos para muestras negativas, se le agrega a estos cultivos polvo de zinc.

positiva	negativa
Si después de la adición de zinc en polvo, produce un color rojo	La bacteria ha reducido los nitratos a nitrógeno gaseoso y el organismo recibe la denominación de nitrato positivo

Fuente: Estévez, R. 2014

2.9.5. Medios con azúcares

2.9.5.1. Preparación del medio

Suspender 28,5 g de medio CTA en un litro de agua destilada, se homogeniza y se distribuye en tubos de 5 ml tapa rosca, luego se esteriliza en autoclave a 121°C por 15 min.

2.9.5.2. Técnica

Se siembra los tubos, tomando la muestra y homogenizando la muestra continuamente para no perder nada de esta que se encuentre adherida al asa redonda, las reacciones se evidencian a las 24 o 48 horas.

2.9.5.3. Interpretación

Usualmente están constituidos por agua peptonada a la que se le ha adicionado determinado azúcar a una concentración de 1 %.

Para demostrar la fermentación se agrega un indicador (rojo neutro). El cambio de color indica la producción de ácido.

Los azúcares son también incorporados en medios sólidos por ejemplo en la diferenciación de microorganismos en las heces (Mac Conkey, S.S.) y también para la diferenciación de *Neisserias*.

2.9.6. Tinción de Gram (MERCK)

La coloración de Gram, se desarrolló por Christian Gram en 1823. Las bacterias se agrupan en Gram positivas o Gram negativas según retengan o no la violeta de genciana.

Las bacterias Gram positivas toman la violeta y no se decoloran al tratarlas con alcohol o alcohol -acetona, las bacterias Gram negativas pierden la violeta al ser tratadas con el alcohol y se colorean con el colorante de contraste: safranina o fuccina y por lo tanto se tiñen de color rosado.

2.9.6.1. Reactivos

a. Cristal violeta

- Solución A: se prepara triturando 2 g de cristal violeta en mortero, agregando poco a poco 20 ml de etanol al 95% y se guardan en un frasco ámbar.
- Solución B: se disuelve 0.8g de oxalato de amonio en 80ml de agua destilada.
- Solución de trabajo: en un frasco ámbar se diluyen la solución A en porciones 1:3 y se adiciona 4 partes de la solución B; conservamos 24 horas antes de su uso se filtra lo que se va a utilizar.

b. Lugol de Gram

- Se coloca en un mortero 1g de yodo y 2 g de yoduro de potasio, se agregan 300ml de agua destilada poco a poco y se almacena en un frasco ámbar.

c. Decolorante alcohol acetona

- Alcohol etílico de 95°

d. Safranina Fuschina de Gram

- Solución madre: se trituran 2.5g de safranina en mortero, agregando poco a poco 100ml de etanol de 95° y se almacena en un frasco ámbar.
- Solución de trabajo: en otro frasco ámbar se agrega 10ml de solución madre filtrada, con 90 ml de agua destilada.

2.9.6.2. Técnica

Se toma una lámina portaobjeto limpia en la cual se realiza una emulsión de la bacteria pura con una gota de agua, se deja secar a temperatura ambiente, luego es fijada al calor en un mechero bunsen.

Se inicia el proceso de coloración de acuerdo a los tiempos establecidos en cada laboratorio:

- Se cubre la lámina con cristal violeta por 1 min.
- Lava con abundante agua destilada y se escurre.
- Se aplica lugol durante 1 min.
- Lava con abundante agua destilada y se escurre.

- Se agrega alcohol acetona durante 15min.
- Lava con abundante agua destilada y se escurre.
- Se adiciona por ultimo safranina por 1 min.
- Lava con abundante agua destilada, se escurre y se deja secar a temperatura ambiente.
- Se observa al microscopio en 100x con aceite de inmersión.

2.9.7. Agar XLD

El agar XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato) es un medio selectivo diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de patógenos entéricos Gram negativos, especialmente del género *Shigella*.

2.9.7.1. Composición

- Xilosa 3,75 g
- L- Lisina 5,0 g
- Lactosa 7,5 g
- Sacarosa 7,5 g
- Cloruro de Sodio 5,0 g
- Extracto de Levadura 3,0 g
- Rojo Fenol 0,08 g
- Desoxicolato de Sodio 2,5 g
- Tiosulfato de Sodio 6,8 g
- Citrato Férrico de Amonio 0,8 g
- Agar 15,0 g
- Agua destilada c.s.p. 1000 mL
- pH final $7,4 \pm 0,2$

2.9.7.2. Preparación

Suspender 57 g de medio en un litro de agua destilada. Mezclar vigorosamente. Calentar con agitación suave hasta que el medio llegue a ebullición. Evitar el sobrecalentamiento ya que puede provocar la precipitación del medio. Este medio NO se puede esterilizar por autoclave.

Enfriar a una temperatura entre 45-50°C en un baño de maría y verter en placas de Petri estériles. Fundamento La degradación de los carbohidratos presentes en el medio (xilosa, lactosa y sacarosa) genera la producción de ácido haciendo virar el indicador (rojo fenol) de rojo a amarillo. En este medio se incorpora la xilosa porque es prácticamente fermentada por todas las enterobacterias con excepción de los microorganismos pertenecientes al género *Shigella*. La lisina se incluye para aumentar la diferenciación de los microorganismos pertenecientes al género *Salmonella*, ya que sin la lisina estos microorganismos rápidamente fermentan la xilosa produciendo la acidificación del medio y no se pueden diferenciar de otras especies no patógenas.

2.9.8. Agar Levine o agar EMB Levine

Es un medio de cultivo usado para el aislamiento y diferenciación de *E.coli*, tiene un aspecto purpúreo, aunque naranja tras su esterilización, es semisólido, y está destinado al cultivo en placa.

Es un medio selectivo y diferencial, adecuado para el crecimiento de enterobacterias, que inhibe el crecimiento de bacterias Gram positivas y permite la diferenciación de bacterias fermentadoras y no fermentadoras de lactosa, dando lugar a colonias incoloras, las no fermentadoras, y colonias de color azulado-negro con cierto brillo metálico, las fermentadoras. Las colonias de *E.coli* sobre agar Levine miden 2-3 mm de diámetro, con centros oscuros, casi negros, y pueden presentar o no cierto brillo verde metálico.

2.9.8.1. Composición

Peptona	10g
Lactosa	10g
Fosfato dipotásico	2g
Eosina	0,40g
Azul de metileno	0,065g
Agar	15g

2.9.9. Agar Salmonella Shigella

Medio de cultivo utilizado para el aislamiento de Salmonella spp. y de algunas especies de Shigella spp. a partir de heces, alimentos y otros materiales en los cuales se sospeche su presencia.

2.9.9.1. Fundamento

Es un medio de cultivo selectivo y diferencial.

La selectividad, está dada por la sales biliares y el verde brillante, que inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas, de la mayoría de los coliformes y el desarrollo invasor del Proteus spp.

Es diferencial debido a la fermentación de la lactosa, y a la formación de ácido sulfhídrico a partir del tiosulfato de sodio.

Los pocos microorganismos fermentadores de lactosa capaces de desarrollar, acidifican el

medio haciendo virar al rojo el indicador de pH, obteniéndose colonias rosadas o rojas sobre un fondo rojizo.

Salmonella, Shigella y otros microorganismos no fermentadores de lactosa, crecen bien en el medio de cultivo, y producen colonias transparentes.

La producción de ácido sulfhídrico se evidencia como colonias con centro negro debido a la formación de sulfuro de hierro.

Para aumentar la selectividad, se recomienda incubar previamente la muestra en Selenito caldo (B02-120-05).

Fórmula (en gramos por litro)		Instrucciones
Pluripeptona	5.0	Suspender 60 g del polvo por litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y mezclar hasta homogeneizar. Calentar a ebullición durante 2 o 3 minutos. NO ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE. Enfriar a 45-50°C y distribuir unos 20 ml por placa. Secar la superficie del medio unos minutos en la estufa.
Extracto de carne	5.0	
Lactosa	10.0	
Mezcla de sales biliares	8.5	
Citrato de sodio	8.5	
Tiosulfato de sodio	8.5	
Citrato férrico	1.0	
Agar	13.5	
Verde brillante	0.00033	
Rojo neutro	0.025	
pH final: 7.0 ± 0.2		

Fuente: Estévez. R. 2014

2.9.9.2. Siembra

Sembrar por estriado la superficie del medio de cultivo.

Recomendaciones, se aconseja sembrar en forma conjunta una placa de agar E.M.B. (B02-101-05) o de agar Mac Conkey (B02-114-05).

2.9.9.3. Incubación

Durante 24-48 horas a 35-37 °C, en aerobiosis.

2.9.10. Voges-Proskauer

2.9.10.1. Objeto

1. Diferenciar
 - a. *Enterobacter* y *K. pneumoniae* (generalmente +) de la *E. coli* (-).
 - b. *Moraxella* (+) y de *Herella* (-).
 - c. *Aeromonas punctata* (+) de otros bastoncillos entéricos gramnegativos, H₂S-positivos (-).
2. Contribuir a la identificación de:
 - a. *Yersinia enterocolitica* (+ a 25°C, - a 37°C).
 - a. *Enterobacter hafniae* (+ a 25°C, ± a 37°C).

2.9.10.2. Fundamento

Detecta la fermentación butanodiólica. En esta fermentación se producen menor cantidad de ácidos que en la fermentación ácido-mixta, y una gran cantidad de butanodiol. Mediante un reactivo, (alfa-naftol y KOH al 40%), se detecta la presencia de un precursor del butanodiol

(acetilmetilcarbinol o acetoína). La acetoína en presencia de oxígeno se oxida a diacetilo. El diacetilo origina una coloración roja al reaccionar con los restos guanidínicos de algunos aminoácidos de la peptona del medio (Ej. Arginina).

2.9.10.3. Principio

La facultad de producir acetilmetilcarbinol (acetoína) o 2,3 butilenglicol de la glucosa.

El piruvato es un intermediario en el metabolismo de la glucosa. A partir del ácido pirúvico un microorganismo puede seguir varios caminos. Algunos lo rompen para formar como productos finales ácidos láctico, acético o fórmico. Otros metabolizan el piruvato por el camino del butilenglicol para formar como productos finales acetoína (acetilmetilcarbinol) y 2,3-butanodiol (diacetilo). La prueba Voges-Proskauer (VP) detecta estos productos metabólicos. En presencia de oxígeno e KOH, la acetoína se oxida a diacetilo, que da un complejo rojo. La sensibilidad la prueba se aumenta por el agregado de α -naftol antes del agregado de KOH.

Mecanismo: Sustrato \rightarrow diacetil; y diacetil + KOH + O₂ + arginina \rightarrow producto rosado.

2.9.11. Urea

2.9.11.1. Objeto

Facilitar la identificación de:

1. *Proteus* (rápidamente +).
2. *Brucella*, *Levinea*, *Yersiniaenterocolitica*, *Bordetellabronchiseptica*, *Actinobacilluslignieresii* (todas +).
3. *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella* (todas las cuales pueden ser débilmente y o retardadamente +).

2.9.11.2. Fundamento

El agar urea es un medio sólido diferencial para microorganismos, en especial los miembros de la especie *Enterobacteriaceae*, según su capacidad de producir ureasa.

Christensen fue quien orientó los primeros trabajos en busca de un medio que permitiera la detección de bacterias capaces de descomponer la urea. Realiza la diferenciación entre organismos proteácea rápidos positivos a la ureasa y otros organismos positivos a la ureasa: *citrobacter*, *enterobacter*, *klebsiella*.

2.9.11.3. Principio

La urea es una di-amida del ácido carbónico, cuya hidrólisis por acción de la ureasa da 2 moléculas de amoníaco. La ureasa es una enzima constitutiva que se sintetiza independientemente de la presencia o no de la urea. La prueba determina la capacidad de la bacteria de desdoblar la urea, con la consiguiente alcalinización del medio. Es una actividad característica de especies de *Proteusy* se usa para diferenciar *Klebsiella*(+) de *Escherichia*(-) y *Proteus*(+ rápido) de *Providencia* (-); *Yersiniapseudotuberculosis* (+) de *Yersiniapestis* (-)

La facultad de hidrolizar la urea ($\text{NH}_2 - \text{CO} - \text{NH}_2$).

2.9.11.4. Método en caldo

a. Elementos necesarios

1. Caldo con sales minerales neutras amortiguado, que contenga 2% de urea y rojo fenol.
2. Cultivo en estudio, de 24 horas.

b. Método

1. Inocular el caldo.
2. Incubar durante toda la noche.

c. Interpretación.

Positiva: rojo ($\text{pH} \geq 8,4$).

Negativa: amarillo ($\text{pH} \leq 6,8$).