

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Fundada en 1551

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

UNIDAD DE POST-GRADO

Carga parasitaria gastrointestinal, lesiones anatomohistopatológicas, respuesta celular y patron de respuesta humoral en alpacas de una comunidad campesina-Puno.

TESIS para optar el Grado Académico de: MAGÍSTER EN SALUD ANIMAL

AUTORA:

DORA YUCRA VARGAS

LIMA - PERU 2002

DEDICATORIA

A la memoria de mi padre Enrique

A mi querida madre Josefina

A mis queridas hijas Gretchen y Karol

A mis hermanos Bacilia, Jorge, Mery y Virginia

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mis eternos agradecimientos a mi Directora de Tesis Dra. Teresa López U., por su invaluable apoyo y dirección en la ejecución y culminación del presente trabajo, y a mi Asesor Dr. Armando González Z., por entenderme y apoyarme en los momentos más difíciles y por su vocación de investigador.

Deseo también expresar mi agradecimiento :

- Al Dr. Alfonso Chavera, asesor del presente trabajo.
- A la Unidad de Postgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por permitirme realizar mis estudios de maestría y a su plana docente por brindarme sus conocimientos.
- A mis amigos: Teresa Bernal, Manuela Verástegui, Vladimiro Ibáñez, Claudia y Román Quispe, por su invaluable apoyo.
- Al personal que labora en el Laboratorio de Histopatología: Dr. Luis Tabachi, Alberto Santillán y en especial a la Dra. Rosa Perales, por su incondicional apoyo durante la ejecución de mi tesis.
- A mi tío Pablo Pineda V. y familia, por su invaluable apoyo.
- A la familia campesina de las comunidades campesinas del distrito de Laraqueri-Pichacani- Puno, por brindarme las facilidades en los trabajos de campo.

ABREVIATURAS

ADCC	Siglas en inglés de “Citotoxicidad Celular dependiente de anticuerpos”
APS	Persulfato de Amonio
EITB	Siglas en inglés de “Revelado de la electro-inmuno-transferencia”
E/S	Antígeno excretorio/secretorio
GMCSF	Siglas en ingles de Factor estimulador de colonias de los granulocitos
HPG	Huevos por gramo de heces
HTS	Huevos tipo Strongylus
IFN-?	Gamma-interferón
IL	Interleucina
kDa	Kilodalton
PBS	Tampón Salino Fosfatado
PM	Peso Molecular
2-ME	2-Mercaptoetanol
MPM	Marcador de Peso Molecular
NC	Nitrocelulosa
RIPP	Relajamiento inmune peri parto
SDS	Sulfato Dodecil Sódico
SDS-PAGE	Geles de Electroforesis de Poliacrilamida-SDS
TEMED	N,N,N',N' - tetrametil etilendiamina
TH	Siglas en inglés de T Ayudante (T Helper)
TNFa	Siglas en inglés de Factor de Necrosis Tumoral
Tris	Tris (hidroximetil) aminometano
T20	Tween 20
Tween 20	Monolaurato polioxietilensorbitan
WB	Prueba de Western Blot, Western blotting o EITB

RESUMEN

La gastroenteritis verminosa es una enfermedad parasitaria que ocasiona grandes pérdidas económicas. Las investigaciones sobre carga parasitaria basadas en necropsias son escasas y hechas en explotaciones ganaderas grandes pero no en comunidades campesinas donde el sistema de crianza generalmente es mixta. El altiplano peruano presenta dos épocas bien marcadas, lluvia y seca, y estas influyen en el comportamiento de la carga parasitaria gastrointestinal. El presente estudio tuvo como objetivos estudiar la carga parasitaria gastrointestinal en épocas de lluvia y seca, frecuencia de lesiones histopatológicas ocasionadas por la carga parasitaria y el patrón de respuesta humoral de los principales parásitos en alpacas de comunidades campesinas. Se trabajó con 120 animales beneficiados en los domicilios, de 1 a 6 años de edad y de ambos sexos, todos ellos pertenecientes a una comunidad campesina de puna alta y seca del altiplano. Se emplearon los métodos de Travassos, cortes histopatológicos, electroforesis SDS-PAGE y EITB. Los machos presentaron 316.8 parásitos (64-858.7) y las hembras 197.4 (88.1-332.5). Se observaron cargas parasitarias significativamente altas ($p < 0.05$) en alpacas de 6 años de edad pero sólo en época de lluvias. En otras edades (tanto machos como hembras) no hubo variación significativa ($p > 0.05$). Las alpacas machos mostraron mayor carga parasitaria que las hembras. Así mismo, hubo una carga parasitaria mayor en la época de lluvias ($p < 0.05$). Más del 90% de la carga parasitaria se encontraba localizada en el intestino delgado. *Lamanema chavezii* y *Nematodirus sp.* resultaron ser los parásitos más numerosos en épocas de lluvia y seca. La respuesta celular estuvo caracterizada por infiltración mixta de células inflamatorias (eosinófilos, neutrófilos, linfocitos y plasmocitos en algunos casos la presencia de células epitelioides y células gigantes. El patrón de respuesta humoral al análisis mediante EITB para *Lamanema chavezii* determinó un total de 18 proteínas antigénicas con pesos moleculares de 20.1 a 193.1 kDa y para *Nematodirus sp.* 17 proteínas de 14.9 a 196.9 kDa. Las bandas de inmunoreactividad formadas entre las proteínas antigénicas de *Lamanema chavezii* y la IgG de sueros que tuvieron mayor frecuencia fueron las de 112.1, 162.7, 118.9, 65.1, 92.5, 193.1 y 29.5 kDa. Para *Nematodirus sp.* fueron las de 62.4, 59.5, y 196.9 kDa.

ABSTRACT

The aim of this work was to study the burden of gastro enteric parasites between two different seasons of the year; rain and dry; also to determine the rate of histopathologic lesions and the humoral response pattern caused by the principal parasites. There were 120 alpacas slaughtered between 1 and 6 years of age, both male and female, all of them belonging to a rural farmers community, of the dry highlands. The tests used were Travasos, histopathologic sampling, SDS-PAGE and Western Blot. The male alpacas showed burden values of 316.8 parasites (64 – 858.7) and the female alpacas 197.4 (88.1 – 332.5). Significantly high values ($p > 0.05$) were found in 6 years old age alpacas, but only in the rainy season. In the other age groups there were no significant variation ($p < 0.05$). The male alpacas demonstrate to have more parasites than the females and the time of the year with the greatest burden was the rainy season ($p < 0.05$). More than the 90 % of the parasitic burden was found in the small intestine because *Lamanema chavezii* and *nematodirus sp.* were numerous and caused infections in both rainy and dry season. The cellular response was distinguished by inflammatory cells infiltration: eosinophils, neutrophils, lymphocytes and plasmocytes in some occasions epithelioid cells and giant cells. The humoral response pattern to the electrophoretic test in SDS-PAGE gels and the immunoblot of the antigenic proteins of the soluble fraction of *Lamanema chavezii* showed a total of 18 antigenic proteins with a molecular weight of between 20.1 and 193.1 kDa, and for *Nematodirus sp* showed 17 proteins with molecular weight of between 14.9 and 196.9 kDa. The immune reactive proteic bands formed between antigenic proteins and the Ig G serum with more frequency; were those that corresponded to 112.1, 162.7, 118.9, 65.1, 92.5, 193.1 y 29.5 kDa. for *Lamanema chavezii* and 62.4, 59.5 and 196.9 kDa for *Nematodirus sp.* The study of immune response against these parasites contributes in the developing of control methods for parasitic diseases.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ABREVIATURAS	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vii
ÍNDICE DE CUADROS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
MATERIAL Y MÉTODOS	30
1. Lugar de Estudio	30
2. Animales	30
3. Obtención de muestras	31
3.1 Sangre	31
3.2 abomaso e intestino delgado	31
3.3 Muestra para histopatología	31
4. Procesamiento de muestras	32
4.1 Recolección y recuento de helmintos gastrointestinales	32
4.1.1 Abomaso	32
4.1.2 Intestino	32
4.1.3 Identificación	32
4.2 Identificación	32
4.2.1 Género <i>Lamanema</i>	32
4.2.2 Género <i>Nematodirus</i>	33
4.2.3 Género <i>Cooperia</i>	33

4.2.4 Género <i>Trichostrongylus</i>	33
4.2.5 Género <i>Ostertagia</i>	33
4.2.6 Género <i>Graphinema</i>	33
4.2.7 Género <i>Camelostrongylus</i>	34
4.3 Procesamiento histopatológico	34
4.4 Patrón de respuesta humoral	34
4.4.1 Sueros controles para <i>L. chavezii</i>	34
4.4.2 Sueros controles para <i>Nematodirus sp.</i>	34
4.4.3 Colección de parásitos	35
4.4.4 Extracción de las proteínas solubles de <i>L. chavezii</i> y <i>Nematodirus sp.</i>	35
4.4.5 Determinación de la concentración de proteínas del antígeno soluble	35
4.4.6 Análisis electroforético del extracto soluble de <i>L. chavezii</i> y <i>Nematodirus sp.</i>	36
4.4.6.1 Preparación de geles	36
4.4.6.2 Coloración azul brillante de Coomassie	37
4.4.6.3 Transferencia a membrana de NC	37
4.4.7 Detección de IgG séricas de alpacas infectadas con <i>L. chavezii</i> y <i>Nematodirus sp.</i> mediante EITB	37
5. Análisis de resultados	37
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
1. Carga parasitaria gastrointestinal	39
1.1 Promedio general de la carga parasitaria gastrointestinal en alpacas huacaya machos y hembras de 1 a 6 años de edad necropsiados en épocas lluviosa y seca	39
1.2 Carga parasitaria gastrointestinal promedio en alpacas según géneros de parásitos, sexo, edad y época	42
2. Lesiones anatomopatológicas	49
3. Frecuencia de lesiones histopatológicas y respuesta celular	50
4. Patrón de respuesta humoral	62

4.1 Perfil electroforético de las proteínas solubles de <i>Lamanema chavezii</i> y <i>Nematodirus sp.</i>	62
4.2 Distribución de inmunoreactividad de proteínas antigénicas frente a sueros de alpacas positivas y negativas a <i>Lamanema chavezii</i> y de alpacas positivas y negativas a <i>Nematodirus sp.</i>	62
CONCLUSIONES	69
BIBLIOGRAFÍA	71
ANEXO	78

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. Proteínas antigénicas y su distribución de inmunoreactividad frente a sueros de alpacas infectados con <i>L. chavezii</i> (positivos) y no infectados (negativos).	67
CUADRO 2. Proteínas antigénicas y su distribución de inmunoreactividad frente a sueros de alpacas infectadas con <i>Nematodirus sp.</i> (positivos) y no infectados (negativos).	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.1. Carga parasitaria gastrointestinal promedio en alpacas huacaya machos de 1- 6 años de edad, beneficiados en épocas de lluvia y seca .	44
Fig.2. Carga parasitaria gastrointestinal promedio en alpacas huacaya hembras de 1-6 años de edad, beneficiadas en épocas de lluvia y seca.	44
Fig.3. Comportamiento de la carga parasitaria gastrointestinal en alpacas machos según edad.	45
Fig.4. Comportamiento de la carga parasitaria gastrointestinal en alpacas hembras según edad.	45
Fig.5. Comportamiento de la carga parasitaria gastrointestinal general en alpacas según edad	45
Fig.6. Carga parasitaria gastrointestinal promedio en alpacas huacaya machos, beneficiados en épocas lluvia y seca y según compartimento anatómico	46
Fig.7. Carga parasitaria gastrointestinal promedio en alpacas huacaya hembras, beneficiadas en épocas de lluvia y seca según compartimento anatómico	46
Fig.8. Carga parasitaria gastrointestinal por géneros de parásitos en alpacas huacaya machos, beneficiados en época de lluvia	47
Fig.9. Carga parasitaria gastrointestinal por géneros de parásitos en alpacas huacaya hembras, beneficiadas en época de lluvia.	47
Fig.10. Carga parasitaria gastrointestinal por géneros de parásitos en alpacas huacaya machos,beneficiados en época seca	48

Fig.11. Carga parasitaria gastrointestinal por géneros de parásitos en alpacas huacaya hembras, beneficiadas en época seca	48
Fig.12. Frecuencia de lesiones histopatológicas en el abomaso de alpacas de 1-6 años de edad, en época de lluvia y seca.	52
Fig.13. Frecuencia de lesiones histopatológicas en el intestino delgado de alpacas de 1–6 años de edad , en épocas lluvia y seca del año	53
Fig.14. Frecuencia de lesiones histopatológicas en el hígado de alpacas, en épocas lluvia y seca	54
Fig.15. Frecuencia de lesiones histopatológicas en el ganglio de alpacas, en épocas de lluvia y seca del año	66
Fig. 16. Análisis de la fracción soluble de <i>L. chavezii</i> , reconocida por los anticuerpos de alpacas infectados naturalmente, mediante la prueba de EITB.	67
Fig. 17. Análisis de la fracción soluble de <i>L. chavezii</i> , reconocida por los anticuerpos de alpacas infectados naturalmente, mediante la prueba de EITB.	67
Fig. 18. Análisis de la fracción soluble de <i>Nematodirus sp.</i> reconocida por los anticuerpos alpacas infectados naturalmente, mediante la prueba de EITB	68
Fig. 19. Análisis de la fracción soluble de <i>Nematodirus sp.</i> reconocida por los anticuerpos de alpacas infectados naturalmente, mediante la prueba de EITB	68

INTRODUCCIÓN

La población de alpacas en el Perú se estima en 3'026,087. La mayor parte se encuentra en los departamentos de Puno, Cuzco y Arequipa (Ministerio de Agricultura, 1999). El 90% se encuentra en manos de comunidades campesinas y pequeños productores. Las pérdidas económicas directas anuales en la ganadería alpaca se calculan en \$ 1'502,177.00 dólares americanos y las pérdidas debidas a neumogastroenteritis verminosa en \$ 695,488.00 (46.3%) (Ministerio de Agricultura, 1973).

En las ecologías de puna seca y alta, la crianza de camélidos sudamericanos es la única actividad importante. Estos animales proveen una fuente de carne, fibra y pieles útiles para el sustento de la familia campesina. Sin embargo, uno de los factores que limita el proceso productivo son las enfermedades parasitarias y sobre todo la nematodiasis gastroentérica, fenómeno biológico que actúa sutil y permanentemente afectando la salud y los índices productivos de la alpaca. Existe una gran variedad de

helminthos que se localizan en la mucosa del tubo gastroentérico. Son tan numerosos que convencionalmente se les conoce como carga parasitaria o población de parásitos que está albergando el animal (Rojas, 1990).

El altiplano peruano presenta dos épocas bien marcadas, lluvia y seca. Estas influyen en el comportamiento de la carga parasitaria gastrointestinal (Rojas, 1990). Por otro lado, las investigaciones sobre carga parasitaria en alpacas, basadas en necropsias, son escasas y hechas sólo en explotaciones grandes pero no en comunidades campesinas donde el sistema de crianza generalmente es mixta (alpacas, llamas, ovinos y vacunos en algunos casos), con condiciones deficientes de manejo (Leguía y Casas, 1999).

Se han realizado diversas investigaciones para conocer las especies de nematodos gastrointestinales que parasitan a la alpaca, aspectos biológicos y patológicos de algunos parásitos, su prevalencia, su fluctuación estacional y aspectos de control de enfermedades parasitarias. Dichos estudios se han basado en exámenes copro-parasitológicos que presentan limitaciones en su interpretación, porque no son seguros ni confiables y porque se restringe a parásitos adultos (Leguía y Casa, 1999), y a la especie parásita (Boch y Supperer, 1977). En consecuencia, sólo la observación e identificación de parásitos por medio de la necropsia de los animales permite determinar con exactitud el grado de infección y las lesiones existentes ocasionadas por la carga de parásitos.

Las limitaciones en el reconocimiento de la enfermedad conducen a precisar que es necesario contar con un sistema de diagnóstico de la fase migratoria de *L. chavezii* y formas juveniles de *Nematodirus sp.* que además permitan realizar estudios epidemiológicos, de evaluación de antihelmínticos o conducirnos a encontrar una posible vacuna contra infecciones naturales. Para ello se debe, en primer lugar, caracterizar las proteínas antigénicas de los parásitos más importantes que afectan la salud de las alpacas. La electroforesis SDS-PAGE, es un método rápido, reproducible y de relativo bajo costo para cuantificar, comparar y caracterizar proteínas de interés. El EITB es una técnica usada para detectar una proteína inmovilizada en una matriz como

la membrana de NC, que ha demostrado ser inmejorable para la caracterización antigénica y el diagnóstico de enfermedades parasitarias (López, 1994).

Tomando en cuenta estas consideraciones, el presente estudio tuvo como objetivos determinar la carga parasitaria gastrointestinal en alpacas de la variedad huacaya beneficiadas en comunidades campesinas en épocas de lluvia y seca, según edad y sexo, identificar la frecuencia de lesiones histopatológicas ocasionadas por los parásitos en el abomaso, intestino delgado e hígado en épocas de lluvia y seca y determinar el patrón de respuesta humoral de los parásitos más importantes encontrados en las alpacas mediante la prueba de EITB.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. ETIOLOGÍA

La nematodiasis gastroentérica es una enfermedad, causada por un gran número de nematodos parásitos que se localizan en lugares específicos del tubo gastroentérico, y se denomina convencionalmente “carga parasitaria”. Los géneros más frecuentemente presentes en las alpacas son: *Lamanema*, *Nematodirus*, *Cooperia*, *Camelostrongylus*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Graphinema* y *Capillaria* (Rojas, 1990)

2. CICLO BIOLÓGICO

Poseen un ciclo de vida directo y comprende dos etapas:

1) Desarrollo exógeno, que constituye la forma de contagio en el campo de pastoreo, los huevos producidos por los parásitos hembras son expulsados con las heces. Los huevos “Tipo strongylus” que comprende a la mayoría de los géneros, desarrollan la larva de primer estadio (L_1), que abandonan el huevo, y se transforman en larvas de segundo (L_2) y tercer estadio (L_3), esta última es la larva infectiva. Las larvas de *Lamanema* y *Nematodirus* se desarrollan dentro del huevo y su eclosión se realiza por estímulos térmicos y mecánicos. Mientras que los huevos larvados de *Trichuris* y *Capillaria* constituyen las formas infectantes.

2) Desarrollo endógeno, éste se cumple al ingerir el pasto contaminado con larvas infectivas, las cuales con excepción de *Lamanema*, penetran en las glándulas gástricas o la mucosa del intestino delgado y grueso, de acuerdo a la especie, mudan y se convierten en larvas de cuarto estadio (L₄) que retornan a la luz del abomaso o intestino para finalmente alcanzar su estado adulto (Leguía y Casas , 1999). En el caso de *Lamanema*, la L₃ migra al hígado, vía sanguínea o linfática, donde muda a L₄, para luego retornar por el colédoco al intestino delgado, donde completa su maduración (Guerrero y col., 1973 a).

3. PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LOS NEMATODOS PRESENTES EN ALPACAS

Lamanema chavezii

La cutícula de la cabeza y la región cervical ligeramente inflada, su cavidad bucal es superficial con un diente dorsal cónico y dos dientes laterales en la base. Los lóbulos laterales de la bursa son grandes y con una superficie finamente estriada. Los márgenes corporales son festoneados. El lóbulo dorsal es pequeño, pobremente definido y demarcado por pliegues. Las espículas son delgadas, amarillentas y distalmente se hacen cónicas gradualmente. En el tercio distal de cada espícula esta se bifurca en dos, una interna en forma de espuela afilada y otra externa robusta más grande en cuya punta hay una expansión membranosa coloreada, pequeña y ovalada. El gubernáculo es oscuro y con un acabado tosco (Becklund, 1963). El huevo es alargado, de bordes redondeados y con 16 blastómeros (Leguía y Casas, 1999).

Nematodirus spathiger

Los adultos miden de 10 a 25 mm. En el extremo anterior se observa una dilatación cuticular formando una vesícula cefálica provista de estriaciones transversales (Leguía y Casas, 1999). El macho presenta un bursa copulatriz relativamente más pequeña que *N. filicollis*, el lóbulo dorsal poco definido está claramente separado de los lóbulos laterales, sus espículas largas y delgadas están

unidas en el extremo distal, rodeadas de una membrana que termina en forma de espátula; carece de gubernáculo. La parte posterior de la hembra tiene forma de cono truncado con una pequeña espina. Los huevos son grandes y ovoideos, con extremos ligeramente alargados y con ocho blastómeros (Morgan y Hawkins, 1949; Leguía y Casas, 1999).

Nematodirus lamae

La cabeza y la región cervical son típicas del género, con una cutícula ligeramente inflada y estriada transversalmente, un diente dorsal y dos pequeños latero ventrales en la base de la cavidad bucal. La bursa es pequeña con dos lóbulos laterales de igual longitud aproximadamente, lóbulo dorsal corto que se divide en dos. Las espículas son separadas en el tercio anterior y unidas hacia la mitad, de las mismas, se combinan y estrechan en la décima parte distal, a esta altura una expansión membranosa se hace tridimensional y en forma de corazón (Becklund, 1963). Los huevos son alargados con bordes redondeados, de color marrón y 8 blastómeros (Leguía y Casas, 1999).

Cooperia oncophora

Los adultos miden de 5.5 a 9 mm. (Leguía y Casas, 1999), los machos poseen bursa con dos lóbulos laterales y un lóbulo dorsal, los lóbulos laterales se encuentran sostenidos por dos radios ventro-ventrales, un radio lateroventral, tres rayos laterales (externo lateral, medio lateral y posterolateral) y un radio externo dorsal se encuentra sostenido por un radio dorsal (Lapage, 1982). Las espículas son oscuras, robustas con una doble curvatura y prominente reborde y concavidad dorsal en el tercio medio de las espículas, terminan en un proceso en forma de botón. Los huevos son HTS (Leguía y Casas, 1999).

Cooperia macmasteri

Los adultos miden de 5 a 9 mm, en el extremo anterior presenta una pequeña dilatación cuticular con estriaciones transversales (Leguía y Casas, 1999), los machos

presentan espículas casi rectas o perfil dorsal ligeramente convexo, cuya extremidad distal está rodeada por una membrana hialina en forma triangular o de lanza y por un pequeño tronco rodea la costilla dorsal de la bursa (Guerrero, 1967) y ausencia de gubernáculum (Leguía y Casas, 1999).

Ostertagia ostertagi

Los adultos miden de 6.5 a 9.2 mm, el extremo anterior presenta una cápsula bucal pequeña, el macho presenta bursa copulatriz con dos lóbulos ventrales, uno dorsal y otro accesorio. Las espículas son trifurcadas y con ramas relacionados por medio de quitina (Borchert, 1981). La vulva de la hembra está cubierta normalmente por una cutícula, cerca del extremo de la cola hay una banda engrosada con 4 ó 5 estrías transversales. Poseen huevos “Tipo Strongylus” (Leguía y Casas, 1999).

Trichostrongylus axei

Los adultos miden de 3 a 12 mm, el extremo anterior es muy fino y sin cápsula bucal, el rayo externo dorsal es grande y dividido en dos, cada uno de los cuales es bifurcado (Morgan y Hawkins, 1960). Las espículas son cortas, asimétricas; presentan un gubernáculo en forma navicular. Los huevos son del “Tipo Strongylus” (Leguía y Casas, 1999).

Trichostrongylus colubriformis

Los adultos miden de 4 a 8 mm. La cavidad bucal es muy pequeña y mal definida. Las papilas cervicales están ausentes (Morgan y Hawkins, 1949), el macho presenta espículas cortas, iguales y terminan en un proceso triangular. Los huevos son HTS (Leguía y Casas, 1999).

Camelostrongylus mentolatus

Los adultos miden de 6 a 10 mm., los machos poseen espículas largas y delgadas con estriaciones transversales en toda su longitud (Dunn, 1983). Presenta huevos HTS (Leguía y Casas, 1999)

Graphinema aucheniae

Los adultos miden de 5. a 12 mm. Las papilas cervicales son poco desarrolladas, la bursa copulatrix consta de dos grandes lóbulos laterales y un pequeño lóbulo dorsal muy poco diferenciado, las papilas prebursales son desarrolladas, las espículas son delgadas y tienen una membrana transparente triangular en la extremidad posterior (Guerrero y Rojas, 1969). Presentan huevos HTS (Leguía y Casas, 1999).

Capillaria bovis

Son parásitos muy delgados, como pelos, que miden de 8 a 20 mm. de longitud y son difícilmente visibles en el contenido intestinal (Soulsby, 1987). Los huevos son en forma de barril ó de limón, coloreados, y bioperculados (Kassai, 1999).

4. EPIDEMIOLOGÍA

La presencia de los parásitos varía como consecuencia de la influencia climática y de atributos biológicos propios del hospedador como estado nutricional, estado inmune, destete y parto. Del mismo modo, varía como consecuencia de características propias del parásito como por ejemplo la hipobiosis (Boch y Supperer, 1977).

La multiplicación de los parásitos depende de la intensidad de invasión, edad, estado de inmunidad y condición general del hospedador (Boch y Supperer, 1977). La resistencia del hospedador puede disminuir o anular la ovulación de los vermes, el número de vermes hembras adultos, además la resistencia del hospedador da lugar a la prolongación del período prepatente (Laboratorio Veterinario Weybridge, 1971). Se ha descrito una supresión de la fecundidad del parásito en ovejas inmunizadas con múltiples infecciones de *T.colubriformis* (Emery y col., 1992).

4.1. Factores climáticos

El clima es probablemente el factor más importante en la distribución espacial y temporal de las especies parásitas. Así mismo, existe relación entre los tipos de clima y la presentación de nematodos gastrointestinales en rumiantes (Levine, 1963). Las variaciones estacionales tienen profundos efectos sobre la transmisión de la mayoría de infecciones parasitarias. En la mayoría de nematodos el número de larvas sobre las pasturas fluctúa con la estación. En general, los huevos de nematodos y larvas pueden sobrevivir de 6 meses a varios años (Smith, 1996).

4.2. Factores del hospedador

Entre los factores del hospedador, la nutrición es el principal factor para la promoción y soporte de cualesquiera de los mecanismos relacionados con la resistencia general y contra el parasitismo en particular (Rojas, 1990). La deficiencia de ciertos componentes en la dieta afecta no sólo el crecimiento del hospedador, sino también del parásito que lo infecta (Dunn, 1983). Los corderos infectados con *H. contortus* alimentados con dieta baja en proteína, desarrollaron severos signos clínicos y anorexia; consecuentemente fueron menos hábiles para resistir los efectos fisiopatológicos de la infección (Holmes y Coop, 1994).

Según el sexo, las hembras presentan menos parásitos que los machos, lo que hace suponer que dependen de los niveles hormonales y de la edad. Así, la administración de hormonas femeninas en animales jóvenes aumenta su resistencia a las infecciones. Si se realiza una ovariectomía a las hembras, su resistencia disminuye hasta los niveles del macho. Esta observación como en la mayor parte de generalizaciones biológicas no es absoluta, ya que si a los animales jóvenes se les administra hormonas masculinas su resistencia aumenta poco y los resultados de la castración no trae como resultado diferencia alguna (Dunn, 1983).

Las alpacas menores de dos años son muy susceptibles a la infección por nematodos. Esto sugiere que hasta esta edad, la respuesta inmune es muy deficiente

(Leguía y Casas, 1999). La edad y la infección parasitaria previa, incrementa la resistencia para el establecimiento de la mayoría de poblaciones parásitas (Holmes y Coop, 1994). Según la edad, en la mayoría de las helmintiasis, los hospedadores viejos presentan no sólo menos parásitos, sino que éstos tienden a ser más pequeños y menos fecundos que en los animales jóvenes. Los animales viejos pueden impedir la infección al aceptar la invasión inicial pero inhibir y retrasar el crecimiento de los parásitos (Dunn, 1983).

La inmunidad contra estas infecciones puede reducirse por efecto de los antihelmínticos, pobre nutrición y otros factores de stress tales como en infecciones recurrentes, preñez y lactación. En tales situaciones, por ejemplo, los vacunos viejos pueden contribuir significativamente a la epidemiología de los trichostrongylidos. El grado de inmunidad varía de acuerdo a la especie de parásito y al período de exposición a la infección (Armour, 1989).

La importancia epidemiológica del RIPP en vacunos está dada por la presencia de larvas infectivas residuales sobre los pastizales. Esto crea problemas de susceptibilidad en el post destete de terneros (Armour, 1989) y ovinos, los cuales no sólo son más susceptibles a la invasión larvaria, sino que tampoco pueden contener a la población de larvas en estado de hipobiosis ya existente, por lo que éstas empiezan a emigrar y a continuar su crecimiento (Dunn, 1983). Una baja de la resistencia se presenta por la presencia de hormonas inmunosupresivas como la prolactina, corticosteroides, progesterona o estronas (Leguía y Casas, 1999). Tal vez algunos animales estén predispuestos a una infección grave por factores genéticos, conductuales, nutricionales o ambientales (Tizard, 1998).

4.3. Factores del parásito

Los helmintos son parásitos obligatorios y completamente adaptados, cuya propia supervivencia depende de lograr ciertas formas de convivencia con el hospedador. Producen una enfermedad aguda cuando los helmintos invaden a un hospedador, al cual no se han adaptado por completo, o cuando la cantidad de gusanos

es insólitamente grande (Tizard, 1998). La hipobiosis es una característica desarrollada por los nematodos para enfrentar a las condiciones climáticas adversas, mediante habilidad de introducirse como larvas L4, inicial en el interior de los tejidos del hospedador hasta disponer mejores condiciones ambientales. No toda la población nematódica hace hipobiosis, sólo unas cuantas cepas (Rojas, 1990).

5. CARGA PARASITARIA

La carga parasitaria en rumiantes (ovinos y bovinos) en pastoreo no se mantiene constante a lo largo del año. Fluctúa en función de diversos factores, como el grado de inmunización de los animales, la disposición larvaria en los pastos, la inhibición larvaria y la longevidad del parásito (Rose, 1960). Diversos factores geográficos, geológicos y edáficos intervienen en la formación de ecosistemas naturales. Estos condicionan la presencia de los parásitos y la intensidad del parasitismo, tanto en las especies de ciclo directo como en las que necesitan de uno o varios hospedadores para realizarlo (Compaire y Tarazona, 1985).

En una evaluación de la carga parasitaria gastrointestinal de las alpacas por examen de heces en la zona sur de la sub región Puno (Puno, Ilave-Juli, Chucuito y Yunguyo) se encontró una carga promedio de 791 (HPG) con rangos de 100 a 800. Una mayor proporción correspondió a *Nematodirus* 69.70 %, seguido por HTS 60.50 %, *Lamanema chavezii* 34.10 % y *Trichuris* con 21.08 %. Mientras que la carga parasitaria en alpacas de la zona norte de Puno fue de 1,241 HPG con rangos de 50 a 1,450 HPG con una mayor proporción de HTS 33.84 %, seguido de *Nematodirus* 30.54 % y *Lamanema chavezii* con 27.56 % (Melo, 1997).

Otro estudio en 480 alpacas de la Comunidad de Chichillapi-Chucuito, durante las dos épocas climatológicas del año, demostró que el número de HPG encontrado en el período seco fue de 229, 197 y 180 HPG y en el período de lluvias 293, 227 y 224 HPG para *Lamanema*, *Nematodirus* y HTS respectivamente. Los huevos del cestodo *Moniezia* permanecieron casi en iguales porcentajes para cada época. El promedio de

carga parasitaria para tuis fue de 240, 218 y 211 HPG y para adultos 225, 201 y 201 HPG que corresponden a *Lamanema*, *Nematodirus* y HTS respectivamente (Mamani, 1989).

Los porcentajes de las especies de parásitos encontradas en 6 alpacas necropsiadas en el trabajo realizado en la Comunidad de Chichillapi-Chucuito fue: *Lamanema chavezii* 83.33 %, *Nematodirus lamae* 66.66 %, *Nematodirus spathiger* 66.66 %, *Nematodirus filicollis* 50 %, *Ostertagia ostertagi* 83.33 %, *Trichostrongylus axei* 66.66 %, *Trichostrongylus colubriformis* 66.66 %, *Graphinema aucheniae* 33.33 % y *Cooperia oncophora* 50 %. Para cestodos fue *Moniezia benedeni* 33.33 % y *Moniezia expansa* 16.66 % (Mamani, 1989).

Igualmente en otra evaluación parasitaria de 75 alpacas de una comunidad campesina de la Sierra Sur del Perú a 3,970 m.s.n.m. en dos épocas, entre abril a mayo se mencionan promedios de 286, 265, 254 HPG para huevos de *Lamanema*, *Nematodirus* y HTS respectivamente. Mientras que para agosto- setiembre los promedios fueron 214, 214, 167 HPG para huevos de *Lamanema*, *Nematodirus* y HTS. Las especies parásitas encontradas a la necropsia fueron: *L. chavezii*, *N. lamae*, *N. spathiger*, *Cooperia oncophora*, *Ostertagia ostertagi* y *Moniezia sp.* (Zanabria y Yucra, 1988).

En los estudios sobre carga parasitaria en zonas cordilleranas del distrito de Pichacani, provincia del departamento de Puno, se mencionan promedios de 169, 199 y 207 HPG en animales jóvenes y en adultos 163, 203 y 213 HPG para huevos de *Lamanema*, *Nematodirus* y HTS respectivamente. Las especies de parásitos gastrointestinales encontradas a la necropsia fueron: *Lamanema chavezii*, *Nematodirus lamae*, *N. spathiger*, *Ostertagia ostertagi*, *Trichostrongylus axei*, *T. colubriformis*, *Graphinema aucheniae* y *Cooperia oncophora* (Chávez y Condori, 1990).

En la ex granja de camélidos sudamericanos de la FMV-UNMSM, hoy La Raya, ubicada entre los departamentos de Cusco y Puno a una altitud de 4,000 m.s.n.m durante las épocas de lluvia y seca se realizó la necropsia de 199 alpacas, muertas por

diferentes causas o sacrificadas para consumo. Los promedios de parásitos encontrados por animal fueron: *Graphinema aucheniae* 385.4, *Nematodirus lamae* 1,054.5, *Lamanema chavezi* 1,771, *N. spathiger* 132.2, *Cooperia sp.* 386.3, *Trichostrongylus axei* 185, *Spiculopteragia peruvianus* 656.8, *Trichostrongylus sp.* 73.5, *Ostertagia* 97.4, *N. filicollis* 17.6 y *Camelostrongylus mentolatus* 3.5. Los más prevalentes fueron *Graphinema*, *Nematodirus* y *Lamanema*. Además, se menciona que los animales menores de dos años y mayores de seis años presentaban cargas parasitarias promedias más altas (Chávez y col., 1967)

El número de huevos por gramo de heces examinados cada cuatro semanas desde el nacimiento hasta los 42 meses, en una ecología de 4000 m.s.n.m. mostró un incremento de la carga parasitaria (HPG) durante los meses de junio y julio. El incremento fue para los huevos tipo *Nematodirus* y *Lamanema*. Otro incremento se registró durante los meses de enero, febrero y marzo para los HTS (Rojas y col., 1987).

6. IMPACTO ECONÓMICO

Las enfermedades parasitarias constituyen uno de los fenómenos biológicos de mayor interés en Medicina Veterinaria. En efecto, existen diversos parásitos en los animales que disminuyen su capacidad productiva, pudiendo producir la muerte y algunos, por su carácter de zoonosis, provocan el decomiso de la carne (Correa y Fleisser, 1989). Es imposible dar un estimado seguro de la importancia económica de las enfermedades parasitarias en el mundo, porque varía grandemente entre países, entre regiones y aún entre especies animales. No obstante, a través de estudios realizados en el Perú, se mencionan pérdidas directas anuales ocasionadas por los parásitos gastrointestinales que representan el 18 %, cuyo monto asciende a \$695,400 dólares anuales. Estos estimados se realizaron en base a detrimentos en los índices de producción como retardo en el crecimiento, pérdida de peso vivo, disminución en la producción de leche, lana y costo de quimioterapia (Rojas. 1990). En alpacas menores de un año se estimaron pérdidas de \$29,000 dólares en sólo 7,000 animales (Calderon y col, 1988).

Es más significativo el parasitismo subclínico o asintomático en el que los animales parecen normales, pero están desarrollando un alto potencial biológico parasitario, lo que se hace difícil de reconocer hasta que haya una considerable pérdida en la producción. El parasitismo está acompañado por una amplia variedad de cambios clínicos y fisiopatológicos, pues según la población parásita los daños varían (Melhorn, 1988). La patogenicidad de una población parásita en particular depende de la carga parasitaria y de las características evolutivas del parásito y sobre todo del lugar de infección. En infecciones graves los efectos son más dramáticos, aunque hay umbrales altos y bajos de parasitismo, que trae como consecuencia efectos adversos sobre el peso corporal y crecimiento de lana (Melhorn, 1988).

Un experimento ilustró los efectos de los diferentes niveles de infección con *Cooperia oncophora* en vacunos. Se demostró que una sola dosis de 2×10^4 larvas no produjo síntomas clínicos, mientras que una dosis de 2×10^5 larvas redujo la tasa de crecimiento 56 a 84 días después (Symons, 1989). En un experimento similar con dosis semanales 3×10^4 ó 3×10^2 ó 9×10^2 larvas de *T. colubriformis*, durante 24 semanas divididos en tres partes iguales, administrados sobre días alternos, se observó que sólo los corderos infectados con dosis de 3×10^4 perdieron peso, mientras que dosis menores no tuvieron efectos sobre la tasa de crecimiento. Sin embargo, luego de 16 semanas de continua infección no hubo diferencia significativa entre las tasas de ganancia de peso de todos los grupos (Symons, 1989).

Los efectos combinados fisiopatológicos de varios parásitos aumentan los daños y es propio de infecciones no específicas. Se ha demostrado que infecciones concurrentes tienen un efecto aditivo sobre la tasa de crecimiento de corderos. Así, animales infectados con $3,8 \times 10^4$ larvas de *Ostertagia circumcincta* más $9,2 \times 10^2$ larvas de *T. colubriformis* tuvieron ganancia de peso vivo de 2×10^2 g/ semana, mientras que la ganancia de peso vivo de aquellos a los que se dieron $3,8 \times 10^4$ larvas de *O. circumcincta* por semana o $9,2 \times 10^2$ larvas de *T. colubriformis* no fueron afectados (Symons, 1989).

Bajo condiciones naturales las infecciones mixtas son más comunes que infecciones monoespecíficas (Symons, 1989). Los parásitos que viven en la luz intestinal compitiendo con el hospedador por los nutrimentos, causan un cuadro subclínico con poca ganancia de peso y retardo en el crecimiento (Trigo, 1998). Diversos experimentos han señalado osteoporosis y osteomalacia asociado a infección intestinal de corderos de 4 a 7 meses de edad, infectados diariamente con 2.5×10^3 larvas de *T. colubriformis*. Luego de 14 semanas de infección se observó reducción de la longitud de la tibia y el volumen de los huesos. Histológicamente se observó una reducción del número de trabéculas, las cuales fueron muy delgadas, discontinuas y algunos corderos mostraron ausencia de osteoblastos en todas las secciones examinadas. Estas anomalías indicaron una pobre osteogénesis y una osteoporosis generalizada (Melhorn, 1988).

La reducción de la mineralización del hueso y bordes osteoides amplios, fueron indicativos de osteomalacia. La infección de *T. colubriformis* redujo la absorción cerca del 30 % de fósforo exógeno e incrementó la pérdida de fósforo endógeno dentro del intestino. Esto indujo a una deficiencia de fósforo, el cual redujo el flujo salival y la concentración plasmática de fósforo. En conclusión, los cambios de peso corporal, alteraciones en la composición del cuerpo se dan y son considerados de importancia en el juzgamiento del impacto económico del parasitismo (Melhorn, 1988).

7. CONTROL

Las medidas de control están basadas principalmente en el uso de drogas antihelmínticas. En cuanto a la eficacia de las drogas más comúnmente empleadas se mencionan a la ivermectina y al levamisol con una eficacia del 100 % (Guerrero y col., 1981). Otros compuestos usados son los compuestos benzimidazólicos, como el albendazol, fenbendazol y oxfendazol. Se recomiendan realizar, dos dosificaciones básicas, una en el mes de octubre, al inicio de lluvias y otra en abril o mayo, después de las mismas (Melo, 1997).

Entre las actividades de manejo se considera la rotación de pastizales. Además de reducir la infestación de la pradera con larvas de parásitos es una medida que implica

un mejoramiento del pastizal que permite una buena alimentación. Vacunos con infección de *O. ostertag*, llevados a pastizales no pastoreados previamente ganaron 6.47 a 8.69×10^2 g/día, mientras que los que estaban en pastizales contaminados ganaron solamente 0.81 a 3.61×10^2 g/día. Por otro lado, se ha observado los efectos de la suplementación de proteína en el nivel de control de nematodos, llegando a la conclusión que las ovejas no suplementadas requieren tratamiento antihelmíntico (Symons, 1989).

En áreas donde la tierra y el clima son poco adecuados para la agricultura, es apropiada la producción de animales rumiantes bajo un sistema de pastoreo extensivo. Ésta podría ser una gran oportunidad para el control integrado de parásitos y con menor riesgo de pérdida inducida por parasitismo. Las operaciones ordinarias de mercado son inadecuadas para generar movimientos rápidos para un sistema ideal, y como resultado de ello existe una baja productividad. Sin embargo, esto puede ser influenciado por políticas gubernamentales, considerando los daños al medio ambiente ya que implicaría un menor uso de productos químicos (Donald, 1994).

El pastoreo alternado entre animales de diferentes edades constituye una forma de control. No obstante, los animales jóvenes y geriátricos y aquellos con dietas pobres tienden a ser más susceptibles a las infecciones parasitarias y menos hábiles para montar una respuesta inmune protectora. El pastoreo complementario alpaca-vacuno y/o alpaca-llama, es considerado como una buena perspectiva para el control de los nematodos (Leguía y Casas, 1999).

8. PATOLOGÍA.

Las reacciones tisulares que se producen cuando el parásito penetra dan lugar a un proceso inflamatorio. El hospedador trata de aislar al parásito formando alrededor de él una membrana de tejido conjuntivo, con presencia de eosinófilos y células gigantes. Habitualmente el tejido que rodea al parásito se esclerosa, caseifica y finalmente se calcifica, encontrándose muerto al parásito en el interior (Tagle, 1970). Los efectos del parasitismo incluyen cambios morfológicos del tracto gastrointestinal que son

usualmente exacerbados por la desnutrición (Symons, 1989). Las lesiones de la mucosa van desde un pequeño cambio en la longitud de la forma de la cripta y vellosidad hasta una mucosa muy delgada sin vellosidad reconocible. Cuando hay un pequeño daño de la vellosidad, las células epiteliales columnares pueden tornarse cuboidales o aplanadas, dependiendo del daño. El ciclo de vida o comportamiento del parásito también influye en la naturaleza de la lesión (Symons, 1989).

La penetración y migración, por hábitos alimenticios, de los parásitos en conjunto producen atrofia de las vellosidades intestinales y reducen el área de absorción de nutrientes y líquidos. Así mismo, los investigadores han descrito las anormalidades de la mucosa yeyunal en humanos desnutridos en proteína y energía señalando que los desórdenes en las criptas y vellosidades son similares a las descritas por infecciones parasitarias (Leguía y Casas, 1999). La atrofia de las vellosidades no necesariamente describe el acortamiento y degeneración de la vellosidad intestinal por infección parasitaria, sino que también es evidente por un desgaste o degeneración debido a una nutrición defectuosa o falta de uso (Symons, 1989).

Las larvas de *Ostertagia ostertagi* ocasionan irritación de la mucosa abomasal, con erosión del epitelio glandular (Threlkeld y Johnson, 1948), las células maduras diferenciadas (mucosas, zimogénicas y parietales), son reemplazadas por células indiferenciadas que dan lugar a células columnares altas de secreción mucosa (Soulsby, 1987). A los pocos días de producirse la infección con *Ostertagia* en ovinos, se presentan infiltrados de linfocitos entre la glándulas y en la profundidad de la mucosa se desarrollan folículos linfoides con centro germinales. Entre las glándulas del abomaso infectado se encuentran linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y unos pocos neutrofilos (Kennedy y col, 1990).

La salida de las larvas distiende las glándulas gástricas y es posible ver la presencia de larvas en las criptas, mientras que las células epiteliales adyacentes que son invadidas por larvas son indiferenciadas, hiperplásicas y metaplásicas. Estos cambios dejan la formación de nódulos sobre la superficie mucosal. El epitelio puede ser descamado cuando emerge el parásito (Symons, 1989). En infecciones experimentales

en vacunos con *O. ostertagi* se encontraron larvas enrolladas en el lumen de la glándula, cerca de la base de la región de muscularis mucosae. En sólo un caso la larva estuvo fuera del lumen de la glándula. En este caso un exudado con infiltración celular rodeaba la larva (Threlkeld y Johnson, 1948).

Las *Cooperias* pueden causar enteritis mucosal a catarral (Leguía y Casas, 1999). Las larvas producen engrosamiento de la mucosa, exudado mucoso abundante y hemorragias puntiformes (Dunn, 1983). Hay inhibición de la L₄ de larvas ingeridas en Otoño y dura 4–5 meses (Boch y Supperer, 1977). Infecciones repetidas con esta especie en ovinos, resulta en la formación de pequeños nódulos en la mucosa intestinal. Estos pequeños nódulos son el resultado de una reacción inmune. Aunque la larva no penetra en la mucosa, entran en un contacto cercano con las criptas para sensibilizar y llevarlo a su destrucción. La reacción inflamatoria cerca de estas larvas resulta en el encapsulamiento y destrucción de los parásitos. En los nódulos viejos hay una proliferación de tejido conectivo con una ligera tendencia hacia el encapsulamiento de la lesión (Morgan, 1949).

En infecciones con *Trichostrongylus axei* el daño del epitelio es ligero pero se observa alguna distorsión y descamación del foco. Este se incrementa según progresa la infección, debido a migración histotrópica de las larvas que se encuentran en todas las fases de desarrollo. El infiltrado celular se incrementa, siendo más profusa en la mitad de la mucosa superficial. Por la sexta a octava semana es más difusa pero con una pequeña exudación dentro del lumen, apareciendo placas blancas grisáceas circulares de 1 cm de diámetro en los pliegues del fundus. La superficie mucosal se cubre con mucus. Histológicamente, el daño se produce aparentemente por el movimiento de los parásitos (Symons, 1989).

Las infecciones con *Trichostrongylus axei* generalmente son parte de una helmintosis gastrointestinal mixta. En los animales afectados gravemente se desarrolla el aplanamiento del epitelio superficial con descamación o erosión de la mucosa, acompañado con efusión de neutrófilos, eosinófilos y líquido tisular. La reacción inflamatoria de la lámina propia es más intensa en la vecindad de las erosiones y no hay

reacción específica asociada con los vermes. Infecciones livianas pueden no producir cambios visibles del abomaso, aparte de la congestión de la mucosa (Kennedy y col, 1990).

La infección de un grupo de corderos con 1'000,000 de larvas de *N. spathiger*, produjo lesión de la mucosa a los 6 días después de la administración de las larvas. Hubo una considerable pérdida del epitelio de las vellosidades y necrosis superficial de la lámina propia. En algunas áreas de la mucosa, el daño fue tan extenso que quedaron pocas evidencias de las vellosidades. En otras áreas, las vellosidades estuvieron más o menos intactas pero mostraron lesión variable y distorsión. En otras instancias las larvas estaban entre las vellosidades sin penetrar debajo del epitelio y algunas veces penetrando el epitelio dentro de la lámina propia. La profunda penetración de la larva llegó hasta la muscularis mucosae, el cual aparentemente fue una barrera impenetrable, causando ligeras protuberancias, pero ninguno penetró a través de ésta (Symons, 1989).

En una infección experimental en corderos de 2 meses con larvas de *N. spathiger* en cantidades de 200, 300, 400, 500 y 800,000 larvas y tres días después se adicionó a cada cordero 100,000 larvas más, haciendo un total de 300, 400, 500, 600 y 900,000 larvas por cordero. Se observó diarrea aguda de variable duración acompañada por pérdida de la condición física y un marcado retardo en el crecimiento. Los efectos patológicos en el intestino correspondieron a una enteritis catarral aguda (Kates y Turner, 1953).

En los helmintos localizados en sitios distantes del intestino, como es el caso de *Lamanema chavezii*, debido a las etapas migratorias del verme se observaron tractos hemorrágicos y áreas de necrosis en el parénquima hepático (Leguía y Casas, 1999). En infecciones experimentales con 20,000 larvas de *Lamanema chavezii*, las alpacas mostraron 20 días después, congestión fuerte de ganglios entéricos, enteritis hemorrágica a la altura del duodeno. En muchas áreas del hígado se observaron necrosis focal diseminada y presencia de una organización de carácter granulomatoso con presencia de células epiteloides y gigantes (Guerrero y col., 1973)

La ostertagiosis tipo I se da durante poco tiempo después de un período de disponibilidad alta de larvas infectantes. Mientras que el tipo II se produce cuando la ingestión de larvas es realmente baja o no existe. Las ostertagiosis tipos I y II no difieren en los signos o lesiones que presentan. Puede haber edema de tejido subcutáneo, mesentérico y acumulación de líquidos en las cavidades corporales. El hígado con frecuencia puede estar atrófico y la vesícula biliar dilatada (Kennedy y col, 1990). Macroscópicamente la mucosa se engrosada, se muestra edematosa con abultamientos circulares de 2-3 mm de diámetro (Soulsby, 1987).

9. FISIOPATOLOGÍA

Una de las principales figuras de la infección por nematodos gastrointestinales es la fuga de proteína plasmática que puede ser del orden del 10 % del volumen del plasma por día. El destino de estas pérdidas es dependiente del sitio de infección. Así, pérdidas por parasitismo abomasal pueden ser reabsorbidas en el intestino, mientras que pérdidas por parasitismo intestinal pueden perderse en las heces (Holmes y Coop, 1994). Estas pérdidas de fluidos plasmáticos traen como consecuencia, una menor presión coloidosmótica y una presión hidrostática relativamente elevada, que da lugar al edema, un mayor catabolismo proteico y por tanto, un deficiente desarrollo somático visceral que es el origen de índices productivos menores (Rojas, 1990)

La reducción del apetito en el hospedador es un factor importante, cuyo mecanismo ha sido asociado a un incremento del nivel de la colecistoquinina. Sin embargo, el uso de drogas para bloquear la colecistoquinina periférica demostró no tener efecto sobre el apetito y que más bien el hipotálamo cumple una función principal (Holmes y Coop, 1994). El incremento del pH abomasal como consecuencia de la infección parasitaria es debido a un incremento en la síntesis de la gastrina por las células G. El incremento de la gastrina estimularía el crecimiento fúndico y sería el responsable para la respuesta hipertrófica observada en el abomaso infectado por *Ostertagia* (Holmes y Coop, 1994). El incremento del pH abomasal da lugar a un aumento de las enterobacterias gram negativas y consecuentemente a la diarrea,

disminuyendo la digestión y la absorción intestinal que traen como consecuencia la pérdida de importantes nutrientes que disminuyen la producción (Rojas, 1990).

Entre los géneros de nematodos causantes de gastroenteropatía con pérdida de proteína, asociado más frecuentemente con inapetencia y diarrea están: *Ostertagia*, *Camelostrongylus*, *Spiculoptera*, *Graphinema*, *Cooperia* y *Trichostrongylus axei*. Sus larvas infectivas se introducen en las glándulas gástricas produciendo destrucción de células productoras de ácido clorhídrico y una hiperplasia de la mucosa gástrica. La mucosa abomasal se observa congestionada, edematosa y con presencia de numerosos nódulos umbilicados. Estos en casos muy graves, se juntan dando la apariencia adoquinada, finalmente se necrosan y desprenden en forma de membranas diftericas de color blanquecino (Leguía y Casas, 1999).

10. RESPUESTA INMUNE

La parasitosis es un fenómeno biológico muy complejo en el que intervienen elementos del hospedador y del parásito, cuya interacción determina el desarrollo, la duración y la patología de la enfermedad. En una infección con parásitos, el hospedador está expuesto a una variedad amplia de material antigénico: de superficie, excreción y secreción y tejidos internos somáticos del parásito (Melhorn, 1988). Algunos de los cuales son específicos de la etapa de maduración del parásito. Los antígenos presentes sobre la superficie del parásito son expuestos directamente al hospedador y algunos de éstos, son blancos para el reconocimiento del parásito por el hospedador y para la destrucción por el hospedador (Bellanti, 1986).

El material antigénico presente en las secreciones y excreciones puede ser reconocido por el hospedador. La respuesta inmune del hospedador a éstos, puede interferir con la alimentación del parásito, y así mediar la destrucción del parásito. Finalmente, los antígenos somáticos internos que viven ocultos en el hospedador, podrían estar expuestos y responder inmunológicamente a éstos, solamente después que el parásito ha muerto o haya sido eliminado (Melhorn, 1988). Los antígenos de superficie que están constantemente expuestos al hospedador pueden ser considerados

como “antígenos evolucionarios”, es decir el parásito responde por varias formas al hospedador, que puede ser por cambio antigénico de la superficie, modulación de antígenos de superficie o por que se cubre con material del hospedador. Estos antígenos de superficie pueden ser excelentes en términos diagnósticos, pero no necesariamente en términos de protección (Melhorn, 1988).

Los parásitos inducen la producción inespecífica y específica de anticuerpos. Es decir que en el curso de muchas infecciones parasitarias se produce una hipergamaglobulinemia inespecífica. Esta hipergamaglobulinemia es debida probablemente a sustancias liberadas por los parásitos que actúan como mitógenos de las células B (Roitt y col., 1997). Las células M están expuestas al lumen del intestino y son accesibles al ataque de patógenos. Las células M son células epiteliales especializadas que transportan material extraño por vía transepitelial, del lumen del intestino al tejido linfoide asociado a mucosa intestinal (GALT) (Neutra y col., 1996). Las células M están asociadas a las placas de Peyer y a los ganglios linfáticos mesentéricos. Poseen células presentadoras de antígeno (macrófagos, células dendríticas), células B y células T, que interceptan los antígenos que llegan a las superficies mucosas. Estas células generan la respuesta inmune en las mucosas, principalmente la producción de Ig A, pero también Ig G y M (Barriga, 1994).

Aunque se consideran que las respuestas son locales o de las superficies mucosas, los linfocitos estimulados por un antígeno en estas localizaciones, corrientemente llegan a los ganglios regionales y de allí a la sangre, por donde circulan por un tiempo limitado, migran entre los sistemas mucosales y pueden permanecer en las mucosas (Barriga, 1994). No obstante, hay evidencia que luego de una infección de vacunos con *O. ostertagi*, sus antígenos son presentados en los nódulos linfoides abomasales (Gasbarre, 1997).

Estudios experimentales indican que las manifestaciones de inmunidad operan en dos sentidos: 1) las que afectan directamente al parásito, o sea inhibición de la penetración e infección, retraso del desarrollo, disminución de la estancia, inhibición de la multiplicación haciendo más lento el aumento de la parasitemia, reduciendo la

fecundidad, eliminando poblaciones parasitarias residuales y produciendo alteraciones de componentes estructurales y fisiológicos y 2) los que operan de manera indirecta para modificar los efectos del parásito dentro del hospedador y que logran la reducción de la morbilidad y mortalidad de éste (Bellanti, 1986).

10.1 Inmunoglobulina G

La inmunoglobulina G es producida localmente por células plasmáticas de la lámina propia del intestino delgado (Rojas, 1990). Niveles altos de Ig G en el suero han sido asociados con una resistencia a *H. contortus* en ovejas adultas inmunizadas, mientras que niveles bajos de IgG en el suero de corderos inmunizados fueron sensibles. Los niveles totales de IgG en el suero han sido relacionados con la inmunidad adquirida a *O. ostertagi* y *C. oncophora*. Animales con altos títulos de Ig G sérica tuvieron pocos parásitos y más pequeños, con menor cantidad de huevos por parásito hembra (Claerebout y Vercruyse, 2000).

10.2 Inmunoglobulina E

Las infecciones con nematodos intestinales están asociadas a una respuesta de hipersensibilidad inmediata mediada por Ig E (Claerebout y Vercruyse, 2000). La respuesta de hipersensibilidad inmediata forma parte de una respuesta mayor, cuyo resultado es la formación de infiltrados inflamatorios ricos en eosinófilos, denominado reacción de fase tardía. La "reacción de fase tardía" es un mecanismo de defensa del hospedador frente a algunas infecciones por helmintos y por artrópodos (Abbas y col, 1999).

La función protectora principal de las reacciones inmunitarias iniciadas por Ig E es la erradicación de los parásitos. La muerte de helmintos recubiertos de Ig E mediado por eosinófilos es una defensa eficaz frente a estos organismos. Así mismo, se ha especulado que la activación de mastocitos dependiente de Ig E en el tracto gastrointestinal favorece la expulsión de los parásitos al aumentar el peristaltismo y la secreción de moco por liberación de histamina (Abbas y col, 1999).

Las estrategias desarrolladas por los mismos parásitos ayudan a retrasar el proceso de rechazo y aseguran la supervivencia y distribución de su progenie. Una inmunidad ineficaz o incompleta resulta en la persistencia del parásito o de sus productos dentro de los tejidos del hospedador, así como una estimulación inapropiada o crónica por los antígenos parasitarios, hiperactividad del tejido dañado y daño del tejido o inmunopatología (Meusen, 1999).

10.3 Patrón de respuesta celular

En la sanfre se ha observado eosinofilia y un incremento en el número de eosinófilos en la mucosa gastrointestinal en infecciones en los géneros *Nippostrongylus*, filarias y esquistosomas. Estas respuestas se atribuyen a la tendencia que tienen los helmintos a estimular las poblaciones de células T colaboradoras (CD4). que secretan IL 4 y IL 5. La IL 4 estimula la producción de Ig E y la IL 5 estimula el desarrollo y activación de los eosinófilos (Claerebout y Vercruyse, 2000).

Los eosinófilos pueden matar eficazmente a los helmintos más que otros leucocitos, porque la proteína básica principal de los gránulos de los eosinófilos puede ser más tóxica para los helmintos que las enzimas proteolíticas producidas por neutrófilos y macrófagos. Sin embargo, se ha establecido en infecciones por helmintos la función ineludible de la Ig E y de los eosinófilos en la resistencia de animales in vivo. La habilidad de los eosinófilos para matar una variedad de parásitos in vitro, incluyendo larvas del nemátodo *Trichinella spiralis*, indican que los eosinófilos son células antiparasitarias efectoras (Claerebout y Vercruyse, 2000).

Los resultados de numerosos estudios en roedores han sugerido que aunque los eosinófilos pueden estar involucrados en la protección, ellos no tienen un efecto directo contra los nematodos. La administración de anticuerpos monoclonales anti-IL 5 ha mostrado un bloqueo de la eosinofilia en ratones, pero no el desarrollo de resistencia a *Nippostrongylus brasiliensis* y *Trichinella spiralis*. En ovejas, la eosinofilia ha sido asociada con resistencia a *Trichostrongylus colubriformis*, *T. circumcincta* y a infecciones de *Nematodirus battus*. En un estudio se encontraron niveles elevados de eosinófilos en

la sangre, mucosa del abomaso y yeyuno de cabras que fueron resistentes a *Ostertagia circumcincta* y *T. colubriformis*, comparados con cabras susceptibles (Claerebout y Vercruyse, 2000).

En vacunos la infección de *O. ostertagi* ha sido asociada con acumulación de eosinófilos en la mucosa abomasal. Sin embargo, el efecto de los eosinófilos contra *Ostertagia* no está bien establecido. Se ha encontrado que los eosinófilos se unen a la L₃ de *O. ostertagi*, pero no se sabe si las larvas son dañadas, también se ha demostrado que la L₃ de *O. ostertagi* es capaz de atraer a los eosinófilos *in vitro* e *in vivo* (Claerebout y Vercruyse, 2000). En ovinos un aparente incremento del nivel de eosinófilos circulantes en ovejas suplementadas con concentrados fue asociada con la expulsión de nematodos (Holmes y Coop, 1994).

Los eosinófilos están típicamente asociados a las infecciones por helmintos. Se ha sugerido que los eosinófilos evolucionaron como sistema de defensa específico frente a las fases tisulares de aquellos parásitos cuyo excesivo tamaño impiden que puedan ser fagocitados. Los eosinófilos destruyen a los helmintos mediante mecanismos dependientes e independientes de oxígeno. Los eosinófilos no poseen propiedades fagocíticas tan acusadas como los neutrófilos, las perturbaciones de la superficie de su membrana inducen su desgranulación y su actividad se ve estimulada por citocinas como TNF α y GM-CSF (Roitt y col., 1997).

La mayoría de los efectos de los eosinófilos se encuentran bajo el control de mecanismos específicos de antígeno. Así, su unión *in vitro* a larvas de helmintos recubiertos con Ig E o Ig G estimula la liberación del contenido de sus gránulos sobre la superficie de los parásitos. Las lesiones pueden ser causados por la proteína básica principal del eosinófilo y no es específica. Los eosinófilos y los mastocitos actúan coordinadamente. Los antígenos liberados provocan la desgranulación de los mastocitos dependientes de Ig E. a nivel local, así como la liberación de mediadores. Éstos, atraen selectivamente a los eosinófilos hacia la zona de infección y potencian su actividad (Roitt y col., 1997).

Los parásitos para establecerse, deben superar primero los mecanismos de defensa preexistentes. El complemento desempeña un papel importante, ya que existen varios parásitos que poseen moléculas de superficie capaces de activar la vía alternativa. La primera línea de defensa constituyen los macrófagos, los neutrófilos, los eosinófilos y las plaquetas. Los anticuerpos y las citocinas producidos en las respuestas específicas a los antígenos parasitarios potencian la actividad antiparasitaria de estas células efectoras. Sin embargo, los macrófagos tisulares, los monocitos y los granulocitos poseen una cierta actividad intrínseca incluso en ausencia de una estimulación previa (Holmes y Coop, 1994).

Los macrófagos pueden destruir parásitos extracelulares. La fagocitosis por los macrófagos constituye un importante mecanismo de defensa frente a los parásitos de menor tamaño, sin embargo estas células también secretan muchos factores citotóxicos, lo que les permite destruir parásitos sin necesidad de ingerirlos. Los macrófagos también se pueden comportar como células asesinas mediante el mecanismo de ADCC (Roitt y col., 1997).

Antes de actuar como células presentadoras de antígenos iniciadoras de la respuesta inmunitaria, los macrófagos actúan como células efectoras, inhibiendo la multiplicación de los parásitos o incluso destruyéndolas, además secretan moléculas que regulan la respuesta inflamatoria. Algunas de estas moléculas (IL 1, IL 2, TNF α y factores estimulantes), potencian la respuesta inmunitaria al activar otras células o inducir su proliferación. Los macrófagos secretan moléculas inflamatorias inespecíficas como TNF e IL1 que colaboran en la inducción de la proliferación de las células caliciformes e incrementan la producción de moco. Este moco recubre a los parásitos y provoca su expulsión (Roitt y col., 1997).

Los neutrófilos también poseen las propiedades efectoras que muestran los macrófagos, éstos son células de naturaleza fagocítica y pueden destruir a los parásitos tanto por mecanismos dependientes de oxígeno como por mecanismos independientes del mismo. El estallido respiratorio es más intenso en los neutrófilos que en los macrófagos y sus gránulos de secreción contienen proteínas altamente citotóxicas. La

destrucción extracelular mediada por los neutrófilos se lleva a cabo mediante la producción de peróxido de hidrógeno (Roitt y col., 1997). Los neutrófilos se acumulan en las regiones inflamadas infectadas por los parásitos, donde es probable que se encarguen de eliminar los parásitos liberados tras la destrucción de las células. Al igual que los macrófagos, los neutrófilos poseen receptores Fc y del complemento por lo que pueden intervenir en las reacciones ADCC. En este sentido pueden tener mayor poder destructor que los eosinófilos frente a varias especies de nematodos (Roitt y col., 1997).

Las células T son esenciales para el desarrollo de la inmunidad, para la defensa frente a algunos parásitos son necesarias tanto las células T CD4 como las CD8. Sin embargo, el tipo de célula T encargada de controlar una infección, depende del tipo de parásito y de la fase de la infección, así como de las citocinas que producen. Las células T CD4 actúan de diferente manera según el tipo de infección y pueden pertenecer a dos subpoblaciones diferentes TH1 y TH2. En las fases iniciales de la infección pueden encontrarse ambas subpoblaciones pero según tiempo y edad puede modificarse el equilibrio, las citoquinas que estas células producen son antagónicas (Roitt y col., 1997).

Las células T (principalmente TH) responden a los Ag parasitarios e inducen la síntesis de anticuerpos (Ac) por parte de las células B que han proliferado previamente como respuesta a IL 4, IL5; la proliferación de los mastocitos de la mucosa como respuesta a IL3, IL4, IL 9 e IL 10 y la hiperplasia de las células caliciformes del epitelio intestinal que secretan moco. Los helmintos son dañados por la acción coordinada de los Ac y los productos de los mastocitos sensibilizados por las Ig E, que se degranulan tras establecer contacto con el antígeno (Ag) y liberan histamina, mediador que aumenta la permeabilidad del epitelio intestinal. Sin embargo, estos procesos no son suficientes para eliminar los helmintos (Roitt y col., 1997).

Las células TH son esenciales para la eliminación de los helmintos intestinales. La expulsión de algunos nematodos intestinales se produce espontáneamente a las pocas semanas de la infección primaria. Parece que esta expulsión se produce en dos fases y

que se consigue mediante una combinación de mecanismos dependientes e independientes de células T (Roitt y col., 1997).

10.4 Ig G y el patrón de respuesta humoral

En un estudio sobre evaluación de la prueba de Western blot o EITB para el diagnóstico de la infección por *Lamanema chavezii* en alpacas, se caracterizaron 23 proteínas totales de la fracción soluble de *L. Chavezii*, mediante electroforesis en geles de poliacrilamida- sulfato dodecil de sodio al 12%, con movilidad relativa entre 30.4 y 139.4 kDa. Catorce de las proteínas fueron reconocidas por anticuerpos de alpacas positivas a la infección por *L.chavezii* a la prueba de Western blot. La elección de las proteínas con criterio diagnóstico consideró péptidos con pesos moleculares de 58.8, 57.7, 55.4, 35 y 31.6 kDa. Bajo este criterio se encontró el número de sueros positivos y el número de sueros negativos a la prueba de Western Blot (López, 1994).

Los productos de excreción /secreción (E/S) de *Haemonchus contortus*, comprenden por lo menos 15 polipéptidos, con pesos moleculares que varían entre 10 a más kDa. Estos productos de excreción/secreción inducen una respuesta inmune en ovinos infectados, tal como se demostró por los niveles de IgG1 y proliferación significativa de linfocitos (Schalling y col., 1994).

Los análisis de inmunotransferencia revelaron que el suero de ovinos infectados por primera vez con *Haemonchus contortus*, específicamente reconocieron a un producto de E/S de 24 kDa. Además, el suero de ovinos en riesgo reaccionaron fuertemente con un producto de E/S de 15 kDa, los otros productos de E/S de *H. contortus* mostraron inmunorreactividad con muestras de sueros de ovinos con *Trichostrongylus*; estas reacciones cruzadas de epitope, son la principal causa de la pérdida de especificidad de ELISA. Esta Elisa puede diferenciar infecciones de *Haemonchus*, de *Nematodirus battus* pero no de *Ostertagia circumcincta* o de *Trichostrongylus colubriformis* (Schalling y col, 1994).

Los helmintos se vuelven progresivamente menos antigénicos conforme evolucionan en presencia de un sistema inmunitario funcional. Otro mecanismo para evadir la respuesta inmunitaria es la variación antigénica secuencial. Aún durante la fase de crecimiento muestran cambios cuantitativos en la expresión de los antígenos proteínicos de superficie (Tizard, 1998).

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Lugar de Estudio

El presente estudio se realizó entre junio de 1999 a junio del 2000, en las comunidades campesinas del distrito de Pichacani -Laraqueri, provincia y departamento de Puno, a más de 3,975 m.s.n.m., latitud sur 16°08'46'' y longitud oeste 70°03'42''. Según los datos meteorológicos existentes en la estación de Laraqueri, la zona de estudio tiene una temperatura media anual de 7°C. Los meses de noviembre a enero son los más calurosos con temperatura media de 8.5°C y los meses de junio y julio los más fríos, con una temperatura media de 5.25°C. La precipitación anual media es de 60.2 mm Hg, con periodos sin precipitación, que corresponde a los meses de mayo a agosto, considerados como época seca y los periodos de mayor precipitación que corresponden a los meses de diciembre a marzo, considerados como época de lluvia.

Los estudios de laboratorio se llevaron a cabo en los laboratorios de Parasitología y Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno, así como en los laboratorios de Inmunoparasitología e Histopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos-Lima.

2. Animales

Debido a la falta de información se decidió enfocar el trabajo como un estudio piloto y se consideró practicar el beneficio de un total de 120 alpacas variedad huacaya de 1 a 6 años de edad, machos y hembras. Se beneficiaron 60 animales en época de

lluvia y 60 en época seca. Los animales se distribuyeron en 10 alpacas de cada edad y sexo (5 machos y 5 hembras de 1-6 años). Estas alpacas procedían de las diferentes comunidades campesinas del distrito de Pichacani-Laraqueri, donde la crianza de animales es mixta (alpacas, llamas, ovinos y en menor número vacunos) en las zonas más bajas y en las zonas altas sólo alpacas, llamas y ovinos.

3. Obtención de muestras

Las muestras fueron obtenidas en diferentes domicilios. Se registraron la edad de las alpacas por dentición, así como el sexo y peso de la carcasa.

3.1 Sangre

Se obtuvo una cantidad de 10 ml de sangre sin anticoagulante directamente de la vena yugular durante el degüello de los animales. Se extrajo el suero por centrifugación a 3,000 r.p.m. y se conservó a -20°C hasta su uso.

3.2 Abomaso e intestino delgado

El cuajar se separó luego del beneficio y evisceración, se abrió longitudinalmente para eliminar el contenido grosero. El intestino delgado se ligó en la región iliocecal, luego se procedió a separar el mesenterio hasta la unión cecocólica. Las muestras individualizadas se colocaron en bolsas de polietileno con su respectiva identificación y transportados al laboratorio para su procesamiento.

3.3 Muestras para histopatología

Muestras de ganglios linfáticos mesentéricos, abomaso, intestino delgado e hígado se colocaron en formol al 10 % hasta su procesamiento.

4. Procesamiento de muestras

4.1 Recolección y recuento de helmintos gastrointestinales

4.1.1 Abomaso.

Con la ayuda de una espátula se raspó toda la mucosa del tercer compartimiento y se colocó en un frasco con tapa provista de un tamiz de 60 hilos por pulgada cuadrada. El frasco se llenó con agua de grifo y se agitó para eliminar el agua. Esta operación se repitió hasta que el agua saliera clara de la botella. Luego se procedió a analizar en alícuotas sobre una placa petri grande, la misma que se colocó sobre una fuente de luz. Los vermes se recogieron con la ayudada de mondadientes y se identificaron según género y especie por sus características morfológicas macro y microscópicas. Luego, los parásitos identificados se distribuyeron en placas petri más pequeñas con PBS (0.01M, pH 7.2) y conservados a -20°C para la preparación de antígeno soluble.

4.1.2 Intestino.

El intestino delgado se separó en segmentos y el contenido se depositó en un frasco colador con la ayuda de la presión del agua de grifo. Luego se siguió el mismo procedimiento aplicado para el abomaso.

4.2 Identificación parásitos

La identificación de los helmintos gastrointestinales se realizó en base a las principales características morfológicas de género y especie citadas por diferentes autores.

4.2.1 Género Lamanema

Presenta la cutícula de la cabeza y de la región cervical ligeramente inflada; la región cervical presenta estrías transversales, la cavidad bucal es poco profunda y los machos poseen un gubernáculo grande (Becklund, 1963).

4.2.2 Género *Nematodirus*

Son filiformes, su cuerpo está encorvado por lo que se enredan unos con otros (Dunn, 1983); la región anterior presenta una dilatación cuticular cefálica, los machos presentan espículas largas y delgadas, las hembras presentan cola truncada con un pequeño espolón (Basso y col., 1988)

4.2.3 Género *Cooperia*

Presentan una bursa grande, debido a los rayos bursales grandes y gruesos, los machos no presentan gubernáculo (Dunn, 1983); son rojizos, el extremo anterior presenta una dilatación cefálica surcada por estriaciones transversales (Lapage, 1982; Dunn, 1983), Los machos presentan telamón (Boch y Supperer, 1977)

4.2.4 Género *Trichostrongylus*

Son finos y de color rojizo, en la parte anterior es más estrecha, la boca está rodeada de 3 labios, las espículas son anchas, cortas, de forma peculiar, en algunos casos desiguales y de color pardo amarillento, la bursa tiene lóbulos laterales grandes y un lóbulo dorsal (Borchert, 1981), no presentan telamón (Boch y Supperer, 1977). Las hembras son tan pequeñas que no pueden tener más de 12 huevos en su interior (Basso y col., 1988), la vulva se abre en el tercio posterior

4.2.5 Género *Ostertagia*

Presentan cápsula bucal pequeña, con papilas cervicales y prebursales, las espículas son pardas y terminan en dos a tres procesos o apéndices, tienen gubernáculo. La vulva está situada en la última quinta parte del cuerpo (Borchert, 1981)

4.2.6 Género *Graphinema*

Presentan papilas cervicales, la boca está seguida de una pequeña cápsula bucal anular, el esófago es claviforme, las espículas son largas delgadas y terminan en punta, no tienen gubernáculo. Las hembras presentan cola alargada y cónica, la vulva está situada en el tercio posterior (Guerrero y Rojas, 1969)

4.2.7 Género *Camelostrongylus*

La característica más importante para diferenciarlos es la forma de las espículas que son largas y delgadas y presentan estricciones transversales en toda su longitud (Dunn,1983)

4.3 Procesamiento histopatológico

Las muestras de abomaso, intestino delgado e hígado fueron procesadas por la técnica de inclusión en parafina. Los cortes de tejido se colorearon con hematoxilina-eosina para observar y describir las lesiones.

4.4 Patrón de respuesta humoral

4.4.1 Sueros controles para *Lamanema chavezii*

Estos sueros se definieron de la siguiente manera:

Control positivo. Suero proveniente de animales con presencia del parásito en el intestino delgado y lesiones perladas características en el hígado. Se colectaron un total de 19 sueros.

Control negativo. Suero proveniente de animales sin los parásitos en el intestino delgado y sin lesiones perladas características en el hígado. Se colectaron un total de 5 sueros.

4.4.2 Sueros controles para *Nematodirus sp.*

Estos sueros se definieron de la siguiente manera:

Control positivo. Suero proveniente de animales con presencia del parásito en el intestino delgado. Se colectaron un total de 22 sueros.

Control negativo. Suero proveniente de animales sin los parásitos en el intestino delgado. Se colectaron un total de 7 sueros.

4.4.3 Colección de parásitos

Para la caracterización proteica de los parásitos se colectaron un total de 340 adultos de *L. chavezii* y 560 adultos de *Nematodirus sp.* del intestino delgado de alpacas infectadas naturalmente. Estos parásitos se conservaron en PBS (0.015M, pH 7.2) a -20°C.

4.4.4 Extracción de las proteínas solubles de *L. chavezii* y *Nematodirus sp.*

El antígeno de *Lamanema chaezi* empleado en este estudio se preparó a partir de 340 parásitos. Estos se colocaron en un homogeneizador con PBS-timerozal 0.01M, pH 7.2 (Fleisher y col., 1979). Luego el homogeneizado se transfirió a un vaso de precipitado de 10 ml y se sonicó (Sonicador Fisher Sonic Dismembrator Model 300/Arker-Systems Corporation) a 60 Hz durante 2 minutos por 10 veces (Hochstad, 1978). Durante la sonicación el vaso de precipitado se mantuvo sobre hielo picado. Posteriormente el lisado se centrifugó a 12,600 x g durante 20 minutos a 4°C (Centrífuga refrigerada Eppendorf 5402), de esta forma se separó la fracción soluble, la misma que se distribuyó en alícuotas de 100 µl y se conservó a -20°C hasta su uso (López, 1994).

El antígeno de *Nematodirus sp.* empleado en este estudio se preparó a partir de 560 parásitos adultos y el procedimiento empleado fue similar al descrito para *L. chavezii*.

4.4.5 Determinación de la concentración de proteínas del antígeno soluble

Se empleó la técnica de Proteínas Totales sistema Multitest (Merck). La solución de reacción se preparó mezclando una parte de la solución reactiva con 4 partes de agua bidestilada. Se distribuyó 1 ml de esta solución en tres tubos de ensayo (blanco, muestra y estándar). Luego se agregaron 20 µl de muestra al tubo muestra y 20µl del estándar al tubo estándar, se homogeneizó y se incubó durante 10 minutos a temperatura ambiente. Por último el blanco, el estándar y la muestra se leyeron a 546 nm (Espectrofotómetro Shimatzu UV 1203).

El cálculo de la concentración de proteínas fue:

$$[] Pt = [] St \times ? Am / ? ASt$$

La concentración de proteína para *Lamanema chavezii* fue de 0.89 g/dl y para *Nematodirus sp.* 0.60 g/dl.

4.4.6 Análisis electroforético del extracto soluble de *L. chavezii* y *Nematodirus sp.*

El extracto crudo fue separado en un gel SDS-PAGE según la técnica descrita por Laemmli (1970). Las dimensiones del gel de separación fueron 6 x 8 x 0.75 mm. El perfil electroforético se determinó tiñendo los geles con azul brillante de Coomassie.

Preparación de geles

Se utilizó geles de de separación al 12.5 %. El gel se preparó a partir de una solución de acrilamida 30%/bis acrilamida 0.8%. El tampón del gel de separación consistió de Tris-HCL 1.5M pH 7.5, SDS 0.4 %, agua destilada, 50 µl de APS al 10 % y 5 µl de TEMED. La cámara alta del equipo de electroforesis (Bio-Rad Mini Protean Cell II) se cargó con la solución del gel y se dejó polimerizar durante 1 hora.

El gel de concentración se utilizó al 5 %. El gel se preparó a partir de una solución de acrilamida 30 %/bis acrilamida 0.8 %, tampón del gel de separación (Tris HCl 0.5M, pH 6.8, SDS 0.4 %) agua destilada, 30 µl de APS al 10 % y 5 µl de TEMED. Una vez que el gel de separación estaba polimerizado se agregó el gel de concentración y se colocó un peine de 5 pocillos cuando se quería trabajar con geles teñidos o un peine preparativo 2D cuando se requería trabajar con la prueba de EITB o WB.

El antígeno soluble se diluyó en tampón de muestra 5X (Tris-HCl 60 mM, glicerol 25 %, SDS 2 %, 2-ME 14.4 mM, azul de bromofenol 0.1 %). Luego se llevó a ebullición durante 3 minutos. La cámara baja de la unidad de electroforesis se llenó con tampón de electroforesis (Tris-HCl 25 mM, glicina 192 mM, SDS 0.1 % y agua destilada). Luego se procedió a llenar los pocillos del gel de concentración con la muestra y el MPM (GIBCO BRL: 215.9, 120.9, 72.9, 46.7, 29.5, 20.15, 14.6 kDa). La electroforesis se efectuó a voltaje constante de 200V durante 1 hora a 4°C.

Coloración con azul brillante de Coomassie

Siguiendo la metodología descrita por Harlow y Lane (1988), luego de efectuada la electroforesis el gel se transfirió a un contenedor de vidrio y se le añadieron 5 volúmenes conteniendo 0.25 % del colorante azul brillante de Coomassie R-250 (SIGMA). El gel se dejó en el colorante durante 2 horas a movimiento constante. Posteriormente se decoloró con una solución de metanol 5 % y ácido acético 7.5 % con movimiento constante durante 16-18 horas.

Transferencia a membrana de nitrocelulosa

La membrana de NC se cortó (5 x 8 cm) y se colocó al igual que el gel en tampón de transferencia (tris 15.9 mM, glicina 120 mM) durante 30 minutos. Luego las proteínas se transfirieron con tampón de transferencia helado en una cámara de transferencia Bio-Rad a 100 V durante 1 hora a 4°C.

4.4.7 Detección de IgG séricas de alpacas infectadas con *L. chavezii* y *Nematodirus sp.* mediante la prueba de EITB

El objetivo fue detectar la presencia de IgG en los sueros de alpacas infectadas naturalmente, con capacidad de reconocer las fracciones proteicas separadas en los geles SDS-PAGE (Bollag y Edelstein, 1992). Con esta finalidad la membrana de NC se bloqueó con tampón de bloqueo (TBS-T20 0.05 % - leche descremada 5 %), durante 1 hora en agitación constante y a 37°C. Luego la membrana de NC se lavó 3 veces en tampón de lavado (TBS-T20 0.5 %) durante 5 minutos cada lavado. Se trabajó con placas de 8 canales y con la membrana de NC cortada en tiras de 4 mm de ancho. Cada tira de la membrana de NC se colocó en una canaleta de la placa.

Luego se añadieron los sueros diluidos 1:50 en tampón de bloqueo y se dejaron en agitación constante durante 16-18 horas a temperatura ambiente (18°C). Posteriormente las tiras de NC se lavaron 3 veces con tampón de lavado. Luego se añadió el conjugado Proteína A conjugada con peroxidasa (SIGMA) diluida en tampón de bloqueo 1: 500 a cada canaleta y se dejó incubando en agitación constante durante 1 hora a 37°C. Tras esta incubación se procedió al lavado de las tiras 3 veces con tampón

de lavado y 1 vez con TBS solo. Finalmente se añadió el sustrato para peroxidasa y cromógeno TMB (Kirkegaard & Perry) y se dejó actuar durante 10 minutos en oscuridad. Por último la reacción se detuvo lavando las tiras 10 veces con agua destilada.

5. Análisis de resultados

La carga parasitaria fue analizada mediante el diseño completamente aleatorio y el análisis de varianza para encontrar las diferencias entre época, edad, sexo y las interacciones sexo y edad y época y edad. Luego en caso de diferencia significativa se realizó la prueba de Tukey a un nivel de confianza del 95%. Las lesiones histopatológicas del abomaso, intestino e hígado fueron expresadas en valores porcentuales y correlacionadas a la carga parasitaria por la prueba de Spearman. Así mismo fueron sometidos a un análisis multivariado para determinar los factores edad y época y las diferentes variables.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. CARGA PARASITARIA GASTROINTESTINAL

1.1 Promedio general de la carga parasitaria gastrointestinal en alpacas huacaya machos y hembras de 1 a 6 años de edad necropsiados en épocas lluviosa y seca.

Los promedios generales del número de parásitos helmintos gastrointestinales encontrados al beneficio para cada edad y sexo, según comportamiento anatómico se consignan en las figuras 1-11.

parásitos como promedio de ambas épocas, con un rango entre 64 a 858.7 parásitos. Los machos de 6 años de edad presentaron la mayor carga parasitaria, significativamente mayor que las otras edades ($P < 0.05$). Por otro lado, en las hembras se observó un promedio de 197.4 parásitos en ambas épocas, con un rango de 88.1 a 332.5 parásitos, sin mostrar diferencias significativas entre edades ($P > 0.05$).

En el promedio general de la carga parasitaria de las alpacas (cuadro 3), sólo las alpacas de 6 años de edad mostraron cargas parasitarias significativamente mayores que las otras edades ($P < 0.05$). En las alpacas de 1-5 años la estadística no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$). Asimismo, se observó que las alpacas machos presentaron mayor carga parasitaria que las hembras, lo cual fue significativo en alpacas de 6 años ($P < 0.05$) (Cuadro).

Son muy pocas las investigaciones realizadas sobre la carga parasitaria en alpacas beneficiadas o necropsiadas. En adición, estos trabajos han sido realizados en alpacas de explotaciones medianas o grandes y casi ninguno en pequeñas explotaciones y comunidades campesinas donde la crianza generalmente es mixta (alpacas, ovinos, llamas y vacunos), con condiciones de manejo deficientes y en los que se concentran el 87 % de la población de alpacas y llamas (Leguía y Casas, 1999).

Un estudio en la ex granja de auquénidos La Raya, ubicada entre los departamentos de Puno y Cuzco, en alpacas muertas por diversas causas o sacrificadas para consumo demostró que las alpacas menores de 2 y mayores de 6 años tuvieron un promedio mayor de carga parasitaria, con cargas parasitarias para 1 año de 2,000, 2 años de 1,965.3, 3 años de 504.2, 4 años de 644.7, 5 años de 1,162.5, 6 años de 673.6 y más de 6 años de 2,000.9 parásitos (Chávez y col., 1967). Si bien estos valores promedio incluyen a los parásitos del intestino grueso en una cantidad no señalada por los autores, resultan ser muy altos comparados a los encontrados en el presente estudio.

Esta diferencia puede explicarse debido a que los autores estudiaron en condiciones de puna húmeda y en rebaños formados únicamente por camélidos sudamericanos. Contrariamente, los resultados del presente estudio corresponden a condiciones de puna seca y en comunidades campesinas con sistema de explotación mixta (alpacas, ovinos, llamas y vacunos en menor proporción), condición que limita la difusión de helmintos gastrointestinales (Rojas, 1990).

En el presente estudio las alpacas menores de 2 años mostraron una carga parasitaria mayor, pero no fue significativamente diferente a las edades de 3 a 4 años, como ocurrió en los estudios de Chávez y col. (1967). Estos resultados se deban quizás porque en zonas netamente alpaqueras en puna húmeda durante la lactación y empadre de alpacas, los campos de pastoreo se contaminan con niveles altos de larvas infectivas, con el consiguiente incremento en la carga parasitaria y una mayor eliminación de huevos (Leguía y Casa, 1999).

Una condición semejante ocurre a nivel de comunidades campesinas, pero las larvas contaminantes de los pastizales en este caso son controladas, como ocurre en el presente estudio, por el clima seco y pastoreo alternado entre animales de diferentes edades y sobre todo entre diferentes especies como ovinos y vacunos que actúan como “aspiradoras” de larvas que no son capaces de desarrollarse en ellos (Leguía y Casas, 1999; Rojas, 1990). Por otro lado, el incremento significativo observado en la carga parasitaria de alpacas de 6 años a más en el presente estudio coincide con los hallazgos de Chávez y col. (1967), lo que obedece probablemente a que estos pastorean pastizales pobres (con sobrepastoreo) y por tanto se encuentran animales en condiciones de carne deficientes (Armour, 1989). Sin embargo, estas observaciones parecen ser diferentes en las helmintiasis de los vacunos, donde los animales mayores o viejos presentan menos parásitos (Dunn, 1983).

Respecto al sexo, se menciona que las hembras presentan menos parásitos que los machos. Un estudio en animales jóvenes demostró que mediante la administración de hormonas femeninas la resistencia a las infecciones por parásitos aumentó, en cambio en hembras ovariectomizadas su resistencia disminuyó hasta el nivel de los machos (Dunn, 1983). Una situación similar se observó en las alpacas del presente estudio, lo que hace suponer que las hormonas femeninas influyen en la carga parasitaria.

Los resultados también indican que una carga mayor de parásitos se encuentra en el intestino delgado que en el abomaso, tanto en alpacas machos como en hembras y en ambas épocas. En este contexto, en alpacas machos en época de lluvia de un total de 397.93 parásitos, 365.07 se encontraron en el intestino delgado, lo que representa el 91.74 %. Lo mismo ocurre en época seca donde de un total de 235.67 parásitos encontrados, el 99.56 % (234.63) corresponde al intestino delgado. Esta condición es similar en la carga de parásitos en las alpacas hembras, lo cual se explicaría principalmente porque en el intestino delgado se localizan los parásitos que se encuentran en mayor cantidad y el mayor número de géneros de parásitos.

Además, al comparar la carga parasitaria total entre épocas se observó que en la época de lluvia existe una mayor carga parasitaria que en época seca ($P < 0.05$). Esta observación es significativa en el abomaso ($P < 0.05$), mientras que la carga parasitaria del tracto intestinal no muestra variación significativa entre épocas ($P > 0.05$). Esta fluctuación de la carga parasitaria puede ser debida a que nemátodos que presentan HTS y que se localizan en el abomaso, como *Camelostrongylus* y *Trichostrongylus axei* muestran una marcada estacionalidad (Smith, 1996). Sin embargo, los nemátodos encuentran en la época de lluvia condiciones favorables para su desarrollo, supervivencia y transmisión de larvas infectivas, lo cual se traduce en niveles altos de infección (Rojas, 1990).

Por otro lado, *Lamanema* y *Nematodirus* que se localizan en el intestino delgado, no muestran variación entre épocas, es decir que las infecciones por estos parásitos son significativas tanto en época lluviosa como en época seca (Leguía y Casas, 1999). Debe tenerse en cuenta que diversos factores como geográficos, geológicos y edáficos intervienen en la formación de ecosistemas naturales que condicionan la presencia de los parásitos y la intensidad del parasitismo (Compaire y Tarazona, 1985). El clima es probablemente el factor más importante que influye en la distribución espacial de los parásitos (Levine, 1963).

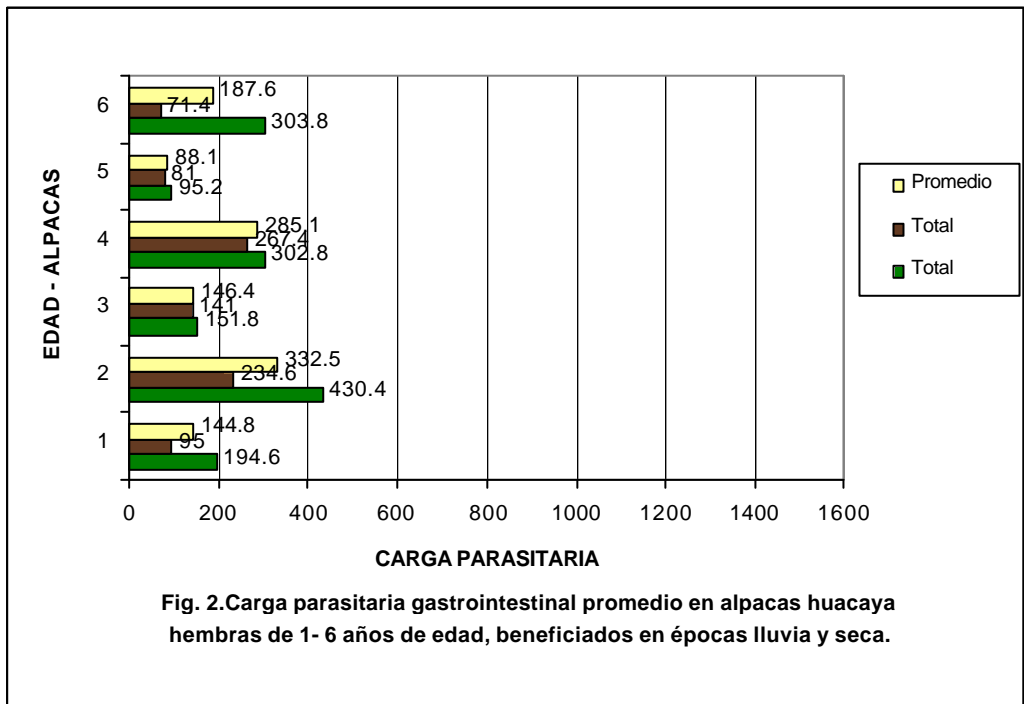
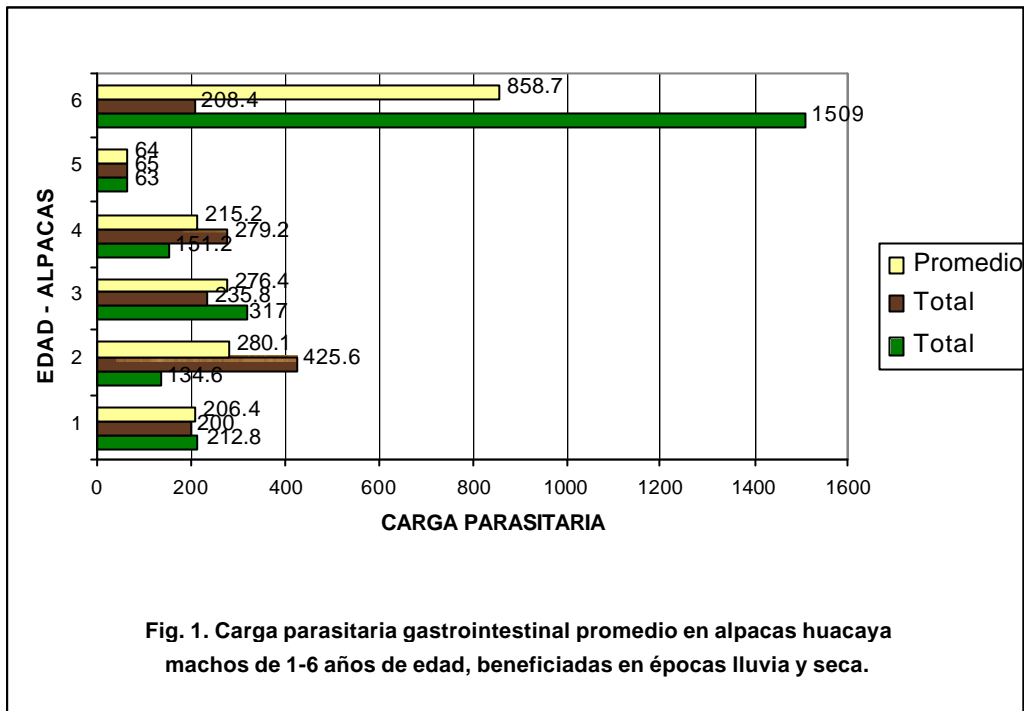
1.2 Carga parasitaria gastrointestinal promedio en alpacas según géneros de parásitos, sexo, edad y época.

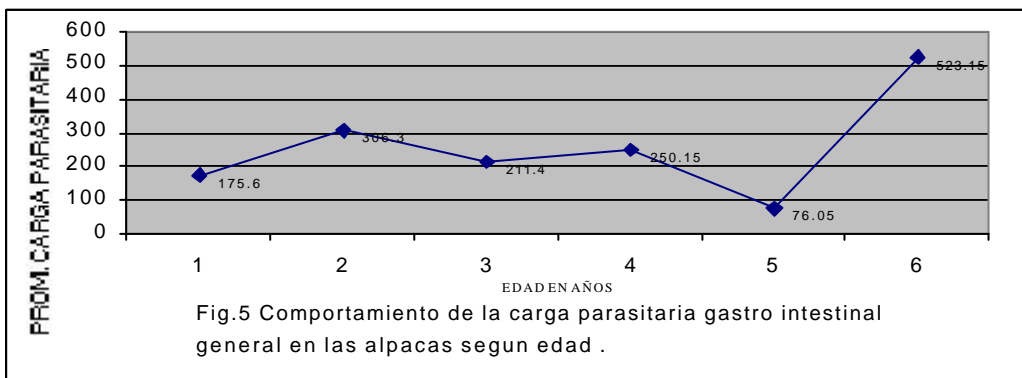
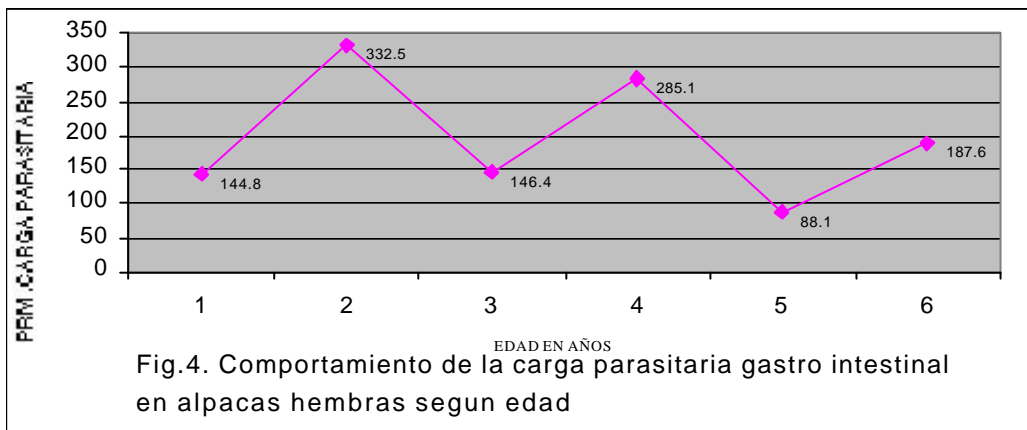
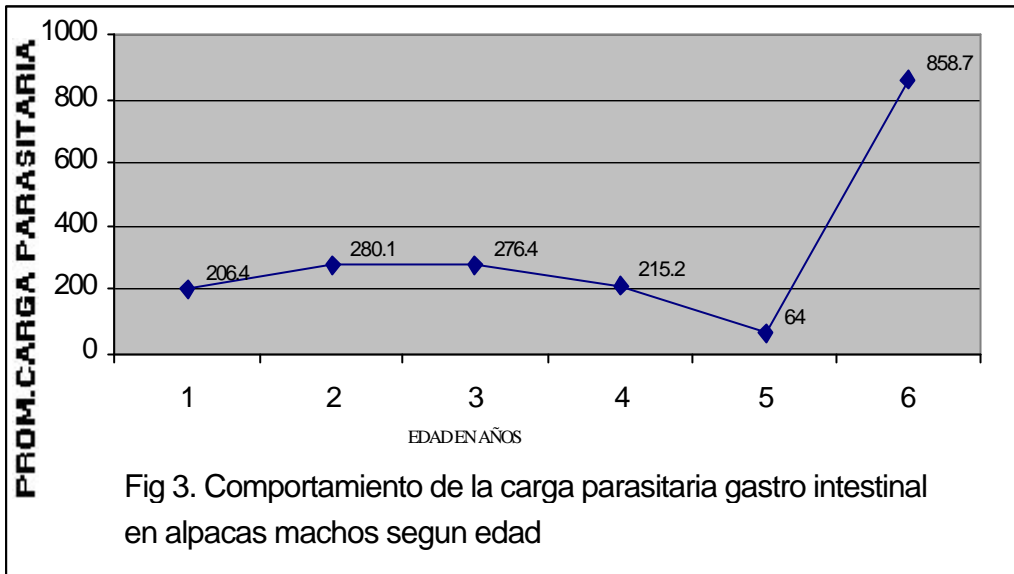
Las figuras 8-11 indican que tanto en alpacas machos como hembras en todas las edades y en épocas lluviosa y seca, los géneros de parásitos *Lamanema* y *Nematodirus* son los más numerosos respecto a otros géneros de parásitos. Los resultados del presente estudio referente a estos dos géneros de parásitos concuerdan con las afirmaciones de Leguía y Casas (1999), quienes indican que en el caso de *Lamanema* y *Nematodirus* existen infecciones significativas tanto en el periodo lluvioso como en el seco.

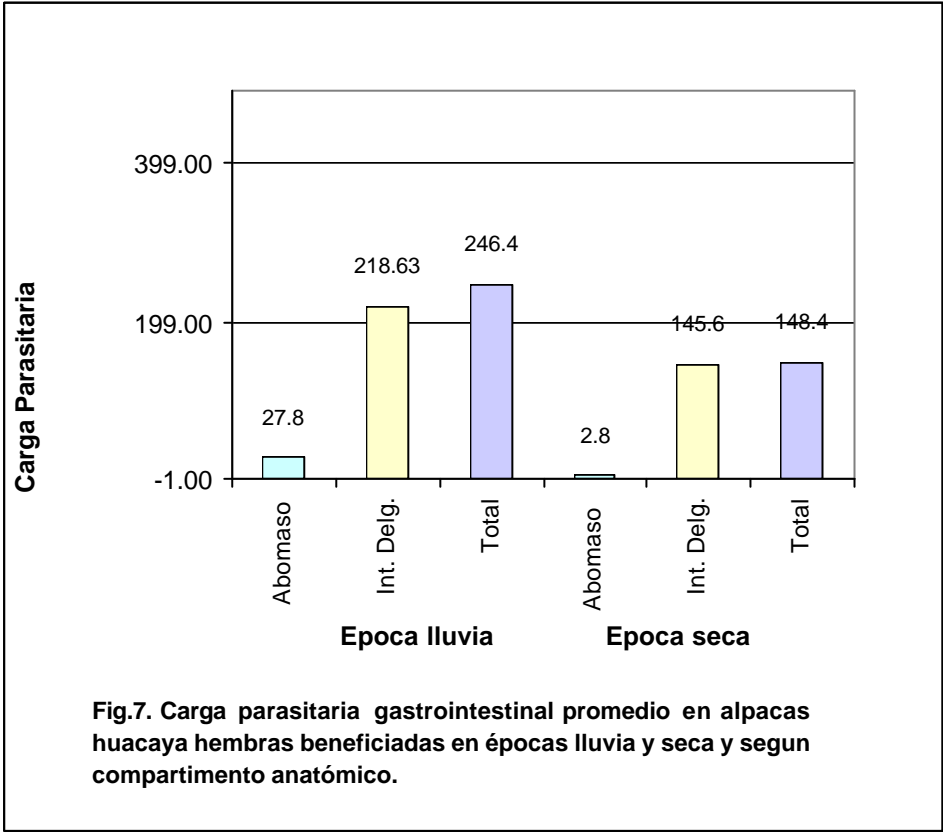
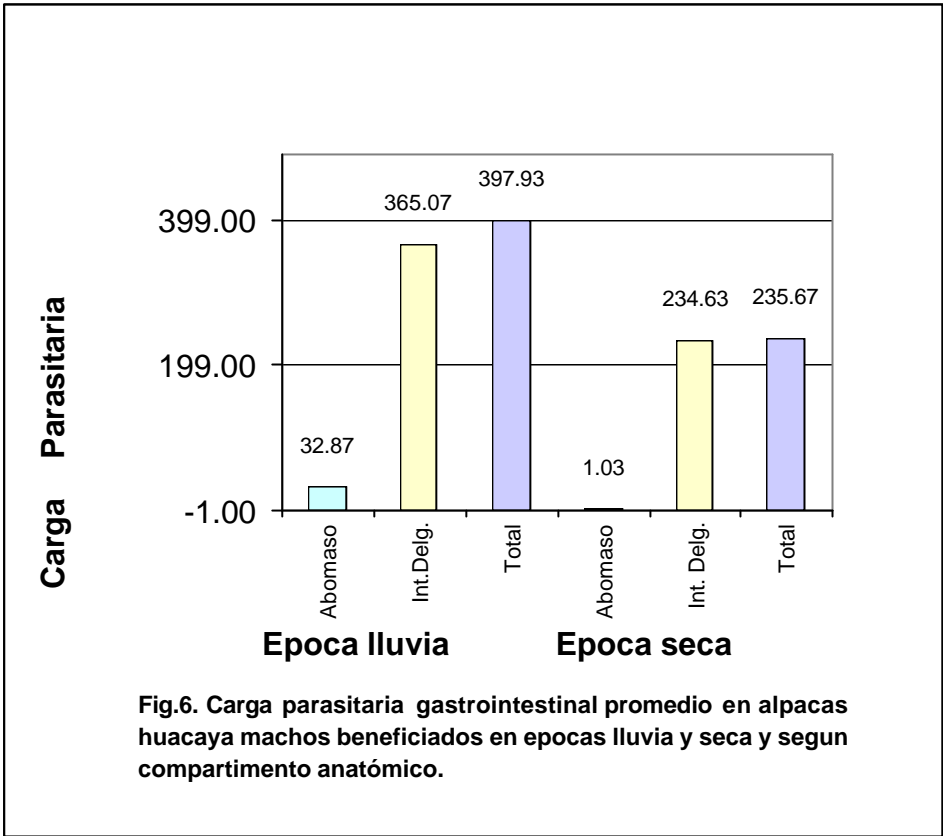
Los resultados del presente estudio difieren de los encontrados por Chávez y col. (1967) quienes encuentran cargas parasitarias altas superiores a 1,600 en época seca y cargas bajas en época lluviosa, 349.4 para *Lamanema* y 225.3 para *Nematodirus*. Estos datos aunque fueron obtenidos hace ya más de 35 años y en condiciones ecológicas diferentes, resulta ser el único estudio disponible que se basó en necropsias.

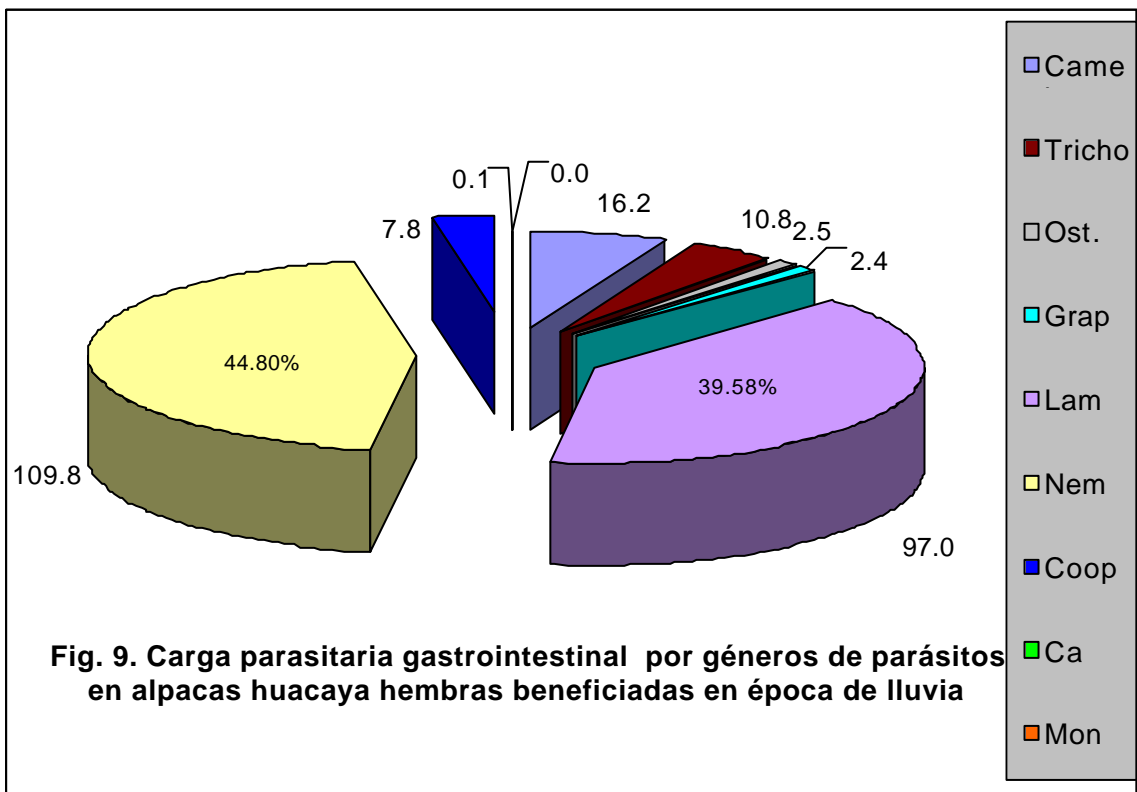
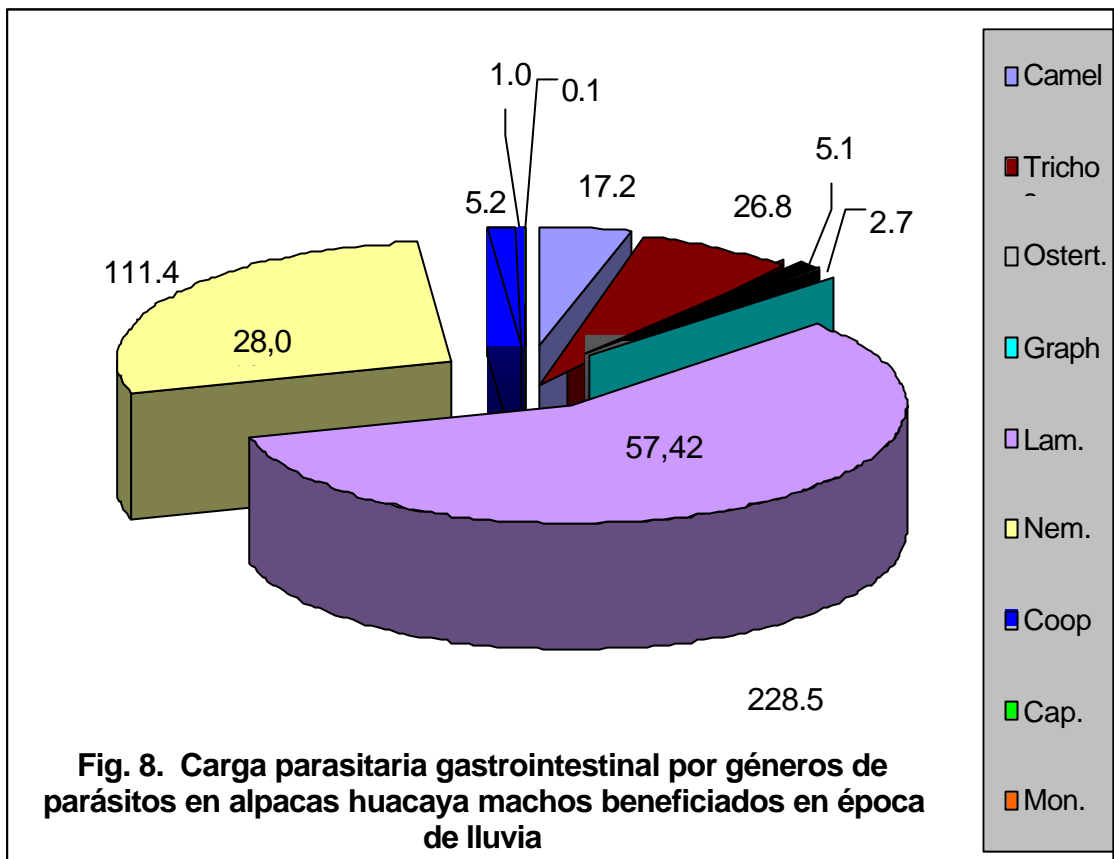
Otros estudios sobre carga parasitaria basados en el recuento de HPG señalan también que las cargas parasitarias mayores corresponden a *Lamanema* y *Nematodirus*, en época lluviosa y seca (Mamani, 1989; Chávez y Condori, 1990). Sin embargo, otros estudios de evaluación de la carga parasitaria gastrointestinal de alpacas en la zona sur de Puno, mencionan que se presenta una proporción mayor de *Nematodirus*, seguida por HTS y luego por *Lamanema*. Mientras que en la zona norte de Puno que corresponde a puna húmeda, la proporción mayor corresponde a HTS seguido de *Nematodirus* y *Lamanema* (Melo, 1997).

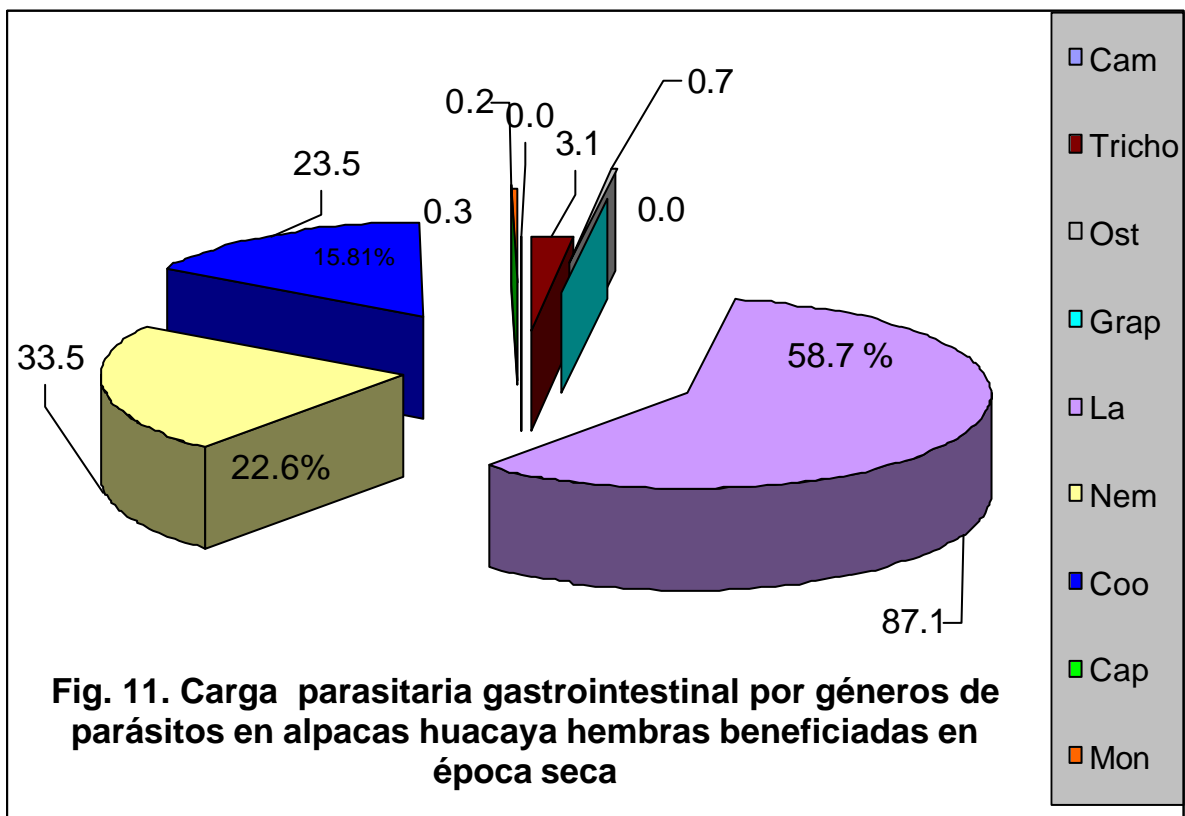
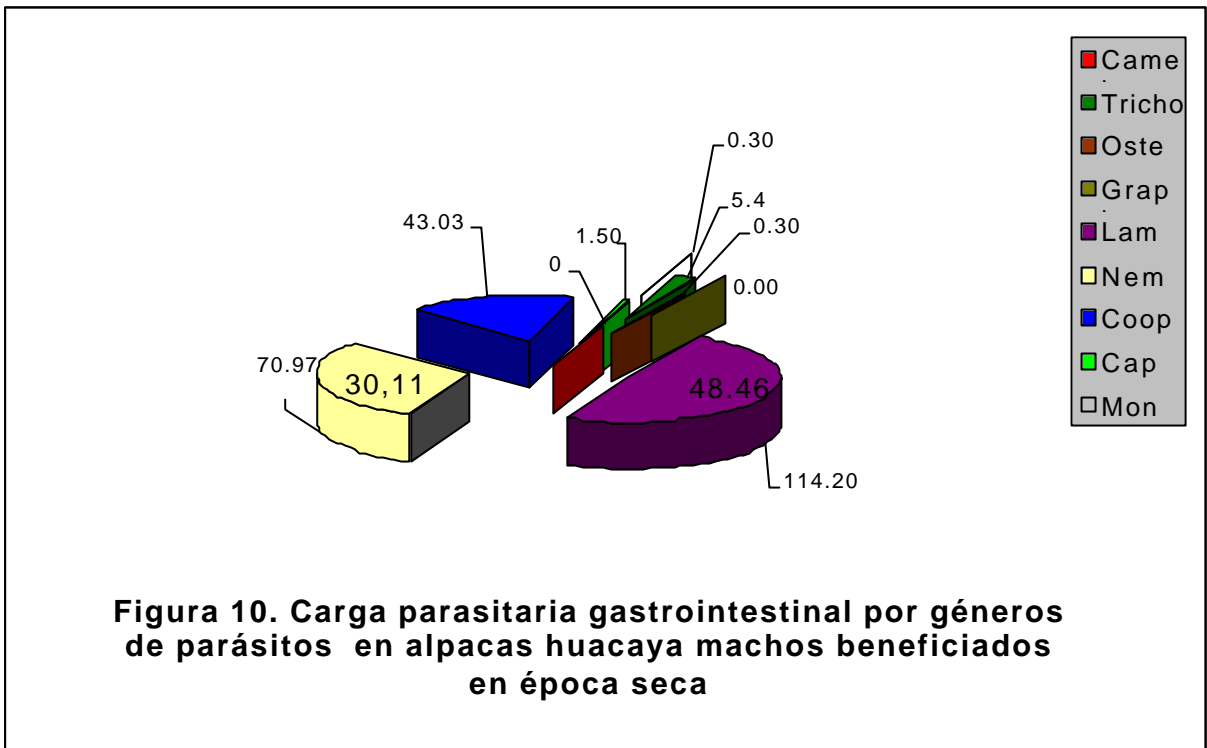
También se menciona que existe un incremento de la carga parasitaria (HPG) durante los meses de junio y julio para huevos tipo *Nematodirus* y *Lamanema* y otro incremento en los meses de enero a marzo para HTS (Rojas y col., 1987). Sin embargo, estas investigaciones basadas en el recuento de huevos tiene limitaciones de interpretación, porque se restringe a parásitos adultos (Leguía y Casas, 1999), es decir no son seguros ni confiables porque la multiplicación de los parásitos está sujeta a la intensidad de invasión, edad, estado inmunitario y condición general del hospedador y las lesiones correspondientes (Boch y Supperer, 1977).











2. LESIONES ANATOMOPATOLÓGICAS

La mucosa del abomaso presento áreas rojizas en el 55 % (33/60) de los animales, moderada cantidad de exudado catarral 52 % (31/60), y en algunos casos se observó edema y petequias en la mucosa 10 % (6/60). Estas lesiones fueron moderadas en la época de lluvia como en la época seca, aunque en esta última se evidenciaron algunos casos severos, probablemente relacionado a la escasez de pasturas y al mal estado nutricional. Las lesiones macroscópicas observadas fueron: nódulos blanco grisáceos 80% (48/60), quizá debido a las larvas de *Ostertagia* que estimulan su formación en la época seca, fenómeno conocido como hipobiosis (Threlkeld y Johnson, 1984; Soulsby, 1987; Rojas, 1990). Estas observaciones coinciden con los reportes de Leguía y Casas quienes mencionan que las lesiones anatomopatológicas dependen de la especie parasitaria. Así por ejemplo, en infecciones por *Ostertagia*, *Camelostrongylus*, *Spiculoteragia*, *Graphinema* y *T. axei*, la mucosa abomasal se observó congestionada, edematosa y con presencia de numerosos nódulos umbilicados que en casos muy graves se juntan dando la apariencia adoquinada, que se necrosan para desprenderse en forma de membranas diftéricas de color blanquecino (Leguía y Casas, 1999).

La mucosa intestinal, igualmente mostraba áreas rojizas en el 60% (36/60) de los casos, con presencia de exudado catarral 70 % (36/60) y áreas de petequias 5 % (3/60). Estas lesiones fueron similares tanto en la época de lluvia como en época seca y corresponderían principalmente a *Lamanema* y *Nematodirus* que presentan las mayores cargas en ambas épocas. Sin embargo, en la época seca fue evidente la presencia de pequeños nódulos calcificados en la mucosa intestinal como granos de quinua, el mismo que correspondería a la reacción inflamatoria del tejido que rodea a las larvas de parásitos que quedaron atrapadas y que son destruidas por el sistema inmune (Morgan y Hawkins, 1949; Tagle, 1970).

El hígado se mostraba congestionado en el 62 % (37/60) de los casos, con presencia de focos de necrosis en el 60 % (36/60), las mismas que se observaban a modo de "manchas de leche" de color blanquecino, así como presencia de abscesos puntiformes en el 55 % (33/55), estas lesiones fueron iguales en ambas épocas del año y se atribuyen a migraciones recientes de las larvas de *Lamanema* (Fowler, 1989; Leguía

y Casas, 1999). Las lesiones fibróticas o calcificaciones en el 40% (26/60) de los hígados examinados, son debidas a maduración y migración de las larvas de *Lamanema* (Fowler, 1989; Guerrero y col., 1973). También se menciona que en casos crónicos la necrosis en el parénquima hepático produce abscesos pequeños calcificados de color blanquecino y que dan al hígado un aspecto moteado característico (Leguía y Casas, 1999).

3. FRECUENCIA DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS Y RESPUESTA CELULAR

Las lesiones histopatológicas más importantes en alpacas parasitadas según época y en cada compartimento digestivo, se aprecian en la Fig. 12 al 15. En el abomaso las lesiones con mayor frecuencia en todas las edades y en ambas épocas fueron: congestión 41.67 % (5/12), dilatación glandular 58.33 % (7/12), descamación 50 % (6/12), hiperplasia de células epiteliales 41.67 % (5/12), hiperemia 33.33 % (4/12), necrosis 25.00 % (3/12), atrofia de células epiteliales 16.67 % (2/12), papilas intraglandulares 8.33 % (1/12), edema 8.33 % (1/12) (Ver fotos 1 y 2). Además estas lesiones estuvieron caracterizadas por presencia de exudado celular linfoplasmocítico 33.33 % (4/12), eosinófilos y células mononucleares 8.33 % (1/12), y en otros casos exudados mixtos de linfocitos, neutrófilos, eosinófilos 16.67% (2/12). Evidentemente, en algunos casos se pudo observar presencia de parásitos enquistados 8.33 % (2/12) con reacción inflamatoria y en otros casos parásitos sin reacción inflamatoria 50.00 % (6/12) (Ver fotos 3 y 4) especialmente en alpacas menores de dos años. (Fig. 12)

Estas lesiones se podrían atribuir a los parásitos: *Ostertagia*, *Camelostrongylus*, *Spiculopteragia*, *Graphinema* y en menor grado *Trichostrongylus axei*, porque sus larvas infectivas se introducen dentro de las glándulas gástricas ocasionando un proceso inflamatorio, destrucción y descamación de células e hiperplasia de la mucosa gástrica. Se menciona por ejemplo en bovinos, las larvas de *Ostertagia* ocasionan irritación de la mucosa con erosión o descamación de la mucosa del epitelio glandular, donde las células maduras son reemplazadas por células indiferenciadas columnares altas (Soulsby, 1987). En ovinos a los pocos días de infección con *Ostertagia*, ocurre infiltración de linfocitos

entre las glándulas, con desarrollo de folículos linfoides y presencia de plasmocitos, eosinófilos y unos pocos neutrófilos (Kennedy, 1995), y en algunos casos, las larvas se encuentran rodeadas por infiltración celular; la salida de estas larvas distienden su lumen de las glándulas gástricas y las células epiteliales se muestran indiferenciadas, hiperplásicas, observaciones que concuerdan con Symons (1989); Threlkeld y Johnson (1984).

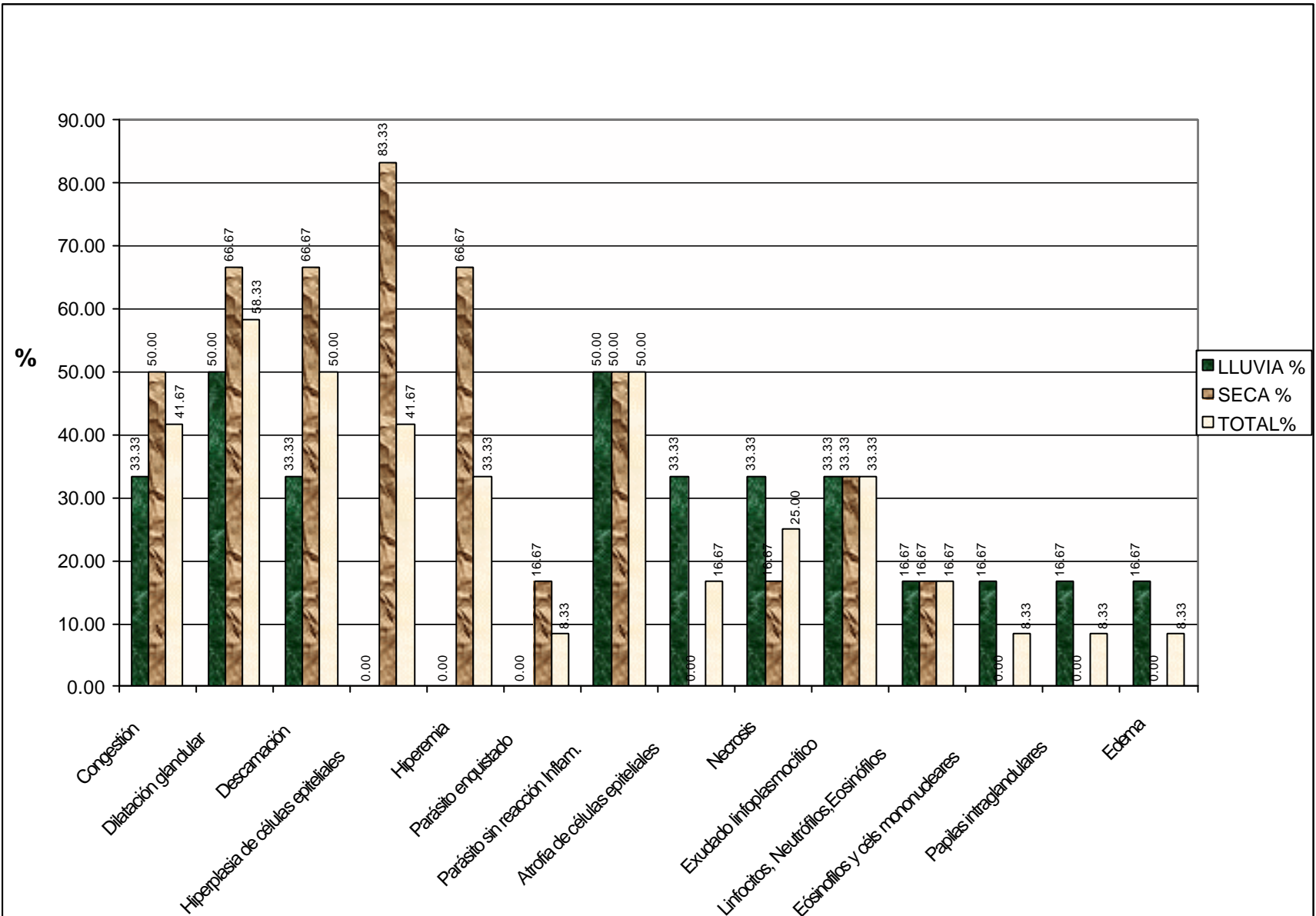


FIG. 12. FRECUENCIA DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS EN EL ABOMASO DE ALPACAS HUACAYA BENEFICIADAS DE 1 - 6 AÑOS DE EDAD EN ÉPOCAS DE LLUVIA Y SECA DEL AÑO EN COMUNIDAD CAMPESINA DEL DISTRITO DE PICHACANI- PUNO

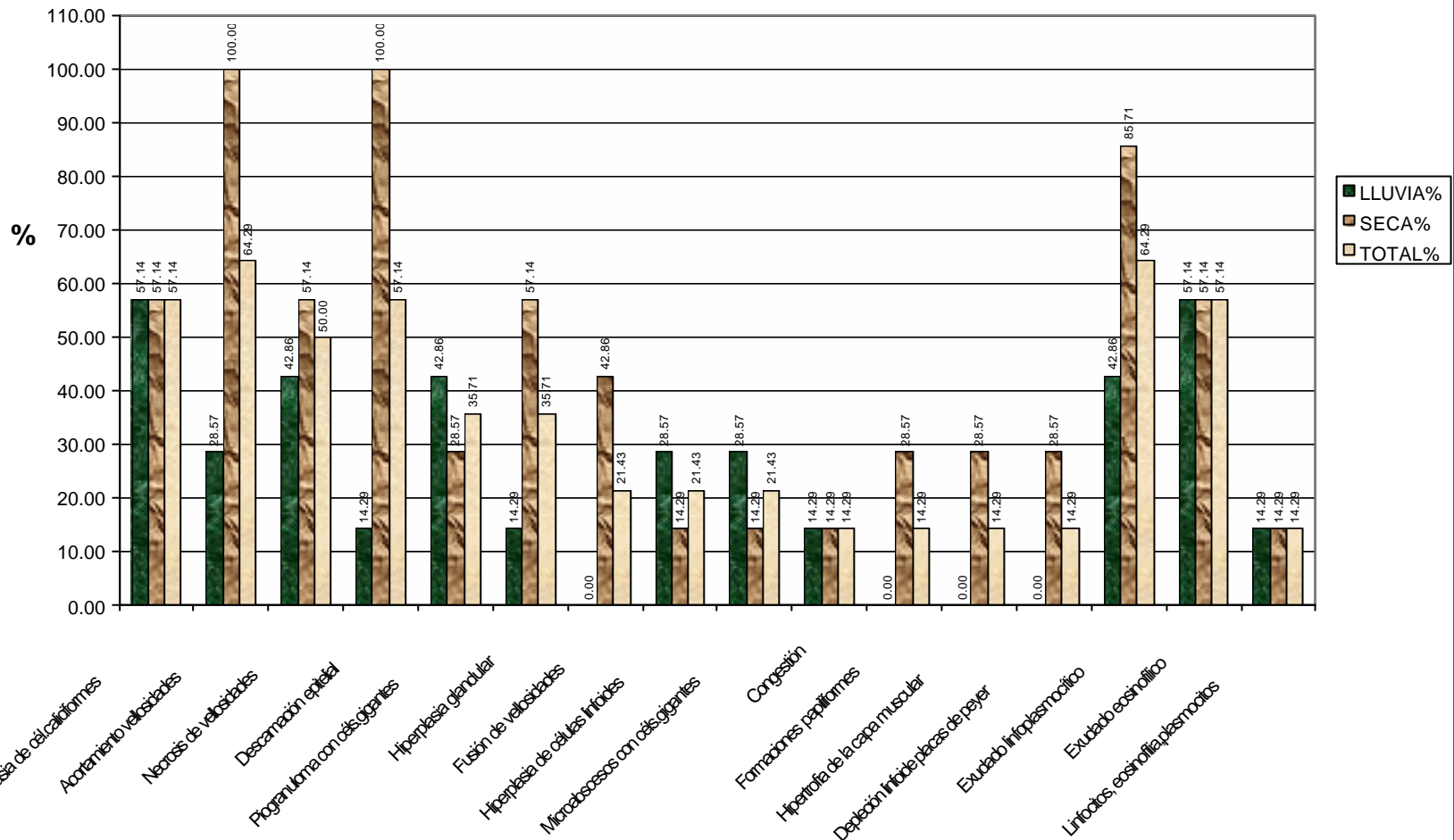
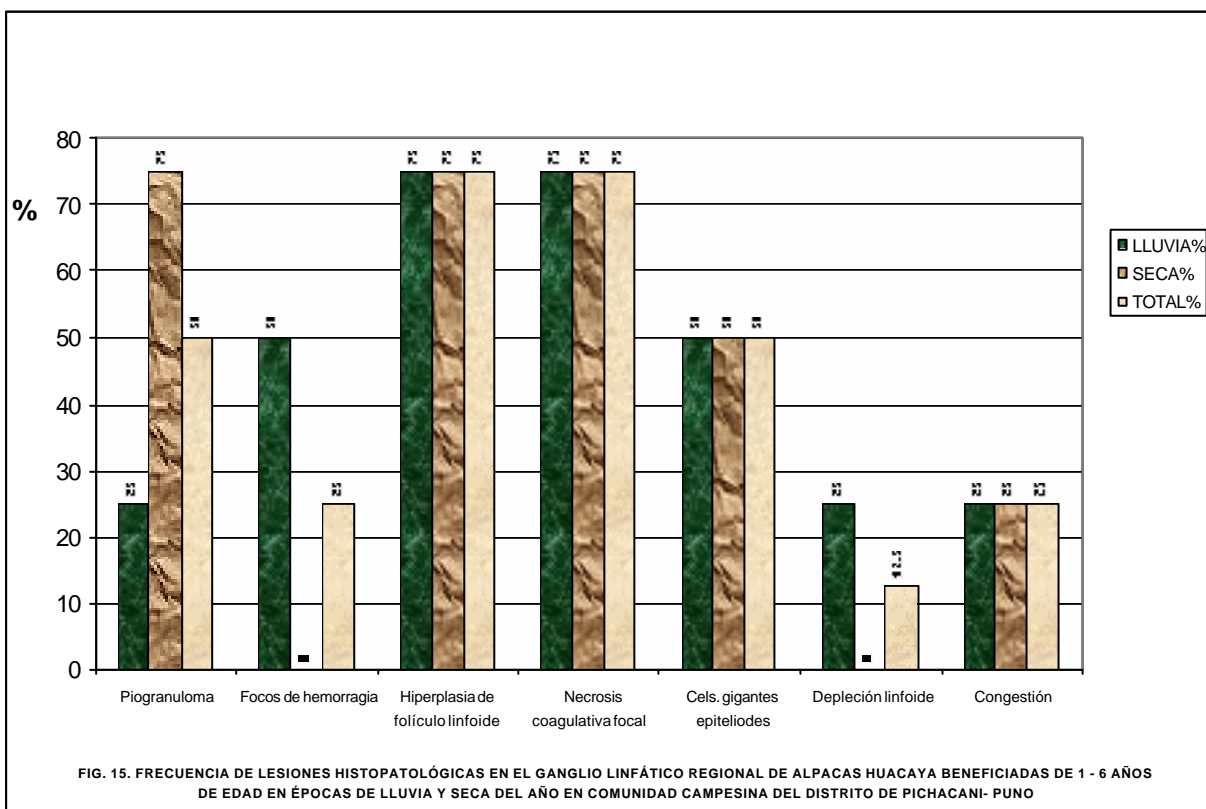
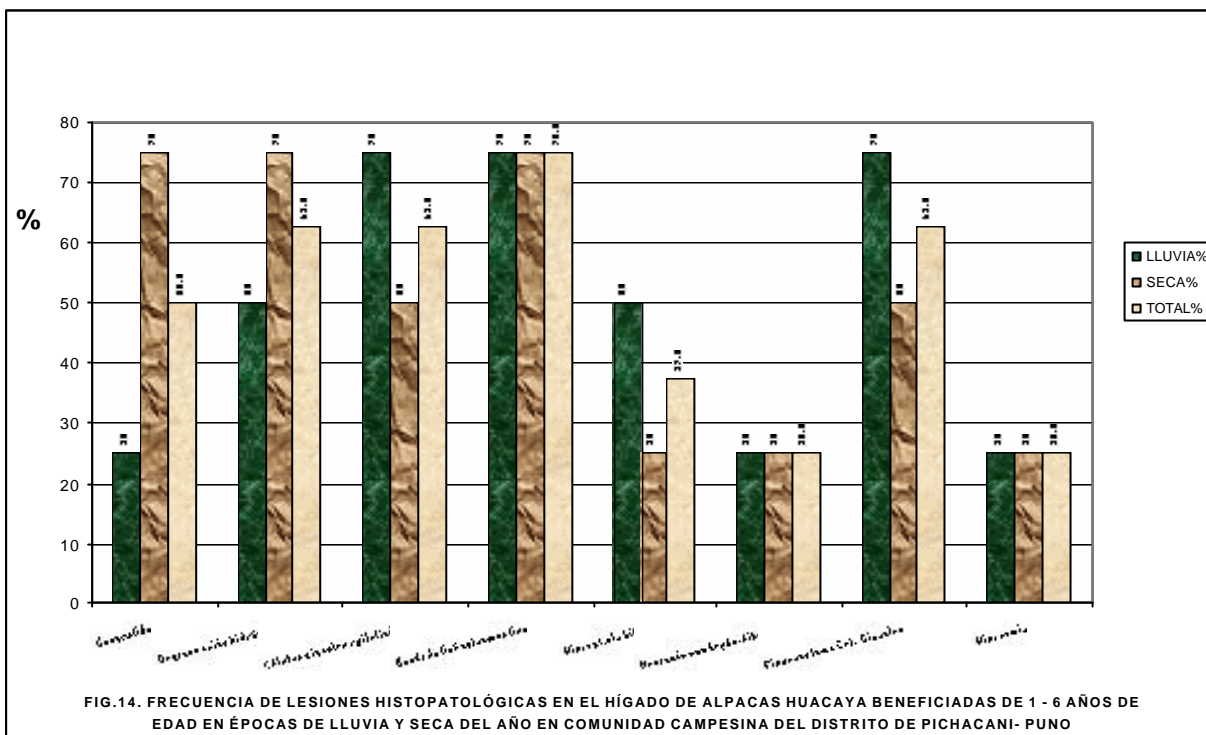


FIG. 13. FRECUENCIA DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS EN EL INTESTINO DELGADO DE ALPACAS HUACAYA BENEFICIADAS DE 1 - 6 AÑOS DE EDAD EN ÉPOCAS DE LLUVIA Y SECA DEL AÑO EN COMUNIDAD CAMPESINA DEL DISTRITO DE PICHACANI- PUNO



En infecciones experimentales por *Trichostrongylus spp*, se observó aplanamiento del epitelio superficial con descamación de la mucosa y gran infiltración de células inflamatorias (Kennedy, 1990). Igualmente en un estudio sobre biología y patogénesis de *Spiculoptergia peruvianus* en alpacas se indica que microscópicamente hubo hiperplasia y pérdida de la diferenciación de las células principales y parietales y pérdida de las glándulas gástricas e infiltración moderada de eosinófilos y linfocitos en la submucosa (Leguía y col, 1993).

Se menciona que la gravedad de las lesiones tisulares depende de la carga de parásitos que presenta el animal (bovino y ovino), así por ejemplo Symons (1989) y Kennedy y col.(1990) señalan que en animales afectados masivamente se desarrolla el aplanamiento del epitelio superficial con descamación o erosión de la mucosa. Sin embargo, en el presente estudio bajo condiciones naturales de crianza de alpacas en una comunidad de puna seca, la reacción inflamatoria o la frecuencia de lesiones tisulares fue mayor en la época seca, cuando la carga de parásitos fue menos respecto a la época de lluvia.. Esta condición podría deberse a que en la época de lluvia existe una buena nutrición de las alpacas debido a la gran disponibilidad y buena calidad de pastizales, lo que implica desarrollar mejor su sistema de resistencia o de defensa inmunológico; este hecho fue demostrado en vacunos donde a medida que se mejoraba la alimentación, el efecto del parasitismo era menor. Además, en vacunos y ovinos procedentes de otras realidades geográficas existe mayor prevalencia de un parásito muy patógeno y responsable de las mayores lesiones tisulares gástricas, *Haemonchus contortus*, pero en alpacas motivo del presente estudio este parásito no fue encontrado al examen de necropsia; quizá porque las condiciones climáticas óptimas (CCO) no existen para este parásito en esta región del altiplano, lo cual concuerda con Rojas (1990).

Existen otros factores que pueden reducir el daño patológico de los parásitos como es el caso del efecto de la competencia por el ambiente o llamado también efecto Crowding, que es una interacción inespecífica que a medida que aumenta el número de parásitos hay una competencia por el oxígeno, espacio vital y nutrientes, que luego se refleja en una disminución de la tasa de crecimiento y fecundidad de los parásitos (Rojas, 1990). Por otro lado, la mayor frecuencia de lesiones en la época seca estaría

correlacionada al mal estado nutricional de las alpacas por escasez de pasturas, así como a las reacciones inflamatorias ocasionadas por las larvas hipobióticas que ocurren en esta época, estas larvas al penetrar a la mucosa gástrica de hecho ocasionan lesión tisular y generan una respuesta inflamatoria; además se menciona que el proceso inmunopatológico es el resultado de la prolongada duración del parasitismo, que permite la persistencia de la fuente antigénica, asociada a una variedad de respuesta inmune (Rojas, 1990)

La presencia de leucocitos en las lesiones tisulares, especialmente eosinófilos en la mucosa gástroentérica, de las alpacas, se explicaría por los mismos mecanismos que ocurren en otras especies animales, es decir por la tendencia que tienen los helmintos a estimular las poblaciones de las células T colaboradoras (TCD4) que secretan las citocinas IL4 e IL5. La IL4 estimula la producción de IgE y la IL5 estimula el desarrollo y activación de los eosinófilos. Los eosinófilos pueden matar eficazmente a los helmintos más que otros leucocitos, porque la proteína básica principal de los gránulos de dichas células son más tóxicas para los helmintos que las enzimas proteolíticas producidas por neutrófilos, y macrófagos (Abbas, 1999; Claerebout y Vercruyse, 2000; Holmes y Coop, 1994). También, debe entenderse que los neutrófilos, macrófagos y eosinófilos constituyen las primeras líneas de defensa del organismo animal frente al desafío de los patógenos.

Se ha sugerido que los eosinófilos evolucionaron como sistema de defensa específico frente a las fases tisulares de aquellos parásitos cuyo excesivo tamaño impide que puedan ser fagocitados, por ello están típicamente asociados a las infecciones por helmintos. Las perturbaciones de la superficie de su membrana inducen su degranulación y su actividad se ve estimulada por citocinas *TNF α* y GMCSF. y por el mecanismo de ADCC. Así por ejemplo, su unión *in vitro* por su receptor Fc a larvas de helmintos recubiertos con Ig E o Ig G, estimula la liberación del contenido de sus gránulos sobre la superficie de los parásitos, causando lesiones debidas a la proteína básica principal eosinofílica. Además, los eosinófilos actúan coordinadamente con los mastocitos, los antígenos liberados provocan la degranulación de los mastocitos

dependientes de IgE y la liberación de mediadores que atraen selectivamente a los eosinófilos hacia la zona de infección y potencian su actividad (Roitt y col., 1997).

Los macrófagos constituyen un importante mecanismo de defensa frente a los parásitos de menor tamaño. Sin embargo, estas células también secretan muchos factores citotóxicos, lo que les permite destruir parásitos sin necesidad de ingeridos. Los macrófagos poseen propiedades citotóxicas y pueden matar a los parásitos mediante el mecanismo ADCC. Antes de actuar como células presentadoras de antígenos iniciadoras de la respuesta inmunitaria, los macrófagos actúan como células efectoras, inhibiendo la multiplicación de los parásitos o incluso destruyéndolos. Además, secretan moléculas que regulan la respuesta inflamatoria, algunas de estas moléculas son: IL1, IL12, IL6, TNFa y factores estimulantes, que potencian la respuesta inmunitaria al activar otras poblaciones celulares o inducir su proliferación (Roitt y col., 1997).

Al igual que los macrófagos, los neutrófilos poseen receptores Fc y del complemento por lo que pueden intervenir en las reacciones ADCC. En este sentido pueden tener mayor poder destructor que los eosinófilos frente a varias especies de nematodos. Los neutrófilos acumulados en las regiones inflamadas, infectadas por los parásitos, donde es probable que se encarguen de eliminar los parásitos liberados tras la destrucción de las células (Roitt y col., 1997).

Los linfocitos T son esenciales para el desarrollo de la inmunidad, para la defensa frente a algunos parásitos son necesarias tanto las células T CD4 como las TCD8. Sin embargo, el tipo de célula T encargada de controlar una infección depende del tipo de parásito y de la fase de la infección, así como de las citocinas que producen. Las células T CD4 actúan de diferente manera según el tipo de infección y pueden pertenecer a dos subpoblaciones diferentes TH1 y TH2 en las fases iniciales de la infección pueden encontrarse ambas subpoblaciones pero según tiempo y edad puede modificarse el equilibrio. Las citocinas que estas células producen son antagónicas. Las

células TH son esenciales para la eliminación de los helmintos intestinales (Roitt y col., 1997).

La expulsión de algunos nemátodos intestinales se produce espontáneamente a las pocas semanas de la infección primaria. Parece que esta expulsión se produce en dos fases y que se consigue mediante una combinación de mecanismos dependientes e independientes de células T. Las células T, principalmente TH, responden a los antígenos parasitarios e inducen a la síntesis de anticuerpos por las células B que han proliferado previamente como respuesta a IL4, IL5, a la proliferación de los mastocitos de la mucosa como respuesta a IL3, IL4, IL9 e IL 10 y a la hiperplasia de las células caliciformes del epitelio intestinal que secretan moco. Los helmintos son dañados por los anticuerpos y los productos de los mastocitos sensibilizados por la Ig E. Los mastocitos degranulan al contacto con el antígeno y liberan histamina, mediador que aumenta la permeabilidad del epitelio intestinal, pero estos procesos no son suficientes para eliminar los helmintos. Los macrófagos secretan moléculas inflamatorias inespecíficas como TNF e IL 1 que inducen a la proliferación de las células caliciformes productoras de moco y este moco producido recubre a los parásitos y provoca su expulsión (Roitt y col.,1997).

En el intestino delgado, las lesiones con mayor frecuencia en todas las edades y en ambas épocas fueron: hiperplasia de células caliciformes 57.14 % (8/14), acortamiento de vellosidades 64.29 % (9/14), necrosis de vellosidades (Ver foto 6 y 7) 50.00 % (7/14), descamación epitelial 57.14 % (8/14), piogranuloma intestinal con células gigantes y epiteliodes 85.71 % (12/14), hiperplasia glandular 35.71 % (5/14), fusión de vellosidades 21.43 % (3/14), hiperplasia de células linfoides 21.43 % (3/14), y múltiples microabscesos (Ver foto Nro 5) con células gigantes 21.43 % (3/14). Estas lesiones estuvieron caracterizadas por un exudado linfoplasmocítico en el 64.29 % (9/14), exudado eosinofílico 57.14 % (8/14), un exudado mixto compuesto por linfocitos, eosinofilos, histiocitos, y plasmocitos 14.29 % (2/14), de las cuales fue observada reacción inflamatoria severa en el 21.43 % (3/14). Entre otras lesiones en menor frecuencia fue congestión 14.29 % (2/14), depleción linfoide en las placas de

Peyer 14.29 % (2/14), formaciones papiliformes intraglandulares 14.29 % (2/14), hipertrofia de la capa muscular 14.29 % (2/14), hiperemia asociada a inflamación 7.14 % (1/14), focos de hemorragia 7.14 % (1/14), parásito sin reacción inflamatoria 7.14 % (1/14).

Al comparar las lesiones entre épocas del año, éstas fueron, menores en la época de lluvias respecto a la época seca tal como se puede apreciar en la Fig.13, la cual resulta inverso al compartamiento de la carga parasitaria. Algunos autores mencionan que las lesiones en los bovinos y ovinos son dependientes de la carga parasitaria y del tipo de parásito (Kennedy y col. 1990; Symons, 1989). En alpacas al parecer las lesiones son dependientes más del tipo de parásito, especialmente de *Lamanema* y *Nematodirus* por que son las más numerosas y representan la mayor carga parasitaria en ambas épocas, sin mostrar variación significativa durante el año. Además son considerados como los parásitos más patógenos en los camélidos sudamericanos. De hecho, en infecciones experimentales por estos parásitos se reportan cuadros de enteritis catarral hemorrágica de moderada a grave (Leguía y Casas, 1999; Fowler, 1989; Guerrero, 1971 y 1987).

En corderos infectados experimentalmente con *Nematodirus spathiger* se observó una pérdida extensa del epitelio de las vellosidades y necrosis superficial de la lámina propia en algunas áreas de la mucosa, el daño fue tan extenso que quedó poca evidencia de vellosidades (Symons, 1989) y en otras infecciones los efectos producidos correspondieron a una enteritis catarral (Kates y Turner, 1953). Por estos antecedentes se considera que las lesiones como hiperplasia de células caliciformes, acortamiento, fusión y necrosis de vellosidades, descamación epitelial, piogranuloma intestinal con células gigantes y epiteliodes, hiperplasia glandular y de células linfoides, múltiples microabscesos con células gigantes, caracterizadas por un exudado linfoplasmocítico, exudado eosinofílico, linfocitos, histiocitos, y plasmocitos, son debidas a la acción patógena de *Nematodirus* y *Lamanema*. En humanos también se ha descrito acortamientos similares en criptas y vellosidades (Symons, 1989). Esto permite especular que la mayor frecuencia en el acortamiento de vellosidades observada en

alpacas durante la época seca, podría estar exacerbado por la nutrición defectuosa propia de esa época.

La menor frecuencia de lesiones en la época de lluvia respecto a la época seca, se explica también de manera similar a lo ocurrido al abomaso, porque en la época de lluvia existe una buena calidad de pasturas que permiten a los animales estar en buen estado nutricional, lo que significa es resistente a la infección parasitaria y desarrolla mejor su sistema o defensa inmunológico. Por lo tanto, la mayor frecuencia de lesiones en la época seca estaría correlacionada al mal estado nutricional de las alpacas por escasez de pastizales.

En algunos casos, el hospedador trata de aislar al parásito formando una membrana de tejido conectivo con presencia de eosinófilos y células gigantes y epiteliodes alrededor de él. En otros casos se genera la formación de un granuloma o piogranuloma como producto inmunopatológico cuya disposición celular incluye a macrófagos, linfocitos, eosinófilos, células gigantes epiteliodes y neutrófilos (Rojas,1990). Sin embargo, todos los nemátodos, al penetrar a la mucosa intestinal y migrar por sus paredes, producen daños tisulares que dan lugar a un proceso inflamatorio de diverso grado. Se menciona que en condiciones naturales de parasitismo gastrointestinal no existe una lesión específica atribuible a una especie o género de parásito, debido a que las infecciones parasitarias son mixtas, por lo que se cree que las lesiones descritas también podrían deberse al efecto sinérgico de otros parásitos como *Trichostrongylus*, *Cooperia* (Leguía y Casas, 1999).

Las lesiones más importantes en el hígado fueron: congestión 50.0 % (4/8), degeneración hidrópica 62.5 % (5/8), células gigantes y epiteliodes 62.5 % (5/8), hiperplasia biliar 37.5 % (3/8), focos de necrosis con depósito de sustancia basofílica petrea sugerente de calcificación distrófica. (Ver foto 8) 25.0 % (2/8), focos piogranulomatosos con células gigantes 62.5 % (5/8), hiperemia asociada a inflamación 25.0 % (2/8). Estas lesiones estuvieron caracterizadas por la presencia de exudado linfoplasmocítico en el 75.0 % (6/8). (Fig. 14)

Estas lesiones fueron similares en frecuencia en ambas épocas tanto lluvia como seca como se puede apreciar en la figura 14, y se encuentran correlacionados a la frecuencia de la carga parasitaria de *Lamanema chavezii*. Además, son similares a aquellos descritos por Guerrero y col. (1971) quienes en un estudio por infección experimental en alpacas de 30 días de edad con *Lamanema chavezii*, observaron necrosis focal diseminada, con organización granulomatosa caracterizada por células epitelioides y gigantes. Igualmente otros autores Leguía y Casas (1999), Rojas (1990), indican áreas de necrosis y presencia de tractos hemorrágicos en el parénquima hepático debidos a la migración de las larvas de *Lamanema*, que en casos crónicos producen fibrosis y abscesos calcificados pequeños de color blanquecinos y que dan al hígado un aspecto macroscópico moteado característico.

En el presente estudio, las lesiones como los tractos hemorrágicos del parénquima hepático y la necrosis diseminada, no fueron comunes, lo cual se explica porque los autores citados reportan estas lesiones en infecciones experimentales y no en condiciones de infección natural como es el caso del presente estudio. Por tanto, es razonable que, en una infección experimental la cantidad de larvas de *Lamanema* (20,000) es mucho mayor a las condiciones de infección natural y que al migrar estas larvas casi todas juntas al mismo tiempo ocasionan lesiones tisulares más graves, como necrosis y hemorragia.

Finalmente entre los hallazgos en los ganglios linfáticos regionales se puede citar: piogranuloma 50 % (4/8), focos de hemorragia 25 % (2/8), hiperplasia de foliculo linfoide 75 % (6/8), necrosis coagulativa focal 75 % (6/8), células gigantes y epitelioides 50 % (4/8), depleción linfoide 12.5 % (1/8), congestión 25 % (2/8), hemosiderina 12.5 % (1/8), restos del parásito rodeado con células mononucleares 12.5 % (1/8), hiperplasia capsular 12.5 % (1/8). (Fig.15). Estas lesiones indican que existe desafío antigénico de los parásitos, que activan a la población linfoide localizado a nivel de los ganglios linfáticos, ocasionando en algunos casos hiperplasia de los folículos linfoides y en otros casos hasta depleción linfoide. Así mismo, los cuadros de piogranuloma acompañado de células gigantes y epitelioides, fueron observados alrededor de restos de parásitos, que podría pertenecer a *Lamanema chavezii*, igualmente los cuadros de necrosis y

hemorragia podrían ser resultado de la destrucción de los tejidos linfoides por traumas. Sin embargo es importante señalar que estas lesiones también podrían deberse a otros agentes biológicos.

4. PATRÓN DE RESPUESTA HUMORAL

4.1 Perfil electroforético de las proteínas del lisado de *L. chavez* y *Nematodirus* sp.

El perfil electroforético de los componentes proteicos del lisado de *L. chavez* fue elaborado con las bandas observadas en geles SDS-PAGE teñidos con el colorante Azul Brillante de Coomassie y con el revelado de las proteínas transferidas a la membrana de nitrocelulosa utilizando la tinción de tinta china. Un perfil similar se elaboró de la misma forma para *Nematodirus* sp. Para *Lamanema chavez* se determinó un total de 18 proteínas, con pesos moleculares entre 20.1 kDa y 193.1 kDa y para *Nematodirus* sp. un total de 17 proteínas con pesos moleculares de 14.9 hasta 196.9 kDa.

4.2 Distribución de inmunorreactividad de proteínas antigénicas frente a sueros de alpacas positivas y negativas a *L. chavez* y de alpacas positivas y negativas a *Nematodirus* sp.

Todas las bandas descritas en la fracción soluble de *L. chavez* fueron antigénicas por el reconocimiento de los sueros de los animales positivos. Estos resultados coinciden con los hallados por López (1994), a pesar que los antígenos somáticos son considerados antigénicamente pobres (Parkhouse y col., 1987). Las proteínas antigénicas de mayor frecuencia de inmunorreactividad para sueros positivos fueron las de 112.1, 162.7, 118.9, 65.1, 92.5, 193.1 y 29.5 kDa. Para sueros negativos fueron las proteínas de 118.9, 112.1 y 65.1 kDa (Cuadro1 y Fig. 16-17).

La falta de sensibilidad de una variedad de inmunensayos para detectar infecciones primarias con algunas especies de helmintos en corderos, usando extractos solubles de parásitos adultos o de larvas podría estar relacionada a la naturaleza compleja de las mezclas antigénicas utilizadas en estas pruebas (Charley-Poulain y col.,

1984) y no a la inhabilidad de los corderos a reaccionar eficazmente contra el parásito. En el presente estudio no todas las bandas fueron antigénicas para el caso de *Nematodirus sp.*, debido a la falta de reconocimiento de algunos sueros de animales positivos, situación reconocida para otros helmintos (Parkhouse y col., 1987). Las proteínas de *Nematodirus sp.* de mayor frecuencia de inmunorreactividad para sueros positivos fueron las de 62.4, 59.5 y 196.9 kDa. Para sueros negativos fue la proteína de 59.6 kDa (Cuadro2 y Fig. 18-19).

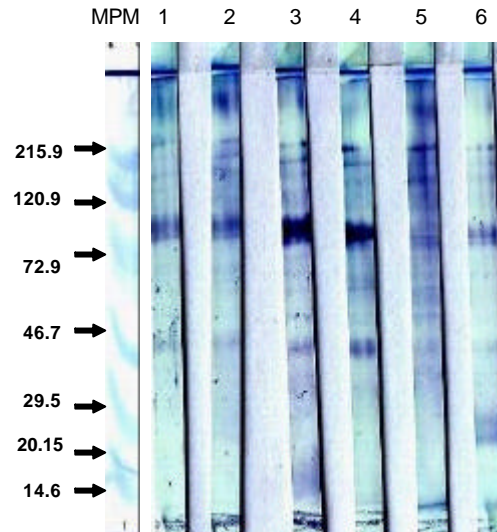
Aunque los antígenos somáticos son considerados inmunogénicamente pobres, existe una gran variedad de antígenos solubles reconocidos por los animales infectados con *Haemonchus contortus* (Cuquerella y col., 1993). La caracterización de proteínas antigénicas y la respuesta humoral al parásito *Lamanema chavezii* en alpacas han sido descritas por López (1994), quien determinó 23 proteínas diferentes en la fracción soluble de *L. chavezii*, superior a la cantidad de proteínas antigénicas encontradas en el presente estudio para este parásito. Esta diferencia se debe posiblemente a las condiciones de trabajo en cada ocasión. En el presente estudio se disidió trabajar con un gel de separación de 12.5 %, en lugar de trabajar con uno de 12 % con el objetivo de separar mejor las bandas de peso molecular bajo.

El presente estudio coincide con el patrón de frecuencia de inmunorreactividad en 5 de las bandas, las de 120.9, 72.9, 45.8, 29.5 y 20.1 kDa. y en señalar que la banda de 162.7 kDa sería de utilidad en el diagnóstico de la infección, dado que los animales negativos no presentan reacción a éstas bandas. Parece ser que esta banda es la que reacciona específicamente con el suero de animales inmunes (Schallig y col., 1995).

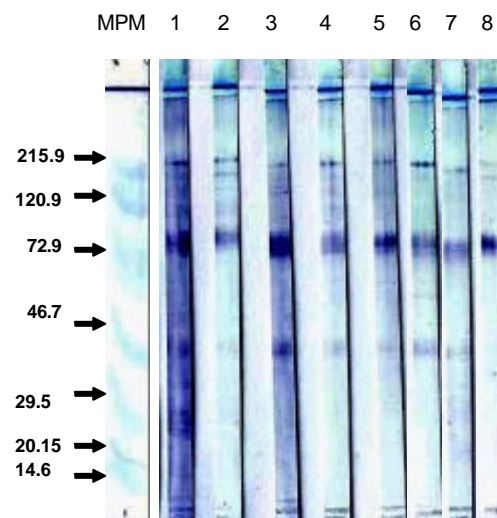
No existen muchos estudios sobre proteínas antigénicas de parásitos en alpacas. Sin embargo, es muy probable que exista una inmunidad cruzada entre diversas especies de helmintos debida a la falta de especificidad del epitopo. De hecho, Schallig y col.(1994) señala que en ovinos el antígeno soluble de *Haemonchus contortus* comprende por lo menos 15 polipéptidos con pesos moleculares que varían entre 10 a más de 100 kDa y que existen reacciones cruzadas con *Trichostrongylus*. En este sentido, es una regla que existan infecciones mixtas con helmintos gastrointestinales en

corderos que están pastoreando. Existe evidencia de reacción cruzada entre las especies de nematodos de ovejas (Adams y col., 1989) condición que podría ocurrir también en alpacas entre *Lamanema* y *Nematodirus* al haberse observado algunas bandas coincidentes en el revelado inmune.

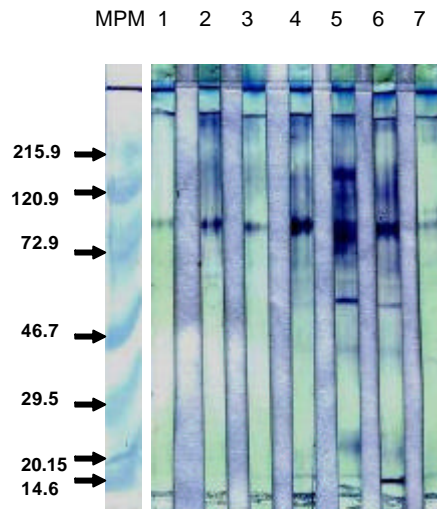
A pesar de estas limitaciones, el estudio de la respuesta inmunológica contra los parásitos y el monitoreo de anticuerpos representa una importante contribución para desarrollar métodos de control de la enfermedad, por cuanto en una infección con parásitos, el hospedador está expuesto a una amplia variedad de material antigénico. Antígenos de superficie, de excreción/secreción y tejidos somáticos internos del parásito son blancos para el reconocimiento del parásito y para su destrucción por el hospedador (Melhorn, 1988).



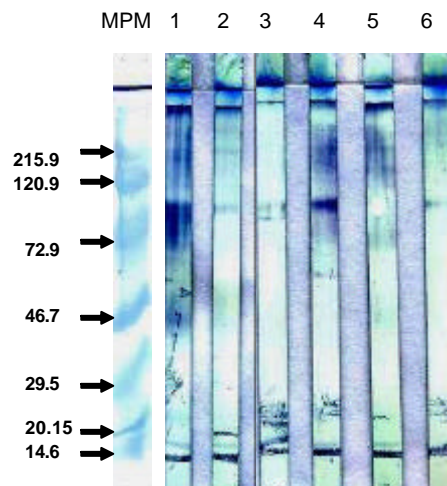
- Figura 16. Análisis de la fracción soluble de *Lamanema chavezii* reconocida por los anticuerpos de alpacas infectadas naturalmente mediante la prueba de EITB. A la izquierda se muestra el MPM en kDa; líneas 1-4 positivos; líneas 5-6 negativos.



- Figura 17. Análisis de la fracción soluble de *Lamanema chavezii* reconocida por los anticuerpos de alpacas infectadas naturalmente mediante la prueba de EITB. A la izquierda se muestra el MPM en kDa; líneas 1-5 positivos; líneas 7-8 negativos.



- Figura 18. Análisis de la fracción soluble de *Nematodirus sp.* reconocida por los anticuerpos de alpacas infectadas naturalmente mediante la prueba de EITB. A la izquierda se muestra el MPM en kDa; líneas 1-4 negativo; líneas 5-7 positivos



- Figura 19. Análisis de la fracción soluble de *Nematodirus sp.* reconocida por los anticuerpos de alpacas infectadas naturalmente mediante la prueba de EITB. A la izquierda se muestra el MPM en kDa; líneas 1-6 positivos.

CUADRO 01. Proteínas antigénicas y su distribución de inmunoreactividad frente a sueros de alpacas infectadas con *L.chavezi* (positivas) y no infectadas (negativas).

Proteínas (Kda)	Sueros de alpaca	
	Positivos (n = 35)	Negativos (n = 24)
Bandas		
193.130	3	0
174.122	1	0
162.717	6	1
120.900	1	1
118.955	7	3
112.188	8	3
103.476	2	0
92.586	4	1
72.985	3	0
65.113	5	2
61.177	2	0
45.839	1	1
30.440	2	1
39.498	0	1
29.535	3	1
26	1	0
24014	1	0
20150	1	0
118;955;112;188	7	3

CUADRO 02. Proteínas antigénicas y su distribución de inmunorreactividad frente a sueros de alpacas infectadas con *Nematodirus sp* (positivas) y no infectadas (negativas).

Proteínas (Kda)	Sueros de alpaca	
	Positivos (n = 35)	Negativos (n = 24)
196,932	4	0
189,328	0	1
181,725	1	0
155,114	1	0
136,106	2	0
120,900	0	2
96,942	2	0
88,230	1	0
72,985	1	1
66,425	0	0
62,489	13	0
59,585	5	4
55,929	1	0
44,027	1	0
40,404	1	0
39,498	0	1
15,080	1	0
14,970	2	0

CONCLUSIONES

1. Las alpacas criadas en comunidades campesinas en condiciones de puna seca presentan cargas parasitarias menores respecto a aquellas que se crían en condiciones de puna húmeda. Las alpacas machos presentan cargas parasitarias mayores (316.8) respecto a las alpacas hembras (197.4). Las alpacas de 6 años de edad en la época de lluvias presentan cargas parasitarias altas, mientras que otras edades tanto machos como hembras no muestran variación significativa. Según época, las mayores cargas parasitarias se observan en época de lluvia y más del 90 % de la carga parasitaria se encuentra en el intestino delgado, conformada principalmente por *Lamanema chavezii* y *Nematodirus sp.* que resultaron ser los parásitos más numerosos, ocasionando infecciones significativas tanto en épocas de lluvia como en seca.
2. Las lesiones anatomopatológicas observadas en el abomaso fueron moderadas en ambas épocas. Se observaron áreas rojizas en la mucosa abomasal, exudado catarral y en menor grado edema, petequias. Además, se observaron nódulos blanco grisáceos en ambas épocas. En la ucosa intestinal se observaron áreas rojizas, exudado catarral y en frecuencia menor petequias, estas fueron similares en ambas épocas, atribuidas principalmente a *Lamanema* y *Nematodirus*. Así mismo, se observaron pequeños nódulos de color blanquecino diseminados como granos de quinua sobre todo en época seca y que corresponden a una reacción inflamatoria del tejido que rodea a las larvas que quedaron atrapadas y destruidas por el sistema inmune. En el hígado las lesiones que se observaron estuvieron relacionadas a

Lamanema chavezii. Se observaron congestión, focos de necrosis de aspecto perlado, abscesos puntiformes y áreas blanquecinas que ofrecen resistencia y crepitan al corte.

3. Las lesiones histopatológicas observadas en las infecciones parasitarias estuvieron caracterizadas por exudado mixto de neutrófilos, eosinófilos, linfocitos y plasmocitos en algunos casos macrófagos, células epitelioides y células gigantes. En el abomaso se observó en época seca hiperplasia de células epiteliales, descamación, hiperemia asociada a inflamación y en época verde principalmente atrofia y edema. En el intestino delgado en época seca descamación de células epiteliales, acortamiento y fusión de vellosidades, en algunos casos formaciones papiliformes mientras que en época verde piogranulomas, hiperplasia linfocítica y microabscesos con células gigantes. En el hígado se observó congestión, focos de necrosis, degeneración hidrópica, células epitelioides, hiperplasia de conductos biliares, piogranuloma con células gigantes.
4. Mediante la prueba de EITB se determinó el patrón de respuesta humoral para *Lamanema chavezii* y *Nematodirus sp.* Se reconocieron 18 proteínas antigénicas para *L. chavezii* y 17 para *Nematodirus sp.* Las de mayor frecuencia para *L. chavezii* fueron las de 112.1, 162.7, 118.9, 65.1, 92.5, 193.1 y 29.5 kDa y para *Nematodirus sp.* las de 62.4, 59.5 y 196.9 kDa.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Abbas, A.H.; Lichtmar, A.H.; Pober, J.S.** 1999. *Inmunología celular*. 3ra ed, Ed Interamericana, México DF, 552pp
2. **Adams, D.B.; Anderson, B.H.; Windon, R.G.** 1989. Cross-immunity between *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. *Int J Parasitol*, 19: 717-722.
3. **Armour, J.** 1989. The influence of host immunity on the epidemiology of trichostrongyle infections in cattle. *Vet Parasitol*, 32: 5-19.
2. **Barriga, O.** 1994. *Inmunoparasitología*. *Rev Inv Pec IVITA*. Perú, 7 (1): 1-5.
3. **Becklund, W. W.** 1963. *Lamanema chavezii* gen sp n. and *Nematodirus lamae* sp.n/ (Nematode Trichostrongylidae) from the alpaca, *Lama pacos*, and the vicuña, *Vicugna vicugna*, in Peru. *J Parasitol*, 49: 1023 - 1027.
4. **Bellanti, J. A.** 1986. *Inmunología*. 3ra ed, Ed Interamericana, Mexico DF, 662pp.
5. **Boch, J.; Supperer, R.** 1977. *Parasitología en Medicina Veterinaria*. 1ra ed, Ed Hemisferio Sur, Bs As, 627pp.

6. **Bollag, D.; Edelstein, S. J.** 1992. Protein methods. 1st ed, Ed Wiley-Liss, 230pp.
7. **Borchert, A.** 1981. Parasitología Veterinaria. 3ra ed, Ed Acribia, Zaragoza, 745pp.
8. **Calderón, B.G.; Alva, J.; Rojas, M.** 1988. Rol de la Sanidad en la explotación de Camélidos Sudamericanos. Rev CI- IVITA. UNMSM. Lima.
9. **Charley-Poulain, J.; Luffau, G.; Péry, P.** 1984. Serum and abomasal antibody response of sheep to infections with *Haemonchus contortus*. Vet Parasitol, 14:129-141.
10. **Chávez, F. A.; Condori, S.J.** 1990. Evaluación parasitaria de ovinos, alpacas y vacunos en diez comunidades campesinas del ámbito de la Microrregión Puno-Pichacani. Tesis Médico Veterinario y Zootecnista, FMVZ-UNA-Puno.
11. **Chávez, C.; Guerrero, C.; Alva, J.; Guerrero, J.** 1967. Parasitismo gastrointestinal en alpacas. Rev FMV-UNMSM, 21:9.
12. **Claerebout, E.; Vercruyse, J.** 2000. The immune response and evaluation of acquired immunity against gastrointestinal nematode in cattle. Parasitol, 120:525-542.
13. **Compaire, F.C.; Tarazona, V. J.M.** 1985. La importancia del parasitismo en los rumiantes en pastoreo. Ann INIA, Ser Hig y Sanid Anim, 11: 11-16.
14. **Correa, M.; Fleisser, A.** 1989. Inmunología Parasitaria. En: Inmunología Veterinaria. 1ra. ed, Ed Diana, Mexico, 509pp.

15. **Cuquerella, M.; Gómez-Muñoz, M.T.; de la Fuente, C.; Carrera, L.; Alunda, J.M. 1993.** Lamb serum recognition of infective larvae and adult *Haemonchus contortus* antigens. *Vet Parasitol*, 49: 255-264.
16. **Donald, A.D. 1994.** Parasites. Animal production and sustainable development. 54: 27-45.
17. **Dunn, A.M. 1983.** *Helminología Veterinaria*. 2da ed, Ed El Manual Moderno, México, 1832 pp .
18. **Emery, D.L.; Mc Clure, B.M.; Jones, W.O. 1992.** Studies of stage specific immunity against *Trichostrongylus colubriformes* in sheep. *Inter J Parasitol*, 22(2):215 - 229.
19. **Fowler, M.E. 1989.** *Medicine and Surgery of South American Camelids*. 1st de, Ed Iowa State University, 391pp.
20. **Gasbarre, L.C. 1997.** Effects of gastrointestinal nematode infection on the ruminant immune system. *Vet Parasitol*, 72.
21. **Guerrero, C.A. 1967.** *Cooperia mcmasteri* en Alpacas y Vicuñas. *Rev Parasitol Lab Invest Parasitol*, Lima, 1: 130-136.
22. **Guerrero, C.; Rojas, E.J. 1969.** *Graphinema aucheniae* n. Gen., n.sp. (nematoda) en auquenidos. *Bol Chileno Parasitol*, 24: 134-136.
23. **Guerrero, C.A. 1971.** Enfermedades Parasitarias de las alpacas. *Bol IVITA-UNMSM*, Lima, 8: 48-53.
24. **Guerrero, C.A.; Alva, J.; Vega, I.; Hernandez, J.; Rojas, M. 1973 (a).** Algunos aspectos biológicos y patológicos de *Lamanema chavezii* en alpacas. *Rev Inv Pec IVITA-UNMSM*, 2(1): 29-42.

25. **Guerrero, C; Rojas, M; Alva, J.** 1981. *Lamanema chavezii*, an enterohepatic nematode of South American Camelids and its control using Levamisole. Rev Latinam Microb, 23: 121-123.
26. **Guerrero, C.A; Leguía, G.** 1987. Enfermedades Parasitarias de las alpacas. Rev UNMSM-IVITA-CICCS, Lima, 4: 59-67.
27. **Harlow, E.; Lane, D.** 1988. Antibodies. Ed Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 649pp.
28. **Hochstad, J.** 1978. Adenosine phosphoribosil transferase from *Escherichia coli*. Meth Enzimol, 51: 558-67.
29. **Holmes, P.H.; Coop, R.L.** 1994. Work shop summary: Pathophysiology of gastrointestinal parasites. Vet Parasitol, 54: 299-303.
30. **Kates, K.C; Turner, J.H.** 1953. Experimental Studies on the Pathogenicity of *N. spathiger*, a Trichostongylid Parasite of Sheep. J Vet Res, 50: 72-81.
31. **Kassai, T.** 1999. Veterinary helminthology. 1st ed, Ed Butterworth-Heinemann, Oxford, 260pp.
32. **Kennedy, P.; Jubb, K.V.F.; Palmer, N.** 1990. Patología de los Animales Domésticos. 3ra ed, Ed Hemisferio Sur, Montevideo. Tomo II, 653pp.
33. **Laboratorio Veterinario Central Weybridge Inglaterra.** 1971. Manual de técnicas de parasitología veterinaria. Ed Acribia, Zaragoza, 196pp.
34. **Laemmli, E.K.** 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680-685.
35. **Lapage, G.** 1982. Parasitología Veterinaria. Ed Continental, Mexico DF, 767pp.

36. **Leguía, G.; Casas, E.** 1999. Enfermedades Parasitarias y Atlas Parasitológico de Camélidos Sudamericanos. 1ra ed, Edit. del Mar, Lima, 190pp.
37. **Levine, N.D.** 1963. Weather, climate and the bionomics of ruminant nematode larvae. *Adv Vet Sci*, 6: 215-261.
38. **López, M. T.** 1994. Caracterización antigenica de *Lamanema chavezii* utilizando la prueba de Western Blot. Tesis Magister, FMV-UNMSM-Lima.
39. **Mamani, Ch. J.** 1989. Evaluación parasitaria el alpacas (*Lama pacos*) de la Comunidad de Chichillapi-Provincia de Chucuito-Puno. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista, FMVZ-UNA.
40. **Mehlhorn, H.** 1988. Parasitology in focus. Ed Springer Verlag, Berlin, 923pp.
41. **Meusen, E.N.** 1999. Immunology of helminth infection with special reference to immunopathology. *Vet Parasitol*, 84(3-4): 259-273.
42. **Melo, A. M.** 1997. Sistemas de control y manejo sanitario de las alpacas y llamas en la región andina del sur peruano. *Rev FMVZ-UNA, Puno*, 1:54-59.
43. **Ministerio de Agricultura.** 1973. Estudio de la Evaluación de Problemas de Carnes en el Perú, Tomo V. Lima-Perú.
44. **Ministerio de Agricultura.** 1999. Población de Camélidos en el Perú por departamentos. OIA Puno-Perú.
45. **Morgan, B.B.; Hawkins, P.A.** 1949. *Veterinary Helminthology*. 1st. ed, Ed Burgess Publishing Company, USA, 399pp.

46. **Neutra, M.R.; Pringault, E.; Pierre, J.** 1996. Antigen sampling across epithelial barriers and induction of mucosal immune responses. *Ann Rev Immunol*, 14: 275-300.
47. **Parkhouse, R.M.E.; Almond, N.M.; Cabrera, Z.; Harnett, W.** 1987. Nematode antigens in protection, diagnosis and pathology. *Vet Immunopathol*, 17: 313-334.
48. **Roitt, I.; Brostoff, J.; Male, D.** 1997. *Immunology*. 4th. ed, Ed Mosby, London, 406 pp.
49. **Rojas, C.M.** 1990. Parasitismo de los rumiantes domésticos, terapia, prevención y modelos para su aprendizaje. Ed Majjosa, Lima, 383pp.
50. **Rojas, M.; Nuñez, L.A.; Alva, J.** 1987. Análisis longitudinal de la Gastroenteritis nematódica de las alpacas. *Rev UNMSM-IVITA-CICCS*, Lima, 5: 34.
51. **Rose, J. H.** 1960. Experiments on the transmission of cattle, lungworm infection. *J Path*, 66: 475-481.
52. **Sarle, M.P.** 1994. Effects of Experimental nodular worm (*Oesophagostomum columbianum*) infection in sheep, U.S. Dept/Agric. Teach Bull, 875pp.
53. **Schallig, H.D.; Vanleeuwen, M.A.W.; Hendrix, W.M.L.** 1994. Immune responses of Texel sheep to E/S products of adults *Haemonchus contortus*. *Parasitol*, 108: 351-357.
54. **Schallig, H.D.; Vanleeuwen, M.A.W.; Hendrix, W.M.L.** 1995. Isotype-specific serum antibody-responses of sheep to *Haemonchus contortus* antigens. *Vet Parasitol*, 56: 149-162.

55. **Smith, B.P.** 1996. Large Animal Internal Medicine. Disease of horses, cattle, sheep, and goats, 2nd ed, Ed Mosby, USA, 2040pp.
56. **Symons, L.E.** 1989. Patophysiology of endoparasitic infection. Ed Acad Press, Australia, pp.
57. **Soulsby, E.J.L.** 1987. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. 7ma ed, Ed Interamericana, Mexico, 212-220p.
58. **Tagle, V.** 1970. Enfermedades Parasitarias de los animales domésticos. Ed Chile, 334pp.
59. **Threlkeld, W.L.; Johnson, E.P.** 1948. Observation on the pathogenicity and viability of *Ostertagia ostertagi*. Vet Medic, XLIII: 11. **Tizard, R.I.** 1998. Inmunología Veterinaria. 4ta ed, Ed Interamericana McGraw Hill, Mexico, 338pp.
60. **Trigo, T.F.** 1998. Patología Sistémica Veterinaria. 3ra ed, Ed Interamericana McGraw Hill, Mexico, 360pp.
61. **Valencia, M. N.** 1985. Estudio de Ecto y Endoparásitos en llamas de la CAP Huaycho-Nuñoa-Melgar, Cusco. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista, FMVZ-UNA-Puno
62. **Yana, S.P.** 1999. Influencia del parasitismo gastrointestinal sobre algunas constantes hematológicas, serológicas y lesiones anátomo histopatológicas en alpacas Huacaya. Tesis Médico Veterinario y Zootecnista, FMVZ-UNA-Puno.
63. **Zanabria y Yucra.** 1988. Evaluación de la carga parasitaria gastrointestinal en vacunos, ovinos, alpacas, llamas y equinos de la Comunidad Campesina de Paylla Melgar. FMVZ-UNA-Puno.

ANEXO

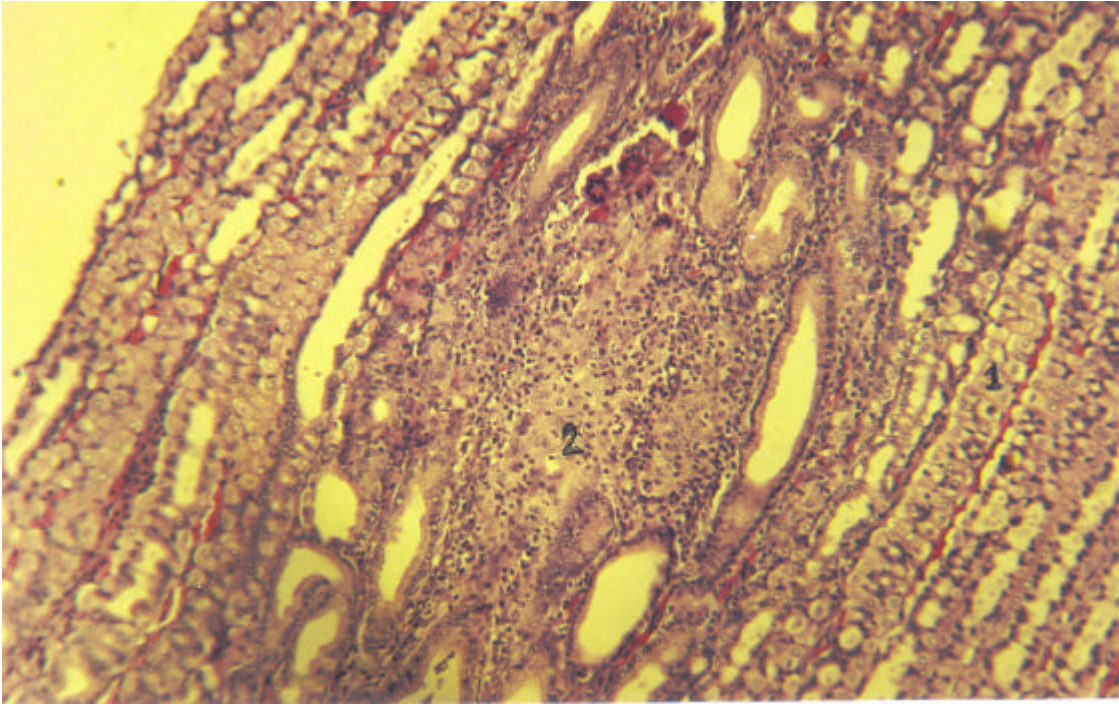


Foto 1. Microfotografía del abomaso a 15X, muestra tomada durante la época seca y teñida con HE. Se observa congestión, necrosis y foco inflamatorio en la mucosa.

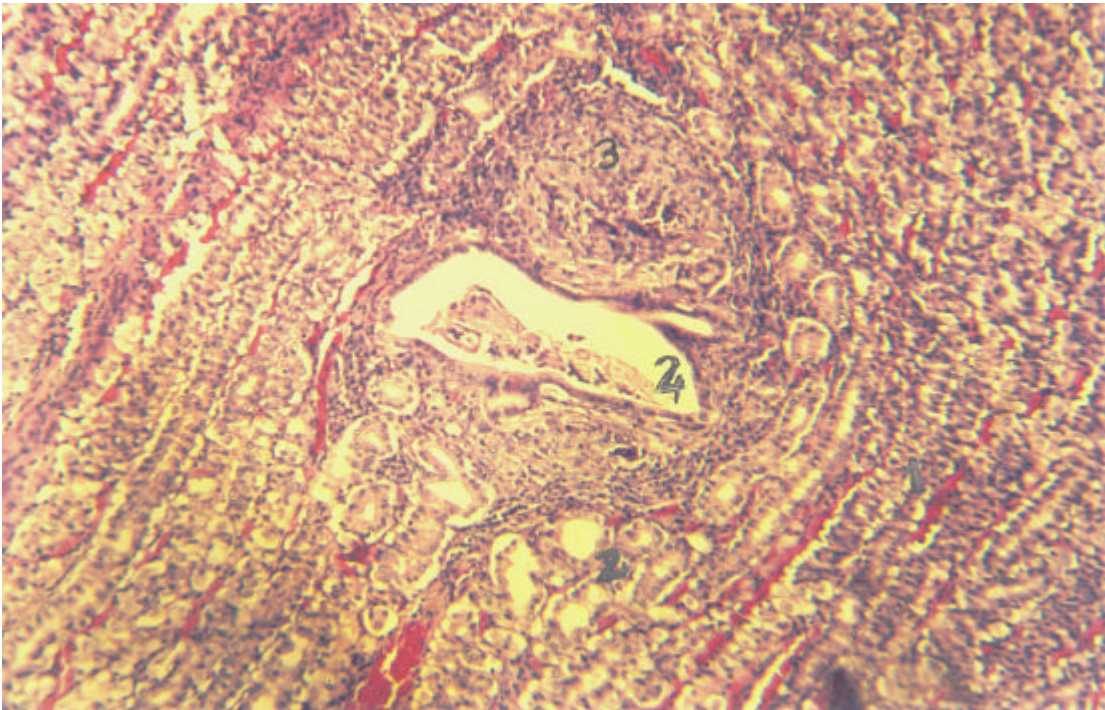


Foto 2. Microfotografía del abomaso a 15X, muestra tomada durante la época seca y teñida con HE. Se aprecia congestión (1), moderada dilatación y formación de quistes glandulares abomasales conteniendo detritus celulares e hiperplasia y necrosis de la mucosa.

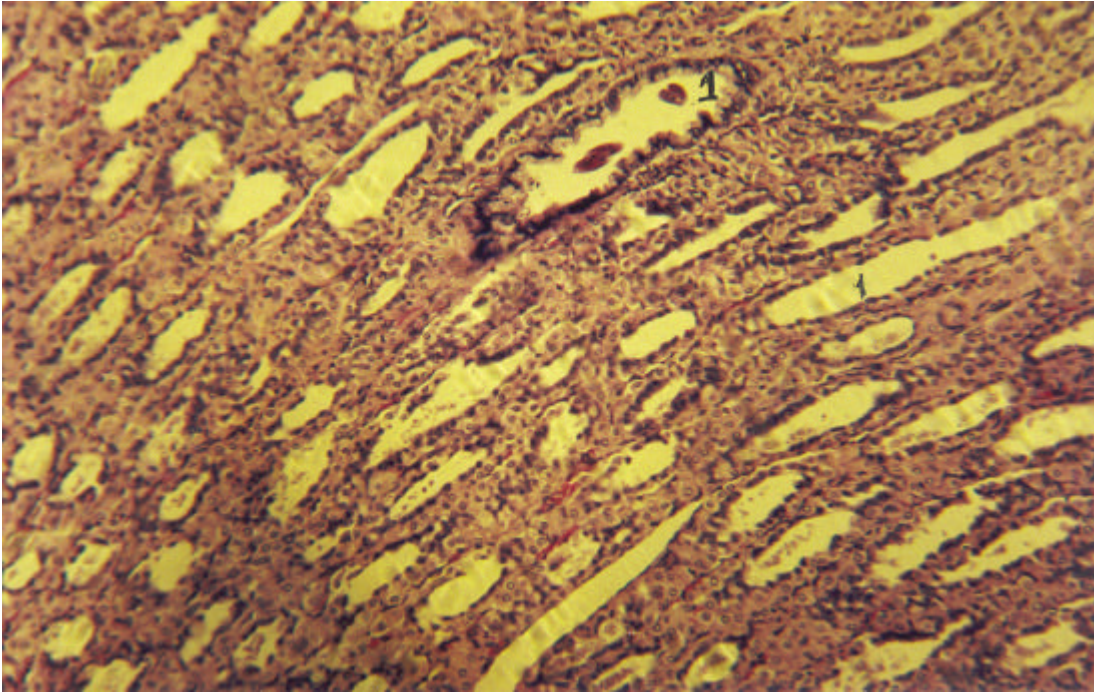


Foto 1. Microfotografía del abomaso a 15X teñida con HE, muestra tomada durante la época de lluvia. Se observa dilatación e hiperplasia de células epiteliales glandulares del abomaso conteniendo restos de parásito (1).

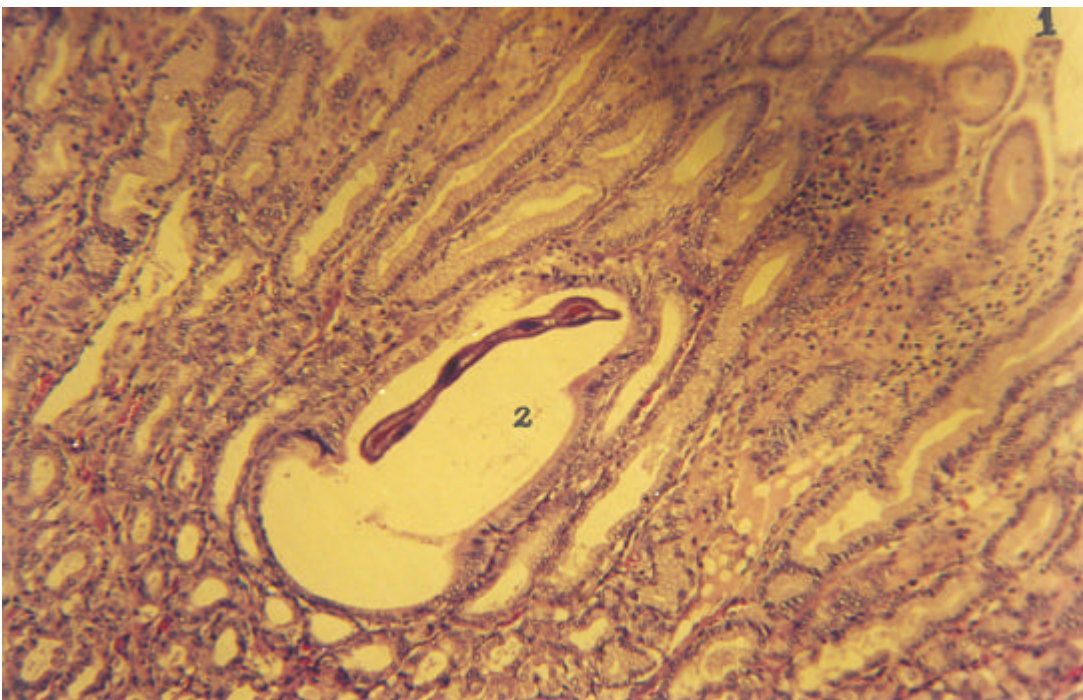


Foto 2. Microfotografía de abomaso tomado en época de lluvia, teñido con HE y a 40X de aumento. Se observa atrofia del epitelio del abomaso (1), presencia del parásito en las glándulas con dilatación e hiperplasia del epitelio y formación de papilas (2).

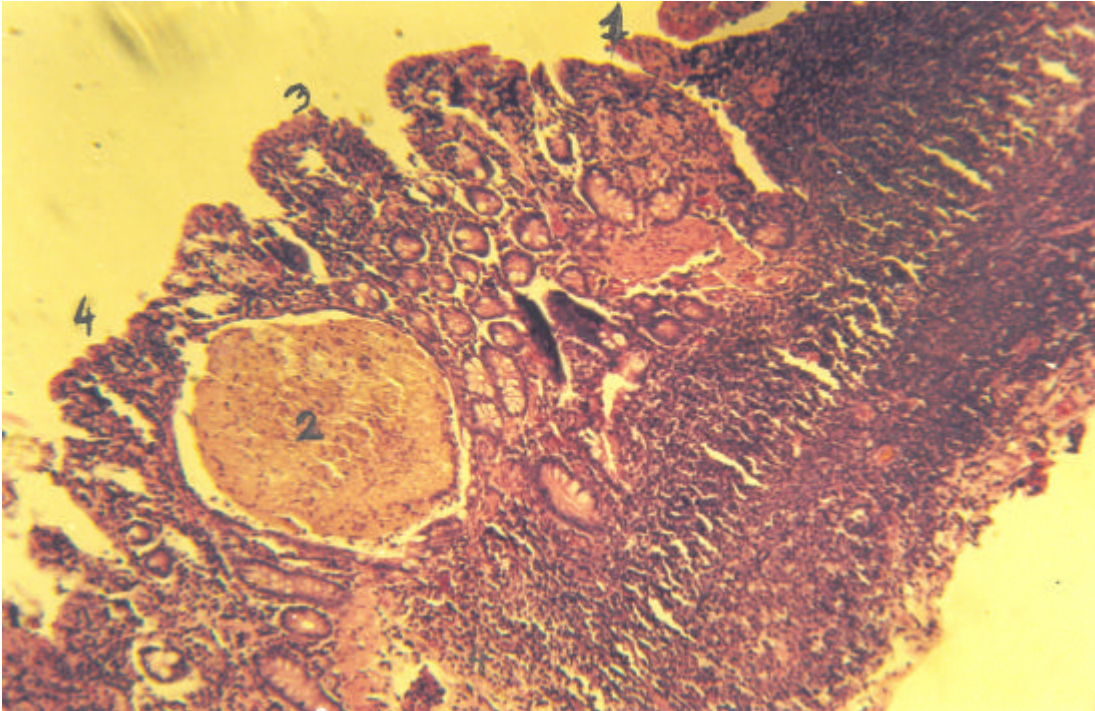


Foto 1. Intestino delgado a 10X y teñido con HE de una muestra tomada en época de lluvia. Se aprecia hiperplasia de placas de Peyer (1), microabsceso (2), fusión de vellosidades (3), necrosis y acortamiento de vellosidades (4).

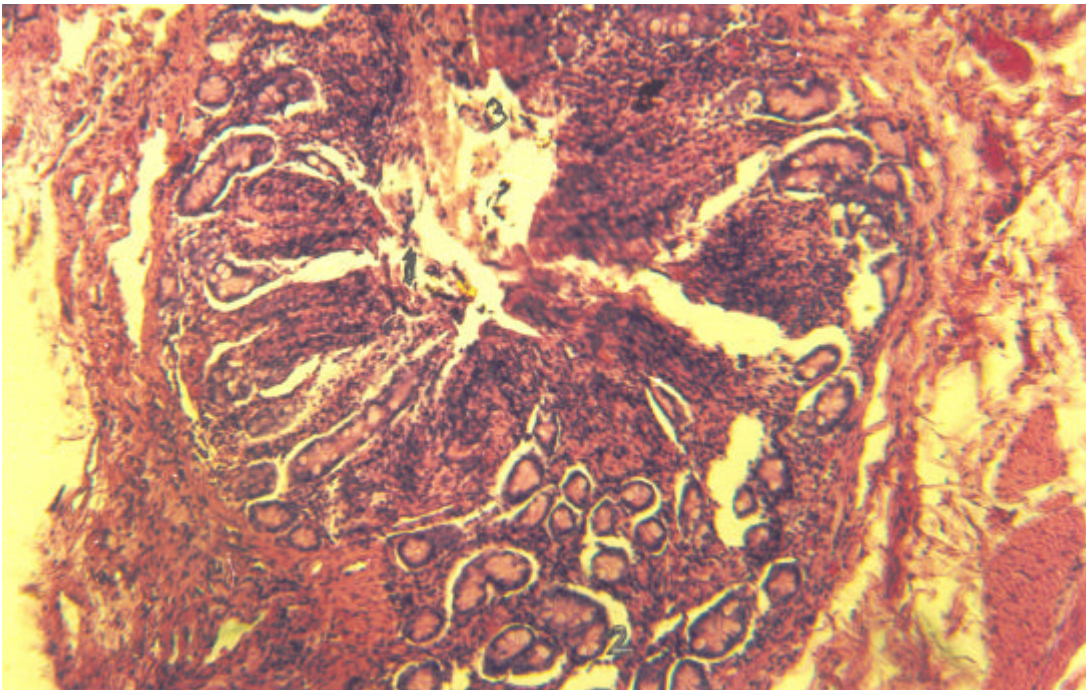


Foto 2. Corte transversal de intestino delgado teñido con HE y con 10X de aumento de una muestra tomada en la época seca. Se aprecia fusión y necrosis de vellosidades (1), hiperplasia de criptas (2) y exudado celular (3).

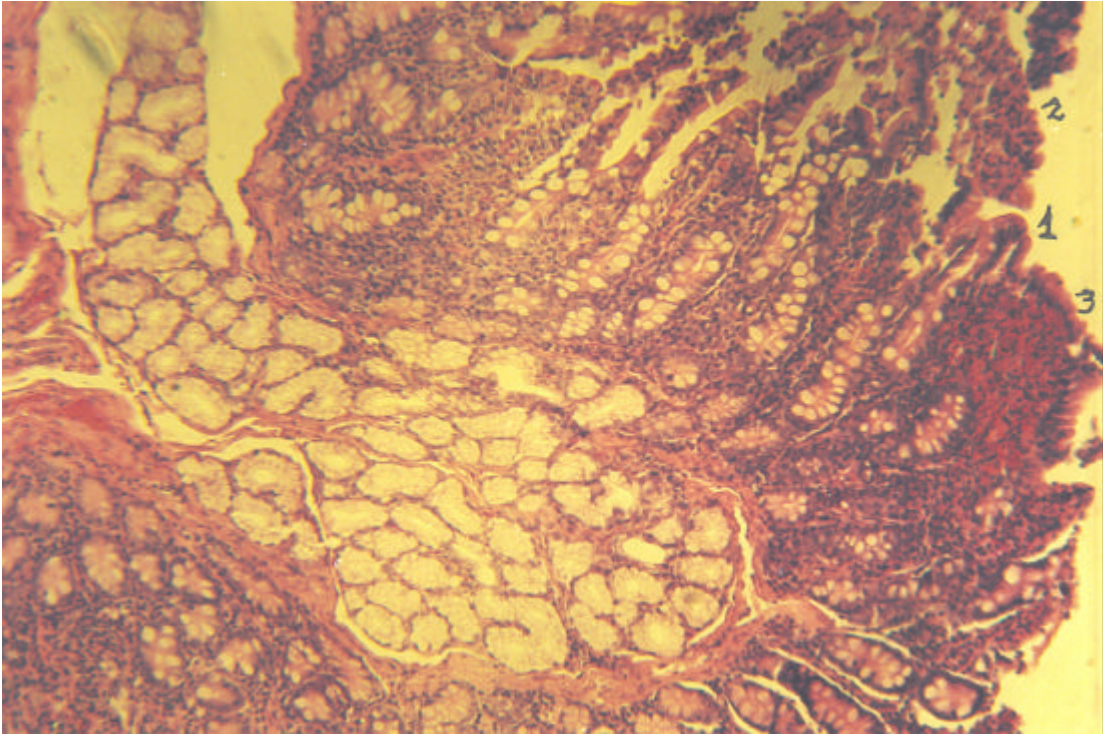


Foto 1. Intestino delgado teñido con HE a 10X, muestra tomada en época seca. Se observa un acortamiento de vellosidades (1), necrosis del ápice de las vellosidades (2) y microhemorragias (3).

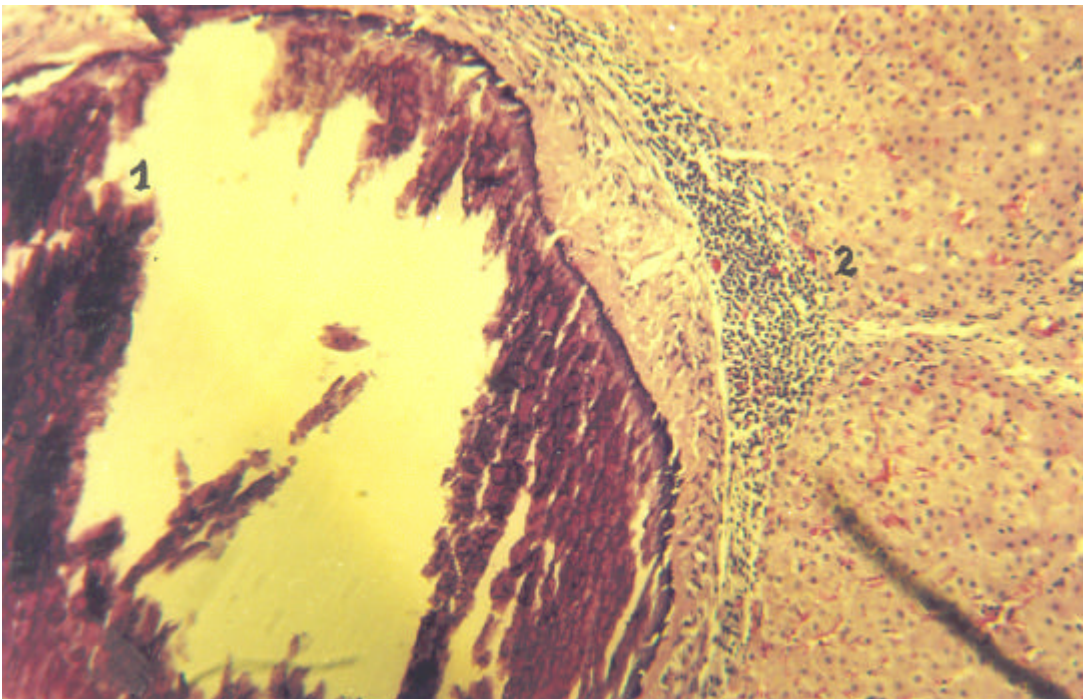


Foto 2. Hígado teñido con HE con 40X de aumento, muestra tomada en época seca. Se aprecia el foco de necrosis, la basofilia, decalcificación distrófica sugerente (1), moderado exudado mononuclear moderado en la superficie del foco (2).