



SIRIVS

**Sistema de Revisiones en Investigación
Veterinaria de San Marcos**

LA ENTEROTOXEMIA EN ALPACAS: ALGUNOS ASPECTOS ETIOLÓGICOS Y CLÍNICOS



REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA - 2011

Autor:

José Luis Hurtado Flores

Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Facultad de Medicina Veterinaria

TABLA DE CONTENIDO

1.	PRESENTACIÓN	2
2.	INTRODUCCIÓN	2
3.	ETIOLOGÍA	3
4.	PRINCIPALES TOXINAS PRESENTES EN <i>C. perfringens</i>	4
4.1.	La toxina alfa (α).....	4
4.2.	La toxina beta (β)	5
4.3.	La toxina épsilon (ϵ).....	5
4.4.	La toxina iota (ι).....	5
4.5.	La enterotoxina (CPE).....	5
4.6.	La toxina beta 2 (β_2)	6
4.7.	La toxina NetB (Necrotic enteritis toxin, B-like).....	6
5.	LA ENFERMEDAD CLÍNICA	6
5.1.	Patogenia	7
5.2.	Signos clínicos.....	8
5.3.	Lesiones observadas.....	8
5.4.	Diagnóstico.....	9
5.5.	Control y prevención	10
6.	CONCLUSIONES	10
7.	LITERATURA CITADA.....	11

LA ENTEROTOXEMIA EN ALPACAS: ALGUNOS ASPECTOS ETIOLÓGICOS Y CLÍNICOS

MVZ. José Luis Hurtado Flores (doctorjose26@hotmail.com)

1. PRESENTACIÓN

El presente documento es una revisión sobre la enterotoxemia en alpacas, incidiendo sobre la etiología de la enfermedad, patogenia y las medidas de prevención que se deben adoptar.

2. INTRODUCCIÓN

Las pérdidas de crías de alpacas dentro de los primeros tres o cuatro meses de vida en alpacas alcanzan cifras elevadas que en algunos casos pueden superar el 50% de los animales nacidos (Fernández Baca, 2005). La enterotoxemia es la enfermedad infecciosa más importante que afecta a las alpacas, ya que ocasiona elevadas tasas de mortalidad neonatal, pudiendo llegar hasta el 70% en algunos centros de crianza alpaquera del Perú (Ramírez *et al.*, 1985); provoca, por lo tanto, una disminución de la población y

por consiguiente interfiere con programas de mejoramiento genético. El agente causante de la enfermedad es el *Clostridium perfringens*, siendo el tipo A el más involucrado (Moro, 1971; Ramírez *et al.*, 1985; Moro, 1987; Ramírez, 1987); aunque también han sido reportados los tipos B (Prehn *et al.*, 1999), C (Moro, 1971) y D (Fowler, 1998).

El *C. perfringens* es un bacilo Gram positivo, anaerobio facultativo, móvil, formador de esporas y causante de una gran variedad de enfermedades en humanos y animales (Hatheway, 1990). El *C. perfringens* se encuentra ampliamente distribuido en el suelo y en la flora intestinal microbiana de animales y humanos (Hatheway, 1990; Songer, 1996). La virulencia de esta especie está dada por la presencia de exotoxinas, las cuales también determinan el genotipo de la cepa. Así, el tipo A posee sólo la toxina α ; el tipo B las

toxinas α , β y ϵ ; el tipo C las toxinas α y β ; el tipo D las toxinas α y ϵ ; y el tipo E las toxinas α y ι (Gillespie y Timoney, 1981; Hatheway, 1990; Songer, 1996; Petit *et al.*, 1999).

Además de las exotoxinas existen otros factores de virulencia presentes en *C. perfringens*, los cuales se han asociado a problemas entéricos. Uno de ellos es la enterotoxina (CPE), la cual es producida principalmente por el tipo A. (Hatheway, 1990; Rood, 1998; Petit *et al.*, 1999). La CPE es una endotoxina sintetizada sólo durante la fase de esporulación (Rood, 1998; Petit *et al.*, 1999; Smedley *et al.*, 2004), la cual provoca pérdida de fluidos y electrolitos en la mucosa intestinal (Smedley *et al.*, 2004). La CPE ha mostrado tener un rol en casos de intoxicación de origen alimentario en humanos (Sparks *et al.*, 2001). Otro factor de virulencia es la toxina β_2 , una de las últimas identificadas y estudiadas, posee una actividad biológica similar a la toxina β , pero no presenta homología en la secuencia de aminoácidos de la toxinas (Gibert, 1997; Smedley *et al.*, 2004), además se ha demostrado la asociación del gen *cpb2* con casos de enteritis necrótica en cerdos (Waters *et al.*, 2003) y tiflocolitis en caballos (Herholz *et al.*, 1999).

Actualmente, técnicas moleculares como la PCR han demostrado ser herramientas confiables para el diagnóstico y la determinación de los principales factores de virulencia de *C. perfringens*, siendo empleado por muchos investigadores en trabajos realizados en cerdos (Waters *et al.*, 2003), corderos (Gkiourtzidis *et al.*, 2001), pollos (Engström *et al.*, 2003), venados (Embury-Hyatt *et al.*, 2005), caballos (Herholz *et al.*, 1999) y humanos (Sparks *et al.*, 2001).

3. ETIOLOGÍA

C. perfringens es una bacteria que pertenece al phylum *Firmicutes*, Clase *Clostridia*, Orden *Clostridiales*, Familia *Clostridiaceae*, Genero *Clostridium*, Especie *C. perfringens* (Garrity *et al.*, 2001). Fue aislado por primera vez en 1892 por Welch y Nutball a partir de muestras de cadáver humano en descomposición, llamándose anteriormente *C. welchii*, esta bacteria se encuentra ampliamente distribuida como parte de la flora normal del suelo y tracto intestinal de animales de sangre caliente (en especial el tipo A); mientras que otros (tipos B, C, D y E) son menos comunes en el tracto intestinal y pueden ser ocasionalmente

encontrados en el ambiente, en áreas donde este microorganismo ocasiona enfermedades enzoóticas (Joclik y Willett, 1991; Songer, 1996). Microscópicamente *C. perfringens* es un bacilo Gram positivo grueso, recto, solitario o en pares, rara vez en cadena (Gillespie y Timoney, 1981), pudiendo tener una forma cocoide o cúbica en cultivos jóvenes o elongados en cultivos viejos (Joclik y Willett, 1991), es inmóvil y presenta un cápsula de peptidoglicano que puede ser visible en frotices directos de fluidos corporales y tejidos (Brooks *et al.*, 1998). *C. perfringens* es un organismo anaerobio tolerante, forma esporas (Barach *et al.*, 1974), fermenta glucosa, lactosa, maltosa, sucrosa y otras variedades de azúcares (Hatheway, 1990) y es un típico productor de gases como CO₂ e hidrógeno, lo que le confiere al ambiente donde crece un ambiente anaeróbico (Madigan *et al.*, 2001).

Se reporta que la eimeriosis podría ser un factor de riesgo para la presentación de la infección, debido a que éstos podrían provocar en el intestino delgado un daño tisular suficiente para generar un microclima apropiado para el crecimiento de *C. perfringens* (Rosadio *et al.*, 2010), además se sospecha de cepas patógenas de *E. coli*

que podría, al igual que *Eimeria*, generar un necrosis de células epiteliales, generando un ambiente apropiado para el crecimiento masivo del bacilo con la consiguiente producción de sus toxinas (Luna, 2009)

4. PRINCIPALES TOXINAS

PRESENTES EN *C. perfringens*

4.1. La toxina alfa (α)

La toxina alfa es una zinc metalofosfolipasa que hidroliza fosfatidil colina y esfingomielina, los cuales se encuentran presentes en la membrana externa de la célula eucariota, lo cual es la responsable de su actividad citotóxica, necrótica y hemorrágica (Titball *et al.*, 1999). El gen que lo codifica es de ubicación cromosomal y está presente en todos los tipos de *C. perfringens* (A - E) (Rood, 1998). La toxina está conformada por dos dominios: un dominio amino-terminal (dominio N) compuesto de hélices y otro dominio carboxi-terminal (dominio C) compuesto de hojas plegadas. Estos dominios están unidos por una región común flexible (Duchesnes y Mainil, 2005). El dominio N contiene el sitio activo de la fosfolipasa C esencial para todas las actividades; mientras que el dominio C podría tener un rol clave en la interacción

con la membrana fosfolipídica (Titball *et al.*, 1999).

4.2. La toxina beta (β)

La toxina beta es una exotoxina y está presente solo en los tipos A y C del *C. perfringens* e induce inflamación y necrosis celular (Songer, 1996). El gen de esta toxina es plasmidial (Smedley *et al.*, 2004). La toxina es secretada al final del crecimiento logarítmico, se conoce aún poco sobre su mecanismo de acción, pero debido a su homología con la toxina α , γ y leucocidin de *Staphylococcus aureus*, se sugiere que podría actuar como una porina, alterando la permeabilidad de la membrana y como consecuencia la muerte celular (Duchesnes y Mainil, 2005).

4.3. La toxina épsilon (ϵ)

La toxina épsilon es una exotoxina producida por los tipos B y D del *C. perfringens*, posee actividad letal, necrotizante y edematizante (Smedley *et al.*, 2004). El gen codificante de esta toxina es plasmidial, y la toxina producida necesita ser activada por proteasas intestinales para convertirse en una toxina activa (Rood, 1998). La acción de esta toxina es a manera

de una porina, semejante a la toxina β (Smedley *et al.*, 2004).

4.4. La toxina iota (ι)

La toxina iota es una exotoxina producida por el tipo E de *C. perfringens*, posee actividad dermonecrotica, causa alteración de la permeabilidad y es letal en ratones (Hatheway, 1990). Esta toxina es producida por dos genes ubicados en un plásmido y es secretada durante la fase exponencial de crecimiento como proteínas inactivadas, los cuales a la acción de proteasas se vuelven activos (Duchesnes y Mainil, 2005).

4.5. La enterotoxina (CPE)

La enterotoxina del *C. perfringens* (*C. perfringens* enterotoxin; CPE) es una endotoxina sintetizada sólo durante la fase de esporulación, la cual induce una significativa secreción de agua e iones en enterocitos, provocando descamación y acortamiento de las microvellosidades intestinales (Rood, 1998, Smedley *et al.*, 2004). La CPE no posee actividad necrotizante (Niilo, 1986) y es producida por menos del 5% de la población de *C. perfringens*, principalmente por cepas tipo A (Rood, 1998; Smedley *et al.*, 2004) aunque

también por cepas tipo C y D (Rood, 1998). El gen que lo codifica (gen *cpe*) puede ser encontrado en una región variable del cromosoma (cepas aisladas de casos de intoxicación de origen alimentario) o en un largo plásmido (cepas aisladas de casos de gastroenteritis humana no asociadas a intoxicación de origen alimentario y de casos entéricos en animales) (Songer, 1996; Rood, 1998; Smedley *et al.*, 2004).

4.6. La toxina beta 2 (β 2)

El gen de la toxina beta 2 se encuentra en un plásmido que puede estar presente en todos los tipos de *C. perfringens* (Morris y Miyakawa, 2009). Esta toxina se encuentra asociado a una serie de enfermedades entéricas en animales (Waters *et al.*, 2003; Engstrom *et al.*, 2003; Dray, 2004; Smedley *et al.*, 2004). La toxina se secreta durante la fase logarítmica tardía, y su expresión no ha sido demostrada en todas las cepas positivas al gen *cpb2* (Jost *et al.*, 2005). Esta toxina no guarda homología con la toxina β (Smedley *et al.*, 2004), es letal en ratones, algunas líneas celulares y provoca necrosis hemorrágica en mucosa intestinal (Campos *et al.*, 2004).

4.7. La toxina NetB (Necrotic enteritis toxin, B-like)

La toxina NetB es una de las últimas toxinas descritas en *C. perfringens* y surgió gran interés por el estudio de esta toxina debido a que se le demostró un papel en la patogenia de la enteritis necrótica en pollos (Keyburn *et al.*, 2008). Se sugiere una localización plasmídica, guarda una cierta homología con la toxina β (38% de identidad), y sería una toxina formadora de poros. Se ha detectado también cepas portadoras del gen *netb* en aves y pollos aparentemente sanas (Keyburn *et al.*, 2010).

5. LA ENFERMEDAD CLÍNICA

La enterotoxemia de las alpacas también conocida como diarrea bacilar o enfermedad de Moro es causada por las toxinas de *C. perfringens* (Moro, 1971; Moro, 1987), siendo mayormente el tipo A el más involucrado (Moro, 1971; Ramírez *et al.*, 1985; Ramírez, 1987; Moro, 1987; Ramírez, 1988; Ramírez y Ellis, 1988; Ramírez, 1989a; Ramírez, 1989b), aunque se reporta también el tipo C (Moro, 1971; Moro, 1987) en la sierra sur del Perú (Moro, 1971; Moro, 1987). Mientras que en Chile y

en EEUU han sido reportados los tipos A y B, (Prehn *et al.*, 1999) y los tipos A (Fowler, 1998), C (Fowler, 1998; Whitehead y Anderson, 2005) y, posiblemente, el D (Fowler, 1998), respectivamente, en casos de enterotoxemia en alpacas. Se presenta en forma epizootica durante la época de parición, y se encuentra relacionada a factores climáticos, especialmente lluvia abundante, además de deficiencias en el manejo e higiene (Moro, 1971; Ramírez *et al.*, 1985; Moro, 1987; Ramírez, 1989b; Ameghino y De Martini, 1991; Bustinza, 2000).

La enterotoxemia afecta principalmente a crías de alpacas y llamas entre los 3 a 80 días de edad, siendo las de 14 a 21 días de edad las más susceptibles (Moro, 1971; Ramírez *et al.*, 1985; Moro, 1987; Ameghino y De Martini, 1991; Fowler, 1998; Bustinza, 2000). Se ha observado que las crías de buena condición corporal son aparentemente las más susceptibles a desarrollar la enfermedad (Moro, 1971; Ramírez *et al.*, 1985; Moro, 1987; Ameghino y De Martini, 1991; Bustinza, 2000). La enfermedad afecta tanto a crías hembras como a machos; Así mismo, las crías de la raza Suri blancas han mostrado verse más afectadas que las crías

de la raza Huacaya y de colores (Ramírez *et al.*, 1985; Ameghino y De Martini, 1991; Bustinza, 2000).

Debido a que las crías nacen mayormente durante los meses de enero a marzo, que coincide con la época de lluvias, esta asociación de factores (lluvias abundantes, hacinamiento y animales susceptibles) estaría favoreciendo la presentación de epizootias de enterotoxemia, debido a que la extrema humedad del suelo contribuye a la presencia, multiplicación y modificación biológica de esporas y células vegetativas de *C. perfringens*. Así como también la extrema variación entre temperatura máxima (14°C) y mínima (3°C), que deben soportar las crías a pocos días de nacidas (Ramírez *et al.*, 1985).

5.1. Patogenia

La principal vía de ingreso de *C. perfringens* es la oral, principalmente por el contacto de las crías con el pasto y ubres cubiertas de lodo. Es probable que las crías ingieran una masiva cantidad de esporas y/o células vegetativas de *C. perfringens* (Ramírez *et al.*, 1985; Ramírez *et al.*, 1998). Posteriormente, en el lumen intestinal un ligero pH alcalino y el incremento de

carbohidratos en la dieta (cambio de dieta, inicio de consumo de forraje) (Ramírez y Ellis, 1988) o una excesiva ingestión de leche que ocasione indigestión (Ameghino y De Martini, 1991), favorecerían el desarrollo de un ambiente óptimo para la multiplicación de *C. perfringens* tipo A, sintetizándose la toxina alfa. Aunque también se sospecha que este mecanismo también favorece la excreción de otras toxinas posiblemente la CPE, durante la esporulación de la bacteria en el lumen (Ramírez y Ellis, 1988; Ameghino y De Martini, 1991). Una vez sintetizadas las toxinas en el lumen intestinal, estas provocan alteración en la permeabilidad de las células epiteliales de la mucosa intestinal, resultando en acumulación de fluidos y electrolitos dentro del lumen, así como la absorción de toxinas al torrente sanguíneo (Ramírez *et al.*, 1998). El animal, probablemente, muera por acidosis metabólica de carácter fatal por pérdida de la reserva alcalina de la sangre y tejidos hacia el lumen intestinal o por shock debido a que las toxinas afectan los principales órganos vitales, como el tejido nervioso (Ameghino y De Martini, 1991).

5.2. Signos clínicos

Muchas veces lo único que se puede observar es la muerte súbita, las crías afectadas degeneran rápidamente en ese estado, pudiendo mostrar antes anorexia, postración, dolor abdominal (observable por los ojos cerrados y los miembros anteriores estirados), cabeza apoyada en el suelo, a veces se observa polidipsia, y en otras apetito depravado (ingestión de tierra o piedrecillas), la temperatura es variable, pudiendo ser normal o llegar a 40°C, disminuyendo cuando el animal agoniza. En su etapa final, se observan alteraciones nerviosas manifestado por convulsiones y opistótono, muriendo posteriormente (Moro, 1971; Ramírez *et al.*, 1985; Moro, 1987; Ameghino y De Martini, 1991; Ramírez *et al.*, 1998; Fowler, 1998; Bustinza, 2000).

5.3. Lesiones observadas

En las crías con enterotoxemia se observa externamente el abdomen distendido por la presencia de gas en el intestino. A la apertura de la cavidad abdominal es perceptible un olor característico a la enfermedad (Ameghino y De Martini, 1991). Los intestinos están distendidos con fluido acuoso, cuyo color varía de acuerdo al tipo de ingesta, pudiendo ser blanquecino,

amarillento, verdoso y plomizo (Moro, 1971; Moro, 1987; Ramírez *et al.*, 1998). El intestino delgado, particularmente yeyuno e íleon, se encuentran congestionados (Moro, 1971; Moro, 1987; Ameghino y De Martini, 1991; Fowler, 1998) y hemorrágicos (Ameghino y De Martini, 1991). En intestino grueso se presentan hemorragias focales, conteniendo heces duras (Oha, 1994). Las placas de Peyer se encuentran inflamadas, siendo más notorios en el intestino grueso (Ameghino y De Martini, 1991; Fowler, 1998). Los ganglios linfáticos mesentéricos, aparecen incrementados de tamaño, congestionados y/o hemorrágicos (Ameghino y De Martini, 1991; Oha, 1994; Ramírez *et al.*, 1998; Fowler, 1998). En el estómago glandular, la mucosa puede estar congestionada o hemorrágica (Ameghino y De Martini, 1991; Fowler, 1998). En la cavidad torácica, es posible observar a veces pulmones congestionados y edematosos, (Ameghino y De Martini, 1991; Ramírez *et al.*, 1998; Fowler, 1998). Los nódulos linfáticos torácicos incrementados de tamaño y hemorrágicos (Ramírez *et al.*, 1998; Fowler, 1998). El timo se presenta congestionado y con hemorragias petequiales en su superficie (Ameghino y De Martini, 1991). En el saco pericárdico es

posible observar una gran cantidad de exudado seroso y ligeramente viscoso (Ramírez *et al.*, 1998; Fowler, 1998).

El bazo se puede encontrar aumentado de tamaño (Moro, 1971; Moro, 1987; Ameghino y De Martini, 1991). El hígado puede estar aparentemente normal, pero algunas veces se encuentra congestionado (Ameghino y De Martini, 1991; Oha, 1994; Ramírez *et al.*, 1998). En los riñones es posible observar congestión en la corteza renal (Ameghino y De Martini, 1991; Oha, 1994; Fowler, 1998) y a veces, hemorragias petequiales en su superficie (Oha, 1994). La vejiga generalmente se encuentra distendida debido a la acumulación de orina como consecuencia de parálisis por daño nervioso o por los fuertes cólicos abdominales. El encéfalo se presenta severamente congestionado observándose el acumulo de liquido cefalorraquídeo entre las meninges (Ramírez *et al.*, 1998; Fowler, 1998).

5.4. Diagnóstico

El aislamiento bacteriano no tiene mucha validez, debido a que el *C. perfringens* forma parte de la flora normal intestinal (Songer, 1996), aunque un

recuento alto de clostridios por g de heces o contenido intestinal puede ser sugestivo de enterotoxemia. Otras pruebas como frotices directos de contenido intestinal o detección de anticuerpos antitoxina alfa no son definitivas, sugiriéndose la detección de toxinas en fluidos corporales, aunque las lesiones originadas por la enterotoxemia, son muchas veces casi definitivo para el diagnóstico de esta enfermedad en el campo.

5.5. Control y prevención

Establecida la enfermedad en el rebaño es necesaria la rotación de los dormideros, y si es posible, cambiar también de las canchas o parideros a lugares más alejados (Moro, 1971; Moro, 1987; Ameghino y De Martini, 1991). Aunque, todos estos procedimientos han mostrado no traer significativa reducción de la mortalidad una vez establecida la epizootia (Melo *et al.*, 1999). La administración de antibióticos de uso oral a todas las crías del rebaño afectado durante tres días consecutivos puede disminuir la mortalidad (Moro, 1971; Moro, 1987; Ameghino y De Martini, 1991).

El uso de vacunas a partir de cepas aisladas de campo asociado a medidas de

higiene adecuadas, como la rotación continúa de canchas, es la medida de prevención más adecuada (Moro, 1971; Moro, 1987). En un estudio realizado por Yaya y Rosadio (2005), usando un anacultivo en base a cepas de *C. perfringens* aisladas de casos clínicos, aplicando tanto a madres como a crías, lograron una disminución significativa de la mortalidad por enterotoxemia.

El uso de antiparasitarios para el control de la eimeriosis, podría también ser una buena medida de prevención, debido a que se sugiere la infección mixta de *C. perfringens* con *Eimeria spp.*, para la producción de enterotoxemia (Rosadio *et al.*, 2010).

6. CONCLUSIONES

- Una de las principales limitaciones de la producción de alpacas es la elevada mortalidad de las crías que originan la pérdida de unidades productivas tanto para el autoconsumo como para la comercialización. Esta mortalidad es causada principalmente por la enterotoxemia y el manejo

inadecuado de esta enfermedad por parte de los pequeños productores.

- La patogenia de la enterotoxemia aun no está descrita totalmente, debido principalmente al descubrimiento de nuevos factores de virulencia, como el NetB.
- La etiología de la enterotoxemia aun no es clara, pudiendo ser tal vez un complejo entérico donde, virus, bacterias y/o parásitos se encuentren presentes
- La rotación de las canchas, vacunación y desparasitación de madres y crías, son a la fecha, las mejores medidas para prevenir la infección.

7. LITERATURA CITADA

1. Ameghino E, De Martíni J. 1991. Mortalidad de crías de alpacas. Boletín de Divulgación del Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura (IVITA). UNMSM. Lima, Perú. p 71-80
2. Barach, JT, Adams DM, Speck ML. 1974. Recovery of heat *Clostridium perfringens* type A spores on selective media. Appl. Microbiol. 28: 793-797
3. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. 1998. Microbiología médica de Jawetz, Melnick, y Aldergerg. 16va ed.. Editorial El Manual Moderno. México. p: 230-231
4. Bustinza JA. 2000. Enfermedades de la alpaca. 2da ed.. Impreso Universidad Nacional del Altiplano. Arequipa. p 30-43
5. Campos D, Baccaro MR, Moreno AM, Ferreira AJP, Doto DS, Murakami DF, Shinya LT. 2004. *Clostridium perfringens* tipo A portadores do gene *cpb2* associados à lesões em íleo de coelhos. Arq. Inst. Biol. São Paulo 71: 287-292.
6. Duchesnes C, Mainil J. 2005. Genus *Clostridium*. Scientific Booklets European Concerted Action QLK2-CT2001-01267. [20 de Noviembre del 2011]. Disponible en: <http://www.genusclostridium.net>.
7. Engström BE, Fermér C, Lindberg A, Saarinen E, Baverud V, Gunnarsson A. 2003. Molecular typing of isolates of *Clostridium perfringens* from healthy and diseased poultry. Vet. Microbiol. 94: 225-235

8. Fernades Baca, S 2005. Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú. Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo de la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina TCP/RLA/2914. Organización de las naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).
9. Fowler ME. 1998. Medicine and surgery of South American camelids. 2da ed.. Iowa State University Press. Iowa.. p 166-169
10. Garrity GM, Winter M, Searless DB. 2001. Taxonomic outline of the prokaryotic genera. Bergey's Manual of Sytematic Bacteriology. 2da ed. p 1-41
11. Gibert M, Jolivet-Reynaud C, Popoff MR. 1997. Beta2 toxin, a novel toxin produced by *Clostridium perfringens*. Gene 203: 65-73.
12. Gillespie J, Timoney J. 1981. Hagan and Bruner's infectious diseases of domestic animals. 7ma ed..International Standart. U.S.A.. p 207-211
13. Hatheway C. 1990. Toxigenic clostridia. Clin. Microbiol. Rev. 3: 66-98
14. Herholz C, Miserez R, Nicolet J, Frey J, Popoff M, Gubert M, Gerber H, Straub R. 1999. Prevalence of β -2-toxigenic *Clostridium perfringens* in horses with intestinal disorders. J. Clin. Microbiol. 37: 358-361.
15. Jocklik WK, Willett HP. 1991. Zinsser Microbiología. 20va ed.. Ed. Médica Veterinaria. Buenos Aires.. p 861-871
16. Jost BH, Billington SJ, Trinh HT, Buesschel DM, Songer JG. 2005. Atypical cpb2 genes, encoding beta2-toxin in *Clostridium perfringens* isolates of nonporcine origin. Infect. Immun. 73: 652-656
17. Keyburn AL, Boyce JD, Vaz P, Bannam TL, Ford ME, Parker D, Di Rubbo A, Rood J, Moore RJ. 2008. NetB, a new toxin that is associated with avian necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens*. Plos Pathogens. 4(2): e26
18. Keyburn AL, Bannam TL, Rood J, Moore RJ. 2010. NetB, a Pore-Forming Toxin from Necrotic Enteritis Strains of *Clostridium perfringens*. Toxins. 2: 1913 – 1927
19. Luna L. 2009. Genotipificación de cepas de *Escherichia coli* aislados de casos de diarrea en crías de alpacas. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 70p.

20. Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 2001. Biología de los microorganismos. 8va ed.. Prentice Hall. España. p 725-727
21. Moro M. 1971. Enfermedades infecciosas de las alpacas. Diarrea bacilar o enterotoxemia de las crías de las alpacas. Boletín de Divulgación del Instituto Veterinario de Invetigaciones Tropicales y de Altura (IVITA) UNMSM. Lima, Perú. p 9-14.
22. Moro M. 1987. Enfermedades infecciosas de las alpacas. Diarrea bacilar o enterotoxemia de las crías de las alpacas. Rev. Camélidos Sudamericanos, Lima 4: 8-13.
23. Morris WE, Fernandez Miyakawa ME. Toxinas de *Clostridium perfringens*. Rev. Argent. Microbiol. 41(4): 251 : 260
24. Niilo L. 1986. Enterotoxemic *Clostridium perfringens*. En: Pathogenesis of bacterial infections in animals. p 80-86. En: Gyles CI, Thoen CO.(ed) 1ra ed. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. Iowa
25. Oha R. 1994. Anatomía patológica de las diarreas infecciosas en crías de alpaca (*Lama pacos*) en la SAIS Aricoma Ltda.57. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Univ. Nacional del Altiplano, Puno. 79 p
26. Petit L, Gibert M, Popoff M. 1999. *Clostridium perfringens*: toxinotype and genotype. Trends Microbiol. 7: 104-110.
27. Prehn N, Saez S., Arraigada M. 1999. Estudios microbiológicos y clínicos de enterotoxemia por *Clostridium perfringens* en camélidos sudamericanos. Res. II Cong. Mun. Sobre Camélidos. Cusco, Perú. p 140.
28. Ramírez A, Huamán D, Ellis RP. 1985. Enterotoxemia de la alpaca. Programa colaborativo de apoyo a la investigación en rumiantes menores. Serie reporte técnico, Lima 63: 1-17.
29. Ramirez A. 1987. Alpaca *Clostridium perfringens* type A enterotoxemia: Purification and assays of the enterotoxin. In partial fulfillment of the requeriments for the degree of Doctor of Philosophy. Colorado State University, Colorado. 201 p
30. Ramírez A. 1988. Avances de la Investigación sobre enteritis e inmunidad neonatal en la alpaca. Curso taller — Resultados de investigación del programa de rumiantes menores (1980-1989). Programa colaborativo de apoyo a

- la investigación en rumiantes menores. Arequipa. p 153-163.
31. Ramírez A, Ellis R. 1988. Nuevos conceptos sobre la enterotoxemia y colibacilosis en alpacas. Rev. Camélidos Sudamericanos, Lima 6: 9-17
 32. Ramírez A. 1989a. Avances de la Investigación sobre enteritis e inmunidad neonatal en la alpaca. Curso taller — Resultados de investigación del programa de rumiantes menores (1980-1989). Programa colaborativo de apoyo a la investigación en rumiantes menores. Riobamba. p 183-191
 33. Ramírez A. 1989b. Enfermedades infecciosas en camélidos sudamericanos. XII Reunión Científica Anual APPA. Simposio de Producción de alpacas y llamas. FMV-UNMSM, Lima p 85-101
 34. Ramírez A, Franco E, Pezo D, García W. 1998. Diagnóstico y control de enfermedades en CSA. Pub. Tec. FMV 34: 9-14
 35. Rood J. 1998. Virulence genes of *Clostridium perfringens*. Annu. Rev. Microbiol 52: 333 – 360
 36. Rosadio R, Londoño P, Pérez D, Castillo H, Véliz A, Llanco L, Yaya K, Maturrano L. 2010. *Eimeria macusaniensis* associated lesions in neonate alpacas dying from enterotoxemia. Vet Parasitol. 168 (1-2): 116 – 120
 37. Smedley JG, Fisher DJ, Sayeed S, Chakrabarti G, McClane BA. 2004. The enteric toxins of *Clostridium perfringens*. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 152:183 – 204
 38. Songer JG, Meer RR. 1996. Genotyping of *Clostridium perfringens* by polymerase chain reaction is a useful adjunct to diagnosis of clostridial enteric disease in animals. Anaerobe 2: 197-203.
 39. Sparks SG, Carman RJ, Sarker MR, McClane BA. 2001. Genotyping of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* fecal isolates associated with antibiotic-associated diarrhea and food poisoning in North America. J Clin Microbiol 39: 883-888.
 40. Titball RW, Naylor CE, Basak AK. 1999. The *Clostridium perfringens* alpha-toxin. Anaerobe 5: 51-64
 41. Waters M, Savoie A, Garmory HS, Bueschel D, Popoff MR, Songer JG, Titball RW, McClane BA, Sarker MR. 2003. Genotyping and phenotyping of beta2-toxigenic *Clostridium perfringens* fecal isolates associated with

- gastrointestinal disease in piglets. *J. Clin. Microbiol.* 41: 3584-3591
42. Whitehead C, Anderson DE. 2005. Neonatal diarrhea in llamas and alpacas. *Small Ruminant Research* 61: 207-215
43. Yaya K, Rosadio R. 2005. Ensayo de tres programas de vacunación anticlostridial en alpacas. *Rev. Inv. Vet. Perú* 16: 49-55