

## **EVALUACIÓN DE SUBFERTILIDAD Y FERTILIDAD EN ALPACAS ADULTAS Y TUIS MEDIANTE ULTRASONOGRAFÍA, CITOLOGÍA ENDOMETRIAL Y AISLAMIENTO BACTERIANO**

### **Evaluation of fertility and subfertility in adult alpacas and tuis using ultrasonography, endometrial cytology and bacterial isolation**

Uri Perez Guerra<sup>1\*</sup>, Manuel Perez Durand<sup>2</sup>, Lourdes Limache Mamani<sup>2</sup>, Vilma Condori Villegas<sup>2</sup>,  
Rassiel Macedo Sucari<sup>3</sup>, Eloy Condori Chuchi<sup>3</sup>, Oscar Orós Butrón<sup>4</sup>, Saul Espinoza Molina<sup>5</sup>,  
María Ignacia Carretero<sup>6,7</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Anatomía Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú.

<sup>2</sup> Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú.

<sup>3</sup> Centro Investigación y Producción de Chuquibambilla, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú.

<sup>4</sup> Laboratorio de Microbiología Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú.

<sup>5</sup> Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción, Universidad Nacional del Centro del Perú, Huancayo – Perú.

<sup>6</sup> Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

<sup>7</sup> Consejo Nacional de Investigaciones

#### **ABSTRACT**

The objective of this study was to compare the uterine health between fertile, sub-fertile alpacas and tuis using transrectal ultrasonography, endometrial cytology and bacterial isolation. A total 10 tuis (young mature females without breeding with average age of 1.5 years) and 20 adult alpacas of the Suri breed were used. In turn, the adult females were divided into two groups of 10 animals each according to their reproductive history: fertile group (parturition every year) and sub-fertile group (1 to 2 years without pregnancy). In all females, the thickness of the cervix and uterine horns was determined by transrectal ultrasonography. On the other hand, endometrial cytology and bacterial isolation were performed from samples obtained by uterine flushing. A Kruskal-Wallis and a Chi-square tests were used to compare ultrasonography and cytology groups. A greater thickness of the cervix and both uterine horns ( $p < 0,05$ ) was observed in the fertile alpacas with respect to the sub-fertile and tuis. The percentage of PMN in tuis and sub-fertile alpacas was  $< 2\%$ , while in fertile alpacas the percentage of PMN were: 6 animals with  $< 2\%$  PMN, 2 animals with 2-5% PMN and two other alpacas with  $> 5\%$  PMN. The bacteria isolated were: *Bacillus lechiniformis* and *Escherichia coli* in the three groups studied, *Staphylococcus saprophyticus* and *Bacillus cereus* in tuis and fertile alpacas, *Staphylococcus aureus* in tuis and sub-fertile, *Bacillus spp.* and *Micrococcus spp.* in fertile and sub-fertile alpacas, *Bacillus lactic acid*, *Staphylococcus epidermidis* and *Citrobacter spp.* in fertile alpacas, *Enterococcus spp.*, *Bacillus subtilis* and *Klebsiella spp.* in sub-fertile and *Enterobacter spp.* in tuis. The low percentage of PMN in endometrial cytology in sub-fertile alpacas would indicate the absence of endometritis at the time of the study. However, the lower thickness of the cervix and uterine horns observed in sub-fertile alpacas suggest that it would be necessary to perform uterine biopsies in order to evaluate if there is any association between the thickness of the uterine wall and the presence of degenerative and/or inflammatory changes observed on histopathological examination.

**Keywords:** alpaca, bacteria, cervix, polymorphonuclear, ultrasonography, uterus.

#### **RESUMEN**

El objetivo de este estudio fue comparar la salud uterina entre alpacas fértiles, sub-fértiles y tuis mediante ultrasonografía transrectal, citología endometrial y aislamiento bacteriano. Se utilizaron 10 tuis (hembras jóvenes maduras sin empadre con edad promedio de 1,5 años) y 20 alpacas adultas de raza Suri. A su vez las hembras adultas se dividieron en dos grupos de 10 animales cada uno según su historial reproductivo: grupo fértil (parto todos los años) y grupo sub-fértil (1 a 2 años sin preñez). En todas las alpacas se determinó el espesor del cérvix y cuernos uterinos mediante ultrasonografía transrectal. Por otra parte, se realizó citología endometrial y aislamiento bacteriano a partir de muestras obtenidas por lavado uterino. Se utilizaron las pruebas de Kruskal-Wallis y Chi-cuadrado para comparar los grupos de ultrasonografía y citología. Se observó un mayor espesor del cérvix y de ambos cuernos uterinos ( $p < 0,05$ ) en las alpacas fértiles con respecto a las sub-fértiles y tuis. El porcentaje de PMN en tuis y alpacas sub-fértiles fue  $< 2\%$  y en alpacas fértiles se observaron 6 animales con  $< 2\%$  de PMN, 2 animales con 2-5% de PMN y otras dos alpacas con  $> 5\%$  de PMN. Las bacterias aisladas fueron: *Bacillus lechiniformis* y *Escherichia coli* en los tres grupos estudiados, *Staphylococcus saprophyticus* y *Bacillus cereus* en tuis y en alpacas fértiles, *Staphylococcus aureus* en tuis y subfértiles, *Bacillus spp.* y *Micrococcus spp.* en alpacas fértiles y sub-fértiles, *Bacilo ácido láctico*, *Staphylococcus epidermidis* y *Citrobacter spp.* en alpacas fértiles, *Enterococcus spp.*, *Bacillus subtilis* y

Científicas y Técnicas,  
Argentina.

\* Corresponding autor:  
Uri Perez Guerra. E-  
mail:  
uperez@unap.edu.pe

Recibido: 04/12/2020

Aceptado: 17/12/2020

Publicado: 31/12/2020

*Klebsiella* spp en sub-fértiles y *Enterobacter* spp. en tuis. El bajo porcentaje de PMN en la citología endometrial en las alpacas sub-fértiles indicaría ausencia de endometritis al momento del estudio. Sin embargo, el menor espesor del cérvix y cuernos uterinos observados en las alpacas sub-fértiles sugieren que sería necesario realizar biopsias uterinas con el objetivo de evaluar si existe alguna asociación entre el espesor de la pared del útero y la presencia de cambios degenerativos y/o inflamatorios observados al examen histopatológico.

**Palabras clave:** Alpaca, bacterias, cérvix, polimorfonucleares, ultrasonografía, útero.

## INTRODUCCION

Los camélidos sudamericanos (CSA) incluyen dos especies domésticas, la alpaca (*Vicugna pacos*) y la llama (*Lama glama*), y dos especies silvestres el guanaco (*Lama guanicoe*) y la vicuña (*Vicugna vicugna*). El Perú tiene más de 3.685.516 millones de alpacas constituyendo el 87% de la población mundial (INEL, 2012). Las especies domésticas proveen productos de alta calidad, como son la fibra y carne que a menudo constituyen el único medio de subsistencia de un vasto sector de la población alto-andina. A su vez, las especies silvestres ofrecen un importante potencial de aprovechamiento sustentable dentro de marcos legales establecidos (FAO, 2005). Sin embargo, bajo condiciones naturales, los CSA presentan una baja eficiencia reproductiva (Tibary et al., 2006; Đuričić et al., 2020). Uno de los problemas más importantes de los CSA es su baja fertilidad, siendo la tasa de natalidad de 45 a 60%, lo que indica que sólo alrededor el 50% de las hembras en edad reproductiva da 1 cría al año (Palomino H, 2012).

Se han reportado diversos factores que influyen en la baja eficiencia reproductiva como: restricciones nutricionales, desequilibrios hormonales, sistemas de apareamiento y día de apareamiento inadecuados, aberraciones cromosómicas, así como varios desordenes uterinos descritos en camélidos que juegan un rol importante en la reducción de la fertilidad (Condorena et al., 1988; Ahmadi et al., 2005; Picha et al., 2013). Esta situación se agrava debido a la mortalidad neonatal elevada, que fluctúa entre un 12 a 35% (Velasco y Losno 1997; Brown BW, 2000), pudiendo alcanzar en algunos casos hasta un 80% (Martín Espada et al., 2010).

Durante la vida reproductiva el tracto genital de las hembras está expuesto a infecciones, principalmente durante el servicio y posparto, diferentes microorganismos pueden ingresar a la cavidad uterina desde el ambiente y/o desde el tracto reproductivo posterior. En muchas ocasiones esta contaminación inicial puede ser eliminada a través de los mecanismos de defensa naturales que posee el útero. Sin embargo, en algunas hembras estos mecanismos pueden estar alterados y llevar a una infección (Tibary y Anouassi, 2001). Para establecer la causa de infertilidad es necesario conocer la historia reproductiva de las hembras y realizar un examen exhaustivo del tracto reproductivo que incluya la palpación y ultrasonografía transrectales, la vaginoscopia, la biopsia y citología endometrial y el cultivo uterino (Tibary et al., 2006). La ultrasonografía es una metodología de uso frecuente en los camélidos que permite evaluar la dinámica folicular y el estado uterino, realizar diagnóstico de preñez, estimar la edad gestacional y evaluar el desarrollo y viabilidad de los fetos. También es útil para el diagnóstico de condiciones patológicas que pueden comprometer la fertilidad (Tibary et al., 2006).

La citología endometrial constituye un método aceptable, sencillo y rápido, que se utiliza para el diagnóstico de endometritis en muchas hembras domésticas (bovino: Sanchez et al., 2011; Derrar et al., 2020; equino: Cocchia et al., 2012; Ferris et al., 2015; camélidos: Rodríguez et al., 2014a). En ella se contabilizan las células inflamatorias como los polimorfonucleares (PMN) y las células endometriales. Para el caso específico de los camélidos se ha reportado que la presencia de 3-5% de neutrófilos en la muestra uterina sería indicativo de endometritis (Tibary y Anouassi, 2001). La biopsia uterina es una herramienta muy confiable para evaluar procesos inflamatorios, degenerativos o neoplásicos del endometrio. Sin embargo, es más laboriosa y debido al menor tamaño corporal, en las alpacas, se utiliza una pinza especial, más pequeña y un vaginoscopio (Rodríguez et al., 2014a). El cultivo uterino se utiliza para identificar el agente causante y determinar la sensibilidad a los antibióticos permitiendo realizar un tratamiento más eficaz de la infección uterina. Dellepiane y Morales-Cauti (2018) realizaron un estudio que permitió identificar especies bacterianas en úteros de alpacas pre y pos-cópula. Rodríguez et al. (2014b) reportaron que dentro de las 24 a 48 horas del empadre o parto el 55% y el 98% de las alpacas, respectivamente, tienen un cultivo y citología uterina positivos. Estos porcentajes fueron casi nulos a los 12 días de la cópula y/o parto, sugiriendo que los camélidos poseen un mecanismo de defensa uterina mucho más efectivo que otras especies (Rodríguez et al., 2014b).

Tanto la ultrasonografía como la citología endometrial fueron empleadas en alpacas de  $29,0 \pm 5,0$  días de pos-parto con el objetivo de evaluar la salud uterina y relacionarla con las tasas de preñez (Deza et al., 2019). Hasta nuestro conocimiento, no se han empleado la ultrasonografía, la citología endometrial ni el cultivo uterino para comparar la salud uterina de alpacas fértiles, sub-fértiles y tuis. El alto número de hembras que no quedan preñadas en las campañas de empadre por causas aún no evaluadas produce un desmedro en el número de crías y la tasa de natalidad. En vistas de esta situación, el objetivo de este estudio fue: comparar la salud uterina entre alpacas fértiles, sub-fértiles y tuis mediante ultrasonografía transrectal, citología endometrial y aislamiento bacteriano.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales y lugar de estudio

El estudio se realizó en el Centro de Investigación y Producción Chuqibambilla de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – Puno-Perú, ubicada a una altitud de 3970 msnm. Se utilizaron un total de 30 alpacas no preñadas de las cuales 10 fueron tuis (hembras jóvenes maduras sin empadre y edad promedio de 1,5 años) y 20 alpacas adultas de raza Suri con una edad promedio de 4,5 años y condición corporal promedio

de 3 (Australian Alpaca Association, 2008). Las alpacas adultas fueron divididas según su historial reproductivo en dos grupos: fértiles ( $n=10$ , parto todos los años) y sub-fértiles ( $n=10$  animales, con 1 a 2 años sin preñez). Los animales se alimentaron en base a pastos cultivados (asociaciones de gramíneas y leguminosas) y agua ad libitum y los corrales tenían cobertizo.

#### Evaluación ultrasonográfica

Previo al lavaje uterino se realizó la evaluación ultrasonográfica utilizando un ecógrafo SonoVet- 600V® (modelo SonoVet 600 [SV-600], Medison, Co. LTD, Korea) con transductor lineal endorectal de 6.0 MHz. Brevemente, la sonda previamente lubricada se introdujo en el recto y se situó sobre el cérvix y cuernos uterinos. Durante cada examen la mucosa cervical y el endometrio de los cuernos fueron observados cuidadosamente, en al menos dos planos diferentes realizando un barrido de un extremo a otro según lo recomendado por Quintela et al. (2006). Finalmente, una imagen fue seleccionada en la pantalla del monitor en un corte longitudinal para realizar las mediciones del espesor de la mucosa cervical y del endometrio de los cuernos uterinos, utilizando el calibre electrónico del ecógrafo. Además, se evaluó la ecotextura de los cuernos.

#### Lavaje uterino y evaluación citológica

Se introdujo una sonda Folley N° 16 desde la vagina hacia el útero con la ayuda de un vástago de acero inoxidable (40 cm de largo/1,5 mm de espesor) que da rigidez a la sonda permitiendo enhebrar el cérvix. Luego con una jeringa de 20 ml se introdujo aire (7 a 10 cc) en el balón de la sonda, con la finalidad de fijar la misma dentro del cuerpo del útero. Posteriormente se realizó la infusión de 15 a 20 ml de solución fisiológica (Cloruro de Sodio al 0,9%) con una jeringa que se conectó a la sonda Folley, se masajó el útero a través de palpación transrectal vaciando el contenido uterino dentro un tubo Falcon™ estéril de 15 ml. Cada tubo se rotuló y se trasladó al laboratorio en un tiempo no mayor a 6 hs a temperatura ambiente de acuerdo con lo sugerido por Sánchez et al. (2011). La muestra del lavado uterino fue centrifugada a 3500 rpm, se descartó el sobrenadante y se tomaron 50  $\mu$ l del sedimento para realizar los extendidos. Finalmente, los portaobjetos fueron teñidos con tinción Wright y observados en un microscopio óptico a 400X (Muñoz M, 1995). Se contabilizaron un mínimo de 100 células entre PMN y células endometriales determinando la proporción de PMN respecto de la cuenta total. De acuerdo con los resultados de la evaluación microscópica las hembras se dividieron en 3 grupos según lo establecido por Riddle et al. (2007): 1) < 2% de PMN (citología normal), 2) 2-5% de PMN (inflamación moderada) y 3) > 5% de PMN (inflamación severa).

#### Aislamiento e identificación bacteriana

Para el aislamiento e identificación de las especies bacterianas se procedió de acuerdo con las especificaciones de Forbes et al. (2009) y Procop et al. (2017). Luego de la centrifugación de las muestras, se sembraron 100  $\mu$ l del sedimento en cada placa, en medios de cultivo primarios selectivos y diferenciales para cada grupo bacteriano (agar manitol salado para cocos Gram positivos, McConkey para bacilos Gram negativos, MRS para bacilos ácido lácticos y agar sangre para bacilos Gram positivos). Luego se colocaron en estufa a 37 °C por 24 hs en

un ambiente de aerobiosis y microaerofilia. Para el aislamiento se procedió a seleccionar las unidades formadoras de colonia a través de observaciones macroscópicas, considerando las características o particularidades de cada grupo bacteriano, para luego repicarlas en medios de cultivo nuevos y obtenerlas al estado de pureza (cepa). Posteriormente se procedió a realizar la coloración de Gram, como parte de la identificación microscópica y para la identificación de las cepas aisladas, se utilizaron los métodos bioquímicos convencionales para cada grupo de bacterias aisladas: cocos Gram positivos y bacilos Gram positivos y negativos.

#### Análisis Estadístico

Todos los análisis fueron procesados con el programa estadístico R 4.3.0 (R Core, 2018). El nivel de significancia se estableció en 0,05 para todos los análisis. Debido a la falta de normalidad y homogeneidad de varianzas los datos obtenidos en la ultrasonografía de cérvix y cuernos uterinos se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis. El porcentaje de PMN entre los diferentes grupos de estudio (fértiles, sub-fértiles y tuis) se comparó mediante la prueba de Chi cuadrado. Finalmente, por tratarse de datos descriptivos, para el aislamiento bacteriano sólo se determinó su frecuencia porcentual.

## RESULTADOS

#### Evaluación ultrasonográfica

El espesor de la pared cervical y de ambos cuernos uterinos fue significativamente mayor en las alpacas fértiles respecto a las subfértiles y tuis. No se observaron diferencias en dichas medidas entre las alpacas subfértiles y tuis (Tabla 1). La ecotextura observada en las alpacas subfértiles fue ligeramente más ecogénica en comparación a los otros dos grupos de estudio, siendo hipocogénica y heterogénea en las alpacas fértiles.

**Tabla 1.** Espesor de la pared del cérvix y cuernos uterinos en tuis y alpacas fértiles y sub-fértiles.

Categoría	n	Cérvix (mm)	Cuerno uterino derecho (mm)	Cuerno uterino izquierdo (mm)
Tuis	10	4,2 ± 1,1 <sup>a</sup>	4,2 ± 1,1 <sup>a</sup>	4,6 ± 1,2 <sup>a</sup>
Alpacas Fértiles	10	5,6 ± 0,8 <sup>b</sup>	5,5 ± 0,8 <sup>b</sup>	6,8 ± 0,6 <sup>b</sup>
Alpacas Sub-fértiles	10	4,3 ± 0,9 <sup>a</sup>	4,5 ± 1,3 <sup>a</sup>	4,8 ± 1,4 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup> Letras diferentes entre las filas indican diferencias significativas entre los grupos de alpacas para cada una de las regiones evaluadas ( $p < 0,05$ ).

#### Citología endometrial

Todas las alpacas del grupo sub-fértil y del grupo tuis presentaron una citología uterina aparentemente normal (< 2% de PMN). En el grupo de alpacas fértiles se observaron 6 animales con citología normal, 2 animales con inflamación aparentemente moderada (2-5% de PMN) y 2 alpacas con inflamación severa (> 5% de PMN). No se observaron

diferencias significativas al comparar los diferentes porcentajes de PMN entre los grupos de alpacas estudiados (Tabla 2).

**Tabla 2.** Porcentaje de PMN en los diferentes grupos estudiados (tuis, alpacas fértiles y alpacas sub-fértiles).

Categoría	% de PMN		
	< 2%	2% - 5%	> 5%*
Tuis	10/10	0/10	0/10
Alpacas Fértiles	6/10	2/10	2/10
Alpacas Sub-fértiles	10/10	0/10	0/10

\* p=0,06

### Identificación bacteriana

Los porcentajes de las diferentes especies bacterianas aisladas posterior al lavaje uterino en los diferentes grupos de animales se observa en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Porcentajes de especies bacterianas aisladas en tuis, alpacas fértiles y sub-fértiles a partir de lavajes uterinos.

Especies bacterianas	Tuis (%)	Alpacas Fértiles (%)	Alpacas Sub-fértiles (%)
<i>Bacillus lechiformis</i>	30	23,5	23,5
<i>Enterobacter spp.</i>	20	0	0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	20	5,9	0
<i>Bacillus cereus</i>	10	17,7	0
<i>Escherichia coli</i>	10	5,9	11,8
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	0	17,7
<i>Bacillus spp.</i>	0	5,9	11,8
Bacilo ácido láctico	0	17,7	0
<i>Citrobacter spp.</i>	0	11,8	0
<i>Micrococcus spp.</i>	0	5,9	11,8
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	5,9	0
<i>Enterococcus spp.</i>	0	0	11,8
<i>Bacillus subtilis</i>	0	0	5,9
<i>Klebsiella spp.</i>	0	0	5,9

### DISCUSIÓN

En el presente estudio se pudo determinar que las alpacas sub-fértiles y tuis presentaron menor espesor de la pared cervical y de los cuernos uterinos comparado con las hembras fértiles. En camélidos, se ha reportado la presencia de endometritis degenerativas crónicas que se caracterizan por la presencia de cambios irreversibles como atrofia y fibrosis de las glándulas endometriales, reducción del diámetro de glándulas endometriales y actividad secretora (Tibary et al., 2006; Rodríguez et al., 2014a). A partir de las diferencias encontradas a la ultrasonografía entre los grupos estudiados, sería interesante realizar biopsias uterinas con el objetivo de evaluar si existe alguna asociación entre el espesor de la pared del útero y la presencia de cambios degenerativos y/o inflamatorios en el mismo. Por otra parte, el menor espesor del cérvix y cuernos uterinos en el grupo de tuis se debería al menor grado de madurez sexual. Además del mayor espesor de la pared del cérvix y de los cuernos uterinos, las alpacas fértiles mostraron el útero relativamente hipoeogénico. Estas características podrían asociarse a un estado de funcionalidad

reproductiva caracterizado por producción de estrógenos que generan edematización de los cuernos uterinos, aumentando el espesor de las paredes del tracto reproductivo y otorgando una apariencia ultrasonográfica pobremente definida e hipoeogénica (Sumar J, 1996; Vaughan J, 2011; Rodríguez et al., 2014a). Deza et al. (2019) observaron un diámetro de  $16,0 \pm 0,5$  y de  $17,9 \pm 0,7$  mm para el cuerno uterino derecho e izquierdo, respectivamente en la ultrasonografía de alpacas con 29 días de posparto. Las diferencias entre esta medida y la de nuestro estudio se debe a que Deza et al. midieron el diámetro de los cuernos, mientras que en nuestro estudio se midió el espesor del endometrio. Por otra parte, en todos los grupos observamos que la pared del cuerno uterino izquierdo era mayor a la del cuerno uterino derecho. Estos resultados coinciden con los de Deza et al. (2019) en alpacas adultas y con los análisis morfométricos realizados por Mendoza et al. (2013) en úteros de fetos y alpacas adultas.

De acuerdo con Tibary y Anouassi (2001), en camélidos la presencia de 3 a 5% de PMN en la citología uterina es indicativo de endometritis. Recientemente, Refaat et al. (2020) establecieron la existencia de endometritis subclínica en dromedarios cuando el porcentaje de PMN era mayor al 5%. Teniendo en cuenta ambos estudios tanto el grupo de tuis como el de alpacas subfértiles presentaron una citología aparentemente normal. El menor porcentaje de PMN en los tuis podría deberse a la menor madurez sexual que se asocia a una menor producción de estrógenos llevando a una menor vascularización y diapédesis de PMN. Tibary et al. (2006) sugieren que uno de los factores que más contribuye al desarrollo de infecciones uterinas en camélidos se debe a un número de copulas excesivo. A esta situación se suma que en estas especies durante la cópula el pene penetra el canal cervical e ingresa profundamente hasta los cuernos uterinos (Vaughan y Tibary, 2006). Por lo tanto, al estar exento de empadre el grupo tuis presentaría menores posibilidades de infección e inflamación uterina que el resto de los grupos de alpacas evaluados. Con respecto al grupo de alpacas sub-fértiles, en yeguas LeBlanc et al. (1989) reportaron que a pesar de que la persistencia bacteriana conduce a la activación de neutrófilos y fagocitosis, los PMN muestran una capacidad reducida de migración debido al incremento de radicales libres y lisozimas que además acortan la vida útil de los mismos. Una situación similar podría darse en las alpacas sub-fértiles y por lo tanto observar un bajo porcentaje de PMN en los frotis de citología endometrial. Mientras que, los mayores porcentajes de PMN observados en las citologías de algunas de las alpacas fértiles podrían deberse a que los camélidos tienen un sistema de defensa uterina más efectivo que otras especies. Esto se debe a que poseen una pared uterina ricamente vascularizada, a una influencia predominantemente estrogénica en las hembras y a la gran contractilidad del útero durante la fase folicular (Rodríguez et al., 2014b). Asimismo, estudios preliminares sobre el drenaje linfático del aparato reproductor de camélidos muestran que está sustancialmente más desarrollado en comparación con el de otras especies domésticas (Rodríguez et al., 2014b).

Es interesante remarcar que Deza et al. (2019) no observaron diferencias en los porcentajes de preñez entre alpacas con altos (> 3) y bajos (< 3) porcentajes de PMN. Por otra parte, la mayoría de las citologías endometriales evaluadas en el presente estudio presentaron porcentajes de PMN menores a los reportados por Deza et al. (2009) en alpacas vacías

mediante la técnica de citocepillo (promedio: 13,4% de PMN). Las diferencias observadas podrían deberse a las metodologías empleadas para obtener las muestras. En este sentido, estos autores reportan valores similares a los obtenidos en nuestro estudio al obtener las muestras por lavaje uterino (promedio: 4,0% de PMN), adjudicando tales diferencias a que el citocepillo toma muestras directamente de la pared del cuerno uterino a través de un raspado suave, mientras que el lavaje uterino recupera las células que se desprenden de la pared uterina tras la infusión de la solución de lavado en el útero (Deza et al., 2019). No obstante, es importante remarcar que el uso del lavaje uterino para realizar las citologías uterinas tiene por ventaja la recuperación de células de una superficie mayor de la luz del útero, por lo que podría ser una muestra más representativa (Kasimanickam et al., 2005; LeBlanc et al., 2007).

La interpretación de los resultados del cultivo uterino resulta complejo y difícil debido al amplio número de bacterias que pueden aislarse. Evidencia de ello, son los resultados de Dellepiane y Morales-Cauti (2018) quienes aislaron 165 especies bacterianas en alpacas previo a la cópula. En el presente estudio, se aislaron bacterias como *Bacillus cereus*, *Bacillus lechiformis* y otros bacilos ácido láctico, especies consideradas como benéficas ya que proporcionan un pH ácido y producen sustancias antimicrobianas que mantienen bajo control a otras especies patógenas. Estas especies no han sido asociadas a la presencia de endometritis en dromedarios y llamas (Tibary et al., 2006, review) y en nuestro estudio se observaron con mayor frecuencia en los tuis y alpacas fértiles. Así mismo, en el bovino el *Bacillus lechiformis* raramente es asociado con endometritis (Sheldon et al., 2002).

Las especies bacterianas más comúnmente aisladas de úteros de dromedario y llama con endometritis han sido *Escherichia coli*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus β-hemolítico*, *Enterococcus*, *Staphylococcus coagulasa negativo*, *Proteus spp.*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* y *Arcanobacter pyogenes* (Tibary et al., 2006; Review). En el presente estudio, las bacterias *E. coli*, *Bacillus spp.* y *Enterococcus spp.* se aislaron en mayor porcentaje en las alpacas sub-fértiles respecto a las fértiles. Además, *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *Micrococcus spp.* y *Klebsiella spp.* fueron aisladas en las sub-fértiles, no observándose en las fértiles. En camellos, *E. coli* y *S. aureus* han sido identificadas como causantes de endometritis, mucómetra, endometritis catarral y supurativa y endometritis crónica, mientras que *Klebsiella spp.* se ha asociado a metritis (Al-Afaleq et al., 2012; Mshelia et al., 2013; Nabih y Osman, 2012). Otros autores reconocen en dromedarios al *Bacillus spp.*, *Staphylococcus spp.* y a la *Candida albicans* como microorganismos comúnmente aislados en casos de endometritis subclínicas (Refaat et al., 2020). Este tipo de inflamación subclínica se caracteriza por la ausencia de signos clínicos a nivel uterino y la presencia de un infiltrado de PMN a nivel del endometrio que resulta en una marcada disminución de la performance reproductiva en diferentes especies (equino: Overbeck et al., 2011; bovino: Derrar et al., 2020; dromedario: Refaat et al., 2020). El aislamiento de bacterias causantes de endometritis en el grupo sub-fértil indicarían que sería necesario ampliar el número de hembras a evaluar para determinar si es posible identificar algún tipo de asociación entre los resultados del cultivo y citología uterinas y/o identificar hembras con endometritis subclínica como se ha observado en otras especies.

## CONCLUSIÓN

El bajo porcentaje de PMN en la citología endometrial de las alpacas sub-fértiles indicarían ausencia de endometritis al momento del estudio. Sin embargo, el menor espesor del cérvix y cuernos uterinos observados a la ultrasonografía de las hembras sub-fértiles sugieren que sería necesario realizar biopsias uterinas con el objetivo de evaluar si existe alguna asociación entre el espesor de la pared del útero y la presencia de cambios degenerativos y/o inflamatorios observados al examen histopatológico. Por otra parte, el aislamiento de bacterias causantes de infecciones uterinas en el grupo sub-fértil indicarían que sería necesario evaluar un número mayor de hembras con el objetivo de identificar algún tipo de asociación entre el recuento de PMN y los resultados del cultivo.

## CÓDIGO DE ÉTICA

Los autores declaran que el estudio presentado se ha llevado a cabo de acuerdo con el Código de Ética para los experimentos con animales, tal y como se refleja en la normativa descrita en la página web: [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/legislation\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm).

## CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores firmantes del presente trabajo de investigación declaran no tener ningún potencial conflicto de interés personal o económico con otras personas u organizaciones que puedan influir indebidamente con el presente manuscrito.

## CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

Preparación y ejecución: MP, UP, OO, EC. Desarrollo de la metodología: UP, VC, LL, SE. Concepción y diseño: UP, MIC, RM, EC. Edición del artículo: MP, SE, MIC, OO. Supervisión del estudio: MIC, MP, UP.

## REFERENCIAS

- Ahmadi MR, Nazifi S, Ghaisari HR, Radmehr M. Evaluation of reproductive cycle with cervical and uterine cytology in Iranian dromedary camels. *Comparative Clinical Pathology* 2005; 14(1):48-51. <https://doi.org/10.1007/s00580-005-0552-8>.
- Al-Afaleq Al, Hegazy AA, Hussein MF, Al-Dughaym AM. Pathological disorders of the female reproductive system in slaughtered camels (*Camelus dromedarius*) in Saudi Arabia. *Comparative Clinical Pathology* 2012; 21(3): 245–251. <https://doi.org/10.1007/s00580-010-1086-2>
- Australian Alpaca Association. Body Condition Score (BCS) of alpacas. Prepared by AAA Inc. Education & Training Sub-committee; 2008.
- Brown BW. A review on reproduction in South American camelids. *Anim. Reprod. Sci.* 2000; 58(3-4):169-195. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(99\)00081-0](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(99)00081-0)
- Cocchia N, Paciello O, Auletta L, Uccello V, Silvestro L, Mallardo K, Paraggio G, Pasolini MP. Comparison of the cytobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush

- techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology* 2012; 77(1): 89-98. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.07.020>
- Condorena N, Sumar J, Franco EAV. Largo de gestación en llamas. *Anales Del XI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias*; 1988. p 62.
  - Dellepiane GH, Morales-Cauti S. Identificación de bacterias patógenas oportunistas en útero de alpaca pre y poscópula. *Rev. Inv. Vet. Perú* 2018; 29(2):602-610. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i2.14478>
  - Derrar S, Mohamed AA, Meliani S, Hemida H, Saim Mohamed S, Imen S. Comparison between cytology and histopathology to evaluate endometritis in dairy cows. *International Journal of Ecosystems and Ecology Science (IJEES)* 2020; 10(2):265-270. <https://doi.org/10.31407/ijees10.2>
  - Deza HW, Mamani GE, MacEdo R, Alencastre RG, Gomez C A. Evaluation of uterine health by endometrial cytology and ultrasonography in the postpartum and its relationship with conception in alpacas. *Rev. Inv. Vet. Peru* 2019; 30(4):1619-1628. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i4.15549>
  - Đuričić D, Kilvain I, Samardžija M. Fiziologija rasplodivanja kamelida -Biotehnologija rasplodnje, gravidnost i porođaj II. dio. *Veterinarska Stanica* 2020; 51 (5) <https://doi.org/10.46419/vs.51.5.1> xx
  - FAO. Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú. 2005; 1-429. [https://doi.org/10.5209/rev\\_RCCV.2013.v7.n1.41413](https://doi.org/10.5209/rev_RCCV.2013.v7.n1.41413)
  - Ferris RA, Bohn A, McCue PM. Equine endometrial cytology: Collection techniques and interpretation. *Review. Equine vet. Ed.* 2015; 27 (6). <https://doi.org/10.1111/eve.12280>.
  - Forbes B, Sahm D, Weissfeld A. Bailey & Scott. Diagnóstico microbiológico. 2009; Editorial Medica Panamericana. 12ava edición.
  - Instituto Nacional de estadística e informática (INEI). 2012. Censo nacional agropecuario Lima (Perú).
  - Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Canadian Veterinary Journal* 2005; 46(3):255-259.
  - LeBlanc M, Asbury A, Lyle S. Uterine clearance mechanisms during the early postovulatory period in mares. *Am Y Vet Res*, 1989; 50(1):864-867.
  - LeBlanc MM, Magsig J, Stromberg AJ. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology* 2007; 68:403-412. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.038>
  - Martín Espada C, Pinto Jiménez CE; Cid Vázquez MD (2010). Camélidos Sudamericanos: estado sanitario de sus crías. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 4(1):37-50.
  - Mendoza G, Echevarría L, Llerena C, Castro A, Domínguez M, Gómez S, Ghezzi M, Barbeito C. Comparación morfológica entre el útero fetal y el útero adulto de la alpaca (*Vicugna pacos*) y la llama (*Lama glama*). *Salud y Tecnología Veterinaria*, 2013; 1(1):1-6. <https://doi.org/10.20453/stv.v1i1.103>
  - Mshelia G, Abba Y, Voltaire Y, Akpojie G, Mohammed H, Aondona U. Comparative uterine bacteriology and pathology of camels (*Camelus dromedarius*) and cows in north-eastern Nigeria. *Comp Clin Pathol*, 2013; 22:1195-1200. <https://doi.org/10.1007/s00580-012-1549-8>.
  - Muñoz M. Guías De Práctica De Hematología Y Trombosis 1995; Lima: Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Facultad De Medicina. Escuela Académico Profesional De Tecnología Médica.
  - Nabih AM, Osman RH. Bacteriological studies of endometritis as a main cause reproductive and fertility problems in she-camel. *Assiut Vet. Med. J.* 2012; 58(134), 396-402.
  - Palomino H. Diagnóstico laparoscópico y tratamiento de la infertilidad en alpacas. *Facultad de Medicina Veterinaria. Cultura, Ciencia y Tecnología. ASDOPEN-UNMSM* 2012; 2:14-21.
  - Overbeck W, Witte TS, Heuwieser W. Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. *Theriogenology* 2011; 75:1311-1318. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.12.002>
  - Picha Y, Tibary A, Memon M, Kasimanickam R, Sumar J. Chronology of early embryonic development and embryo uterine migration in alpacas. *Theriogenology* 2013; 79:702-708. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.11.027>
  - Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, schreckenberger PC, Woods GL (2017). *Koneman. Diagnóstico Microbiológico: Texto y Atlas. Editorial: Wolters Kluwer España. 7ma Edición*
  - Quintela LA, Díaz C, García PJ, Peña A, Becerra J. *Ecografía y reproducción en la vaca. 2006. Primera Edición. Editorial Universidad Santiago de compostela, servizo de publicacions e intercambio científico, ed. España.*
  - R Core T. (2018). R: a language and environment for statistical computing R. R Foundation for Statistical Computing. <http://r-project.org/>
  - Refaat D, Ali A, Saeed EM, Al-Sobayil F, Al-Samri A, Elbehiry A. Diagnostic evaluation of subclinical endometritis in dromedary camels. *Anim. Reprod. Scie.* 2020; 215:106327. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106327>
  - Riddle WM, LeBlanc MM, Stromberg A. Relationship between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. *Theriogenology* 2007; 68:395-402. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.05.050>
  - Rodríguez JS, Pearson LK, Tibary A. Clinical examination of the female reproductive function 2014a. In *Llama and alpaca care: Medicine, surgery, reproduction, nutrition and herd health. First Edition. Editorial Elsevier Inc.*
  - Rodríguez JS, Pearson LK, Tibary A. Infertility and Subfertility in the Female Camelid 2014b. In *Llama and Alpaca Care: Medicine, Surgery, Reproduction, Nutrition, and Herd Health: First Edition. Editorial Elsevier Inc.*

- Sánchez ML, Gonzales CC, Castañeda RS, Pulido AV, Guaqueta HM, Aranda MS, Rueda MV. Evaluación citológica y microbiológica de lavados uterinos en bovinos con problemas reproductivos. *Rev.MVZ Córdoba* 2011; 16(3):2711-2720.
- Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft AN, Dobson H. Effect of postpartum manual examination of the vagina on uterine bacterial contamination in cows. *The Veterinary Record* 2002; 2:531-534.
- Sumar JB. Reproduction in llamas and alpacas. *Anim. Reprod. Scie.* 1996; 42, 405-415. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(96\)01538-2](https://doi.org/10.1016/0378-4320(96)01538-2)
- Tibary A, Anouassi A. Uterine infections in Camelidae. *Veterinary Sciences Tomorrow* 2001; 3:1-12.
- Tibary A, Fite C, Anouassi A, Sghiri A. (2006). Infectious causes of reproductive loss in camelids. *Theriogenology*, 66: 633-647. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.04.008>
- Vaughan J. Ovarian function in South American camelids (alpacas, llamas, vicunas, guanacos). *Anim. Reprod. Scie.* 2011; 124(3-4):237-243. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.031>
- Vaughan JL, Tibary A. Reproduction in female South American camelids: a review and clinical observations. *Small Rum. Res.* 2006; 61:259-281. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.07.015>
- Velasco N, Losno N. Limite máximo del promedio de partos por alpacas en la Raya-Puno. I Reunión Científica Anual de La Asociación Peruana de Producción Animal 1997.