

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

Diagnóstico de *Clostridium spp.* por necropsia en terneros en la hacienda Cariacu, Cayambe.

Reporte de caso

Cassandra Nicole Arroyo Chavez
Medicina Veterinaria

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Médico Veterinario

Quito, 05 de mayo de 2020

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA

**Diagnóstico de *Clostridium spp.* por necropsia en terneros en la
hacienda Cariacu, Cayambe.**

Reporte de caso

Cassandra Nicole Arroyo Chavez

Nombre del profesor: **Rommel Lenin Vinueza, DMVZ., M.Sc** _____

Calificación: _____/10

Quito, 05 de mayo de 2020

DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Nombres y apellidos: Cassandra Nicole Arroyo Chavez

Código: 00122015

Cédula de identidad: 1751509405

Lugar y fecha: Quito, 05 mayo de 2020

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

Infecciones por *Clostridium spp.* se encuentran dentro de las causas más comunes de enteritis hemorrágica clostridial en rumiantes neonatales. Los terneros afectados presentan diarrea, enteritis y abomasitis hemorrágica. Los aspectos de etiología más allá del organismo infeccioso son poco conocidos, pero probablemente incluyen infecciones por malas prácticas de manejo o problemas dietéticos, tal vez relacionados con la sobrealimentación o condiciones que afectan la motilidad intestinal disminuida. En el estudio actual, se estudió el papel de *Clostridium* en un brote de enteritis en terneros. Presentamos aquí un caso de enterotoxemia en terneros y hallazgos diagnósticos que sugieren que *Clostridium* puede desempeñar un papel importante en la enteritis de terneros neonatales. Cinco terneros de un mes que mostraban apatía y renuencia a comer murieron después de que el tratamiento con antibióticos ya no era efectivo. Todos los animales tenían muchas similitudes, incluyendo antecedentes de diarrea y muerte súbita. Se observaron cambios compatibles con enteritis, enterotoxemia y neumonía en todas las terneras. Presentaron hallazgos importantes en estos cinco animales y consistieron en edema pulmonar agudo, fibrina y exceso de líquido pericárdico, contenido de sangre en el intestino delgado y hemorragias petequiales multifocales en la mucosa del intestino delgado. Desafortunadamente, no se completaron otras pruebas de diagnóstico, por lo tanto, en futuros estudios se recomienda preparar pruebas de cultivo y pruebas de PCR para una confirmación más precisa de este patógeno.

Palabras clave: Terneros; *Clostridium spp.*; diarrea; enterotoxemia, enteritis hemorrágica

ABSTRACT

Infections by *Clostridium spp.* are perhaps the most common causes of clostridial hemorrhagic enteritis in neonatal ruminants. Affected calves exhibit diarrhea, depression and hemorrhagic abomasitis. Aspects of etiology beyond the infecting organism are little understood, but probably include infections due to poor animal handling, dietary issues, perhaps relating to overfeeding, or conditions which effect decreased gut motility. In the current study, the role of *Clostridium* in an outbreak of enteritis in calves was studied. We report here a case of enterotoxaemia in calves, and diagnostic findings that suggest that *Clostridium* may play a significant role in enteritis of neonatal calves. Five one-month old calves exhibiting apathy and reluctance to eat, died after antibiotic treatment was no longer effective. All animals had many similarities, including a history of diarrhea and sudden death. Gross changes compatible with enteritis, enterotoxaemia and pneumonia were seen in all calves. Gross findings were observed in these five animals and consisted of acute pulmonary edema, fibrine and excessive pericardial fluid, bloody contents in the small intestine, and multifocal petechial hemorrhages on the small intestinal mucosa. Unfortunately, there were no other diagnostic tests completed therefore, in future studies it is recommended to prepare culture tests and PCR tests for a more accurate confirmation of this pathogen.

Key words: Calves, *Clostridium spp.*; diarrhea; enterotoxaemia; hemorrhagic enteritis

TABLA DE CONTENIDO

Introducción.....	10
Metodología.....	12
Presentación del caso:	12
Análisis del caso:	12
Resultados	15
Discusión.....	20
Conclusiones	26
Referencias bibliográficas.....	27

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Signos clínicos reportados en terneros durante el periodo de la investigación con sospecha de <i>Clostridium spp</i>	16
Tabla 2. Descripción de los hallazgos macroscópicos reportados durante la necropsia en terneros.....	17

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Corazón de un ternero. Pericarditis con focos hemorrágicos en la región caudal del corazón.....	19
Figura 2. Pulmón de un ternero. Región dorsal del pulmón con edema en el lóbulo accesorio y medial.....	19
Figura 3. Hígado de un ternero. Hígado con un corte en el lóbulo cuadrado con un absceso de color blanco cremoso junto a la vesícula biliar.....	19
Figura 4. Rumen de un ternero. Se observa una coloración amarillenta en la porción caudal del rumen.....	19
Figura 5. Intestino delgado de un ternero. Vista serosa del intestino delgado de un ternero con enteritis hemorrágica. El intestino está distendido con gas y líquido hemorrágico.....	20
Figura 6. Corazón de un ternero. El saco pericárdico abierto con una gran cantidad de líquido pericárdico y la presencia de hebras de fibrina.....	20
Figura 7. Vesícula biliar de un ternero. Vesícula biliar aumentado en tamaño.....	20
Figura 8. Retículo de un ternero. Porción interior de la pared del retículo junto a una porción del abomaso con la pared mucosa hemorrágica.....	20
Figura 9. Pulmón de un ternero. Pulmón bovino difuso crepitante, edematoso.....	20
Figura 10. Abomaso de un ternero. Visto lateral del abomaso con focos hemorrágicos.....	20

INTRODUCCIÓN

El *Clostridium spp.* es un agente bacteriano gram positivo, anaeróbico que se puede presentar tanto en humanos como en animales. Existen varios tipos de clostridium, pero los más frecuentes que se presentan en los bovinos son *C. perfringens* que produce intoxicación alimenticia, *C. tetani* que produce tétanos, *C. botulinum* que causa botulismo y *C. sordelli* que causa una infección fatal (Acha, 2001).

Clostridium perfringens es un bacilo anaerobio, gram positivo, inmóvil, encapsulado por lo cual produce toxinas extracelulares. El medio de crecimiento para una prueba microbiológica es el cultivo agar sangre. Se conocen cinco tipos toxigénicos diferentes que producen cuatro toxinas principales, estos se presentan con las letras de A a la E (Manteca, 2004). La enfermedad que produce *C. perfringens* es la enterotoxemia. La cepa C tienen una alta mortalidad en terneros en donde causa enteritis necrótica en recién nacidos. Los signos clínicos que produce esta enfermedad son dolor abdominal, debilidad, depresión y diarrea sanguinolenta. A veces los terneros son asintomáticos y causa muerte súbita. Esta cepa es un habitante normal del tracto digestivo y cuando es activada, libera la toxina. Un factor de riesgo es el aumento en la ingesta de leche (García, 2013).

La cepa D conocido como la enfermedad de comer en exceso, también es común en terneros más de dos meses en edad que reciben una ración alta en granos. Esta cepa se encuentra en el tracto digestivo y la ingestión de exceso alimento puede desencadenar la enfermedad. Los signos clínicos que presentan son disminución del apetito, debilidad, diarrea e incoordinación (Glenn, 2004). Cuando se encuentra la cepa C y la cepa D de *C. perfringens* principalmente se asocia con otro patógeno que es *C. septicum* (Watson, 2009).

La enfermedad que produce *C. septicum* es el edema maligno. Se presenta en ganado con heridas abiertas como cortes, abrasiones o sitios de castración (Savic, 2012). Este agente

habita en el tracto intestinal, se excreta en las heces e infecta el tejido sano a través de la contaminación de heridas abiertas. La infección por edema maligno causa acumulación local de líquido (edema) e hinchazón cerca de la herida junto con fiebre alta y disminución del apetito. Existe el tratamiento con penicilina solo cuando se detecta rápido los signos clínicos. Además, la muerte del ternero ocurre entre 24-48 horas (Valgaeren, 2015).

Se ha realizado un reporte de caso de cinco terneros del cantón Cayambe en la provincia de Pichincha. El objetivo de este trabajo fue estimar la presencia de *Clostridium spp.* en terneros a una edad temprana mediante el análisis de hallazgos en el examen clínico y los hallazgos macroscópicos durante la necropsia. Además, se pretende identificar los posibles factores de riesgo asociados con dicha enfermedad. Como se mencionó previamente, la enterotoxemia por *Clostridium* puede afectar severamente a los terneros. En este caso es importante por el papel que desempeñan los animales en la producción lechera.

METODOLOGÍA

Presentación del caso:

El estudio fue de tipo intencionado y se realizó en la hacienda “Cariacu” en Cayambe, Ecuador a 2,984 msnm. Se seleccionó cinco terneros de raza Holstein con un rango de edad de cuatro a diez semanas. Todos los animales presentaron los mismos signos clínicos cuando se encontraron enfermas. El peso al nacer de los terneros oscilaba entre 40 a 45 kg. El alimento durante las primeras doce horas fue calostro (2.5 a 3L). Después del calostro fue la ingesta de leche en la mañana (0800h) y en la tarde (1600h) mientras pasaban en el pasto durante el día.

Análisis del caso:

Al inicio de la investigación, se observó a los terneros que presentaban una signología distinto a los demás terneros en donde se registró en un cuaderno para analizarlo posteriormente. Se creó una tabla para los hallazgos clínicos que exhibieron los terneros en las primeras semanas (5 de septiembre al 8 de diciembre del año 2019). Durante el periodo de la enfermedad se administró antibióticos a los cinco terneros que presentaron signos clínicos como diarrea, debilidad y disminución de apetito. Se colocó penicilina 5 ml/100 kg de peso vivo (2.5 ml) intramuscular cada 24 horas por 5 días. Se utilizó penicilina al ser un tratamiento de enfermedades infecciosas primarias y secundarias de los bovinos (clostridium) infecciones gastrointestinales, respiratorios, piel y tejidos blandos (Baquero, 2012). Además, se administró ceftiofur a 1 ml/25kg (2ml) intramuscular cada 24 horas por 5 días. Se utilizó ceftiofur para el control y tratamiento de infecciones de bovinos causadas por microorganismos como gram positivos y gram negativos (clostridium). Los terneros 1, 3, 4 y 5 no sobrevivieron, mientras el ternero número 2 sobrevivió.

Los terneros que murieron (15 de diciembre a 10 de febrero del año 2020), se realizó la necropsia de rutina en donde se utilizó un protocolo que efectuó el autor Aluja en *Técnicas de*

necropsia en animales domésticos para grandes especies en este caso bovinos. Para ello se utilizó los materiales adecuados para hacer la necropsia: kit de disección (costotomo, tijeras, pinzas, cuchillo), recipientes, cámara del celular, ropa para la necropsia (overol, botas, guantes), un cuaderno y lápiz para anotar los resultados.

El procedimiento de la necropsia consistió en cinco pasos:

1. El primer paso consistió en la inspección externa, donde se pudo realizar una revisión de marcas, tatuajes, color, pelaje, sexo y la condición general. Además, se examinó cualquier herida superficial, fractura ósea, exudado, signos de diarrea, cambios de color o lesiones en las mucosas. Para el oído externo se observó exudados y parásitos presentes y para el ojo se revisó la córnea y mucosa ocular (Aluja, 2002). Se anotó cualquier lesión existente en un cuaderno para analizarlo posteriormente.
2. El segundo paso consistió en cortar la piel a lo largo de la línea media desde la unión de las 2 ramas de la mandíbula hasta el ano. Este corte se realizó por medio de un solo trazo y firme. Todos los terneros fueron hembras por lo tanto se desprendió por medio de cortes alrededor de la ubre. Para la separación de la piel se realizó cortes perpendiculares solo en el lado superior derecha. Después, se examinó el tejido subcutáneo, los músculos y los nódulos linfáticos. Del lado superior (coxofemoral) se separó cortando los ligamentos que fijan la articulación por lo cual se examinó el líquido articular (Aluja, 2002). Se anotó cualquier lesión y anormalidad existente en un cuaderno para analizarlo posteriormente en los resultados.
3. En el tercer paso se abrió cada cavidad con bisturí, tijera y costotomo empezando con la cavidad bucal, faringe y laringe. Después se abrió la cavidad abdominal, la cavidad torácica y al último la cavidad pélvica. Se observó las posiciones de los órganos *in situ*

y se observó la presencia de líquido en cavidad abdominal, y se cuantificó cuanto había con una jeringa de 20 ml (Aluja, 2002).

4. En el cuarto paso se obtuvo las vísceras iniciando por las torácicas, las abdominales y después las de los órganos de aparato urinario y genital (Aluja, 2002). Se amarró la porción final del intestino con una piola y el cardias del otro lado. Después, se colocó las vísceras en una mesa para poder examinar los cambios o lesión presente, esto está presente en la tabla número 2.
5. En el último paso se inspeccionó los órganos y se describió las lesiones presentes para poder confirmar la enfermedad. Una tercera persona tomó fotografías con una cámara del celular para poder describir los cambios de lesión en los órganos presentes. Se describió la lesión según la ubicación, el órgano, el color, el tamaño de la lesión, la forma que lleva, la textura, el contenido que contiene y el olor que carga (Aluja, 2002). Se registró todo lo que se encontró en un cuaderno y después se analizó los datos para una futura discusión. Se creó una tabla para las lesiones macroscópicas encontradas durante la necropsia de los terneros en la semana (11 de febrero a 7 de marzo del año 2020).

RESULTADOS

Tabla 1. Signos clínicos reportados en terneros durante el periodo de la investigación con sospecha de *Clostridium spp.*

Signos clínicos	Ternero 1	Ternero 2	Ternero 3	Ternero 4	Ternero 5
Edad	6 semanas	8 semanas	4 semanas	10 semanas	6 semanas
Diarrea color amarilla pastoso-sanguinolenta	✓	✓	✓	✓	✓
Debilidad	X	✓	✓	✓	✓
Infección en la región umbilical	✓	✓	✓	✓	X
Disminución de apetito	X	✓	✓	✓	✓
Incoordinación	X	X	X	X	✓
Abdomen distendido	✓	X	✓	✓	✓
Administración de antibióticos	✓	✓*	✓	✓	✓

*Se aplicó un plan terapéutico de antibióticos con penicilina y ceftiofur por 7 días. El ternero sobrevivió y no tuvo ninguna complicación posterior.

En la tabla no. 1 se puede observar los resultados de la signología tomada de cinco terneros. El ternero número 1 hembra normal pesaba 121 lb (55 kg) y recibió el alimento de leche en la mañana (0800h) y en la tarde (1600h) mientras pasaba en el pasto durante el día. A las seis semanas, el ternero desarrolló diarrea de color amarillo pastoso, que pronto se volvió sanguinolenta. El abdomen se volvió distendido y doloroso, y a pesar de la terapia con líquidos intravenosos y la administración de antibióticos (penicilina y ceftiofur) y medicamentos antiinflamatorios no esteroideos, la cría murió 24 horas después del nacimiento. El ternero número 2 hembra normal pesaba 130 lb (59 kg) y recibía leche en la mañana (0800h) y en la tarde (1600h). A las ocho semanas, el ternero presentó signos de depresión y disminución de apetito. Desarrolló diarrea sanguinolenta. Se realizó la terapia con líquidos intravenosos y la administración de antibióticos (penicilina y ceftiofur) y medicamentos antiinflamatorios no esteroideos. Esta terapia se la realizó por 7 días. El ternero se recuperó y está pesando 80 kg.

El ternero numero 3 hembra normal pesaba 112 lb (51 kg) y se alimentaba con leche en la mañana (0800h) y en la tarde (1600h) mientras pasaba en el pasto durante el día. A las cuatro semanas, el ternero presentó signos de depresión, disminución de apetito. Desarrolló diarrea sanguinolenta y el abdomen se volvió a distender. La cría murió una semana después de haber administrado antibióticos (penicilina). El ternero numero 4 una ternera Holstein hembra normal pesaba 143 lb (65 kg) y se alimentaba con leche en la mañana (0800h) y en la tarde (1600h). A las nueve semanas, el ternero presentó signos de depresión y disminución de apetito. Desarrolló diarrea sanguinolenta y el abdomen se volvió a distender. Se administró antibióticos (penicilina y ceftiofur) pero 4 días después murió la cría. Por último, el ternero numero 5 hembra normal pesaba 121 lb (55 kg) y recibió leche en la mañana (0800h) y en la tarde (1600h) mientras pasaba en el pasto. A las seis semanas, el ternero presentó signos de depresión, incoordinación y disminución de apetito. Desarrolló diarrea de color amarillo pastoso y el abdomen se volvió a distender. La cría murió dos semanas después de haber administrado antibióticos (penicilina y ceftiofur).

Tabla 2. Descripción de los hallazgos macroscópicos reportados durante la necropsia en terneros

Lesiones macroscópicas	Ternero 1	Ternero 2	Ternero 3	Ternero 4	Ternero 5
Paredes del abomaso y omaso engrosadas y hemorrágicas	✓	-	✓	✓	✗
Pericarditis y hebras de fibrina presente	✓	-	✗	✓	✓
Edema subcutáneo hemorrágico.	✓	-	✓	✓	✓
Intestino delgado necrótico con secreción amarillento y sanguinolento.	✓	-	✓	✓	✓
Hepatomegalia con vesícula biliar	✗	-	✓	✓	✓

aumentado en tamaño					
Pulmón difuso crepitante, edematoso	✓	-	X	✓	✓

En la tabla no. 2 se puede observar las lesiones macroscópicas escritas durante el procedimiento de la necropsia de los cinco terneros. En la necropsia, el ternero número 1 a primera vista tenía un edema subcutáneo hemorrágico, tenía pericarditis (figura no.1), y tenía el pulmón con edema en los lóbulos accesorio y medial (figura no. 2). Además, tenía un abomaso distendido con focos hemorrágicos, y el contenido era líquido cremoso y líquido sanguinolento. Las paredes del abomaso y omaso estaban engrosadas y hemorrágicas. El duodeno de 10 cm distal al píloro era hemorrágico y enfisematoso, y el intestino contenía líquido teñido de sangre. No hubo necropsia para el ternero número 2 debido a que sobrevivió con el plan terapéutico realizado. El ternero número 3, a primera vista tenía un edema subcutáneo hemorrágico y tenía el hígado aumentado de tamaño con un absceso de color blanco cremoso junto a la vesícula biliar (figura no 3). Además, tenía un abomaso distendido con focos hemorrágicos, y el contenido era líquido cremoso y líquido sanguinolento. Las paredes del abomaso y omaso estaban engrosadas y hemorrágicas. Se presentó una coloración amarillenta en la porción caudal del rumen (figura no. 4). El duodeno de 10 cm distal al píloro era hemorrágico y enfisematoso, y el intestino contenía líquido teñido de sangre (figura no. 5). Además, el ternero número 4 presentó un edema subcutáneo hemorrágico, tenía pericarditis y al abrir el saco pericárdico hubo presencia de líquido pericárdico con hebras de fibrina (figura no. 6), tenía el pulmón con edema en el lóbulo craneal y tenía hepatomegalia con la vesícula biliar aumentado de tamaño (figura no. 7). Además, había un abomaso distendido con focos hemorrágicos, y el contenido era líquido sanguinolento con secreción amarillento. Las paredes del abomaso y omaso estaban engrosadas y hemorrágicas (figura no. 8). El duodeno de 20 cm

distal al píloro era hemorrágico y enfisematoso. Por último, el ternero número 5 presentó un edema subcutáneo hemorrágico y tenía el pulmón con edema en los lóbulos craneal y medial (figura no. 9). Presentó un hígado aumentado de tamaño con un absceso de color blanco cremoso junto a la vesícula biliar. Además, había un abomaso distendido con focos hemorrágicos (figura no. 10), y el contenido era líquido cremoso. Tenía una porción del intestino delgado (duodeno) necrótico con secreción amarillento.



Figura 1. Corazón de un ternero.

Pericarditis con focos hemorrágicos en la región caudal del corazón



Figura 3. Hígado de un ternero. Hígado con un corte en el lóbulo cuadrado con un absceso de color blanco cremoso junto a la vesícula biliar.



Figura 2. Pulmón de un ternero. Región dorsal del pulmón con edema en el lóbulo accesorio y medial

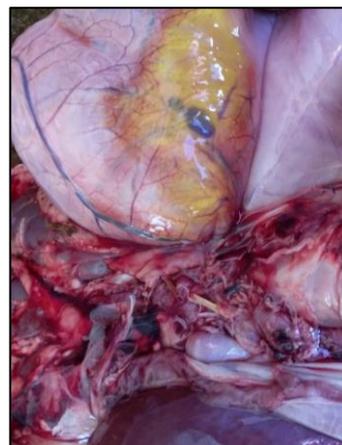


Figura 4. Rumen de un ternero. Se observa una coloración amarillenta en la porción caudal del rumen

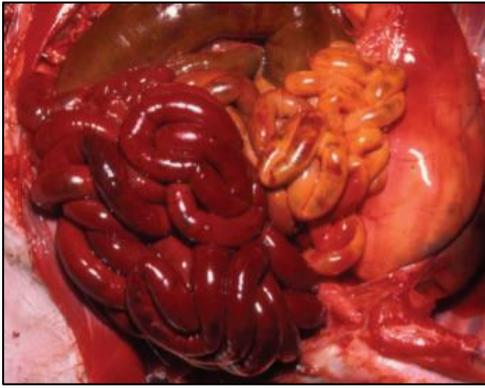


Figura 5. Intestino delgado de un ternero. Vista serosa del intestino delgado de un ternero con enteritis hemorrágica. El intestino está distendido con gas y líquido hemorrágico.



Figura 7. Vesícula biliar de un ternero. Vesícula biliar aumentado en tamaño.



Figura 9. Pulmón de un ternero. Pulmón bovino difuso crepitante, edematoso.

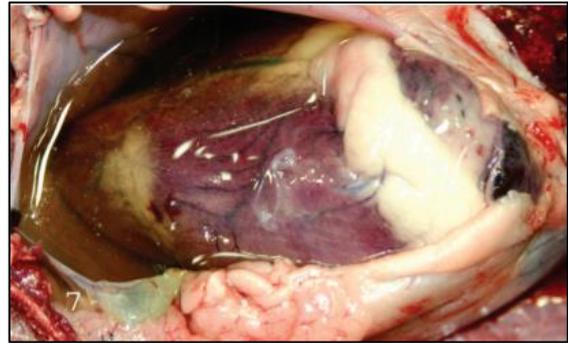


Figura 6. Corazón de un ternero. El saco pericárdico abierto con una gran cantidad de líquido pericárdico y la presencia de hebras de fibrina.



Figura 8. Retículo de un ternero. Porción interior de la pared del retículo junto a una porción del abomaso con la pared mucosa hemorrágica.



Figura 10. Abomaso de un ternero. Visto lateral del abomaso con focos hemorrágicos.

DISCUSIÓN

El presente estudio describe una enfermedad caracterizada por signos clínicos comunes que incluyen diarrea y muerte súbita en terneros en la hacienda “Cariacu” Cayambe, en donde los terneros se encontraban entre las edades de uno y dos meses. Las lesiones macroscópicas típicas en la necropsia probablemente confirman que *Clostridium spp.* está presente en el estudio. Los cambios predominantes observados se ubicaron en el intestino delgado, el corazón y los pulmones. La infección posiblemente se originó en el tracto intestinal, evolucionando a una infección sistémica u originado en la región abdominal donde el cordón umbilical contraía bacterias de fuentes externas. Los hallazgos clínicos son similares a los descritos por otros estudios en bovinos (Filho, 2009) (Songer, 2004) (Simpson, 2018) comparando los datos recopilados durante el período de investigación.

La signología descrita en la tabla 1 consistió principalmente en signos gastrointestinales con cortas alteraciones respiratorias y alteraciones neurológicas. Estos hallazgos clínicos son signos comunes para *Clostridium*, debido a esto es importante reconocer los suplementos dietéticos administrados a cada animal. Las toxinas son el agente más común que afecta al intestino (Hammit, 2007). Uno de los signos clínicos más frecuente que existe en este estudio que sugiere *C. septicum*, es la presencia de una infección que rodea el ombligo. Esto es importante porque el área más susceptible a la infección a una edad temprana es la región umbilical. Según Simpson, *et.al* 2018, menciona que la bacteria *C. perfringens* y *C. septicum* pueden ingresar a este sitio e iniciar contaminación. Estas bacterias se multiplican localmente y se disemina por todo el cuerpo, produciendo lesiones locales y signos de toxemia (Valgaeren, 2015). Además, es importante saber que la tasa de letalidad de la enterotoxemia por *Clostridium spp.* es alta, alrededor de 75 a 100 por ciento cuando no se instituye un tratamiento rápido. Ocasionalmente es demasiado tarde aplicar un tratamiento efectivo y se mueren los

animales. En el presente estudio, se aplicó antibióticos a todos los terneros, por lo cual, fue demasiado tarde y de los cinco murieron cuatro terneros.

Los signos clínicos concuerdan con un patrón de signos gastrointestinales, nerviosos y respiratorios de estudios previos. Según el estudio por Savic, *et.al* 2012, menciona que los signos clínicos notados por el veterinario fueron pérdida repentina de la alimentación, inquietud, falta de coordinación, contracciones ruminales débiles y cólico abdominal, al igual que los signos tomados en el presente estudio. De la misma manera, se confirma que los resultados de los signos clínicos recolectados son compatibles con la signología de *Clostridium perfringens* y *Clostridium septicum*. En otros estudios, indica que los signos clínicos presentes de *Clostridium spp.* fueron dolor abdominal, trastornos nerviosos, diarrea, disminución de la lactancia, letargo, timpanismo abdominal y cólico (Lebrun, 2010) (Simpson, 2018).

Por otro lado, descartamos las diferentes especies de *Clostridium* por la signología presente, es decir, *C. tetani* (tétanos) tiene signos clínicos que incluye convulsiones, parálisis espástica y fiebre. Por otra parte, *C. botulinum* (botulismo) presenta signos clínicos como inquietud, ataxia, incoordinación y la muerte ocurre en medio de parálisis respiratoria, esta enfermedad es causada principalmente por el consumo de material tóxico. También, *C. sordelli* se observa signos clínicos como letargo, con muerte a las 6 a 24 horas, fiebre elevada, falta de apetito y tumefacción en la cadera (Santos, *et.al* 2019). En consecuencia, se puede descartar las tres especies de *Clostridium* por el tipo de signología que presentan cada uno. Todas estas especies de *Clostridium* presentan un signo clínico en común, la fiebre, sin embargo, en el presente estudio se anotó que este signo no sucedió.

Con respecto a los resultados, la tabla 2 describe que las lesiones macroscópicas reportadas durante la necropsia de terneros son principalmente lesiones gastrointestinales, respiratorias y cardíacas. Estas son paredes del abomaso y omaso se encuentran engrosadas y hemorrágicas y el intestino delgado se encuentra necrótico con secreción amarillenta y

sanguinolenta. Los hallazgos de esta investigación son similares a otros estudios en relación con las lesiones macroscópicas. Según el estudio realizado por Morris, *et.al* 2011, se menciona que los hallazgos se pueden encontrar en la cavidad abdominal que tiene una apariencia hemorrágica en la mucosa del rumen, el abomaso y el yeyuno. Además, las paredes del abomaso y el intestino delgado proximal (yeyuno) se encuentran edematosas, mientras que los órganos internos muestran solo cambios degenerativos.

Asimismo, existen otros estudios de *Clostridium perfringens* en terneros, pero cada uno con su respectivo experimento y metodologías. Todos estos estudios realizaron una necropsia después de haber muerto el animal. Es decir que los resultados de la necropsia son compatibles con las lesiones macroscópicas mencionadas en distintos estudios de terneros afectados por *Clostridium spp.* Según varios estudios, mencionan que los hallazgos encontrados están principalmente en el rumen y el intestino delgado con lesiones hemorrágicas, necróticas y contenido líquido sanguinolento (García, 2013) (Muylaert, 2010) (Lebrun, 2010). Estas lesiones son muy comunes en la enterotoxemia porque se encuentran grandes cantidades de *C. perfringens* en el contenido intestinal, cuando las toxinas son absorbidas puede causar toxemia y la inflamación del intestino delgado (Simpson, 2018). En vista de los resultados, se puede decir que los hallazgos más comunes que se encuentra en la enterotoxemia son lesiones gastrointestinales. Las lesiones en los estudios previos escritos indican que se encuentra hemorragia intestinal segmentaria con una gran cantidad de líquido sanguinolento en la luz intestinal delgado. También, se observa el abdomen distendido moderadamente debido a una dilatación del intestino delgado, el rumen y el abomaso (Savic, *et.al* 2012) (Songer, *et.al* 2004). Esto es de gran importancia porque el daño del intestino puede ser causado por una alimentación de baja calidad en donde facilita la multiplicación abomasal y del intestino delgado de organismos, con la consiguiente necrosis en la mucosa (Songer, 2005).

No obstante, con respecto a las lesiones macroscópicas (Figura No.1-5), señala que el presente microorganismo puede ser *Clostridium*, pero también puede ser causa de otros patógenos que se dieron en conjunto. Por ejemplo, en el estudio por Morris, *et.al* 2011, menciona que el hígado se encontraba agrandado, los riñones oscuros, los pulmones no colapsados edematoso y se observó hemorragia en el endocardio y el pericardio. Tal como en otro estudio, menciona que se encontró congestión moderada del pulmón con edema, hidropericardio, hemorragias petequiales subepicárdicas y edema hemorrágico (Songer, *et.al* 2004). Según el estudio por Uzal, *et.al* 2002, los cambios macroscópicos graves consistieron en edema pulmonar agudo. Se puede considerar estos cambios como secundarios debido a que la infección probablemente se originó en el tracto intestinal y evolucionó a una infección sistémica.

Posteriormente, se realizó una lista de diagnósticos diferenciales para poder analizar y descartar posibles enfermedades. La salmonella está dentro de la lista de diagnósticos diferenciales, debido a que, en un estudio, Guiezolini, *et. al* 2019, indica que *Salmonella entérica* se divide en los serotipos *Typhimurium* y *Dublin* que son los más frecuentes en el ganado. El primero es responsable de causar enfermedad entérica, especialmente en terneros de hasta seis meses de edad. El segundo puede afectar al ganado de todas las edades y se asocia principalmente con septicemia severa. Además, la salmonelosis aguda generalmente se asocia con diarrea y fiebre (Savic, 2012). Sin embargo, la coccidiosis también puede estar involucrada debido a las lesiones que causa, la coccidiosis en el ganado se limitan principalmente al íleon (Savic, 2012). En cambio, en el presente estudio, las lesiones limitan al duodeno y al yeyuno. Además, BVDV (virus de la diarrea vírica bovina) puede estar presente con *Clostridium*, pero esta enfermedad se asocia principalmente con brotes de enfermedades respiratorias (Savic, 2012). Aunque el cuadro clínico y la necropsia en los casos presentados fueron similares a los hallazgos de enterotoxemia causada por *c. perfringens* en terneros, la peritonitis con fibrina y

el pulmón edematoso no se asocian típicamente con enteritis hemorrágica o enterotoxemia en el ganado (Songer, 2005). El principal diagnóstico diferencial que podría estar presente con *C. perfringens* en la presente investigación es la salmonella. La salmonella se considera una de las causas más importantes de diarrea en terneros de hasta 30 días de edad (Guizelini, *et.al* 2019). Los signos clínicos que se encuentran son diarrea, palidez de la mucosa, apatía, hipertermia y dificultad respiratoria. Dentro del estudio, se pudo observar un exceso de líquido en las cavidades torácicas y abdominal, presencia de fibrina y hepatomegalia. En el estudio, García, *et.al* 2013, concluyó que Salmonella puede producir lesiones similares a las de *C. perfringens*, es decir es posible que este organismo sea al menos parcialmente responsable de las lesiones observadas en los terneros. Por ende, los hallazgos macroscópicos no son compatibles a las atribuidas clásicamente a Salmonella.

En cuanto a la etiología de la enfermedad, es importante conocer algunos marcadores y factores de riesgo de este patógeno que podría señalar que *Clostridium* esté involucrado en tal estudio. Existen marcadores de riesgo que pueden provocar la enterotoxemia en los terneros en una edad específica, de este modo fue en una edad temprana entre cuatro a ocho semanas. Según el estudio por Songer, *et.al* 2005, explica que los animales recién nacidos son típicamente más susceptibles, debido a la rápida colonización del intestino por *C. perfringens* en ausencia de una flora intestinal normal bien establecida. Además, la enterotoxemia es una causa predominante de muerte en animales destetados de hasta 10 meses de edad, generalmente aquellos alimentados con raciones de grano ricas (Simpson, *et.al* 2018). Por lo tanto, se puede concluir que la edad que puede provocar esta enfermedad es en animales jóvenes de hasta 10 meses de edad.

A continuación, existen factores de riesgo que pueden provocar cambios en la flora intestinal que a consecuencia puede producir la enterotoxemia. En el estudio realizado por Lebrun, *et.al* 2010, menciona que el estrés puede ser causado por un cambio brusco en la dieta

o por un defecto en el suministro de agua. Conjuntamente, las condiciones ambientales estresantes como la reagrupación, el transporte de animales o la manipulación brusca durante el descornado son otros factores de riesgo. También, el tratamiento médico (antibióterapia, profilaxis, antiparasitaria) se consideran factores desencadenantes de la enterotoxemia. En el presente estudio, se anotó todos los cambios de la dieta, de tal modo que no hubo un cambio drástico en la dieta, pero si se observó algunas situaciones estresantes al momento de reagrupación y durante la vacunación. Igualmente, en otro estudio por Verhersteaten, *et.al* 2013, explica que la composición del alimento es de gran importancia para el desarrollo de la enfermedad. La ingestión de alimento frío puede afectar la función de la mucosa, permitiendo la entrada del patógeno. Estas alteraciones en la flora intestinal por dichos factores, hace que la toxina facilita su propia absorción, lo que resulta en toxemia con enteritis y los efectos de la toxina sobre el sistema nervioso central y otros tejidos causan la muerte súbita (Valgaeren, 2015). Debido a los factores de riesgos mencionados, se puede explicar que la ruta de infección de los terneros probablemente fue por infección a la región umbilical, en otras palabras, por un mal manejo post parto. De la misma manera, es importante saber si los terneros fueron vacunados para *Clostridium*, en este caso los terneros no fueron vacunados por *Clostridium*, pero si fueron vacunados con IBR-DVD-PI3-BRSV (Rinotraqueitis bovina infecciosa, diarrea viral bovina, parainfluenza 3, virus respiratorio sincitial bovino). Es sumamente importante la vacuna contra *Clostridium* porque los terneros son muy vulnerables a esta enfermedad a una edad temprana.

CONCLUSIONES

En conclusión, los terneros que enfermaron en la hacienda “Cariacu” posiblemente fueron atacados por *Clostridium spp.* debido a los signos clínicos y lesiones macroscópicas recolectadas durante el periodo de investigación. El diagnóstico para *Clostridium spp.* se puede realizar mediante la signología y hallazgos durante la necropsia, sin embargo, es necesario realizar otros métodos de diagnóstico. Es importante tomar en cuenta que esta bacteria es un invasor post mortem del intestino, por ende, el aislamiento de *C. perfringens* de los tejidos de animales muertos debe considerarse con precaución al hacer un diagnóstico. Posterior a la investigación se concluye que la bacteria *Clostridium* probablemente está generando muertes en los animales jóvenes en la hacienda “Cariacu”, porque los terneros son vulnerables a esta enfermedad sin buenas prácticas de manejo y sin las vacunas correspondientes para esta bacteria. Gran parte de la infección por *Clostridium* se puede atribuir por factores estresantes, mala alimentación o tratamientos médicos inefficientes.

Para investigaciones futuras es recomendable realizar pruebas diagnósticas más completas. En otras palabras, los componentes clave en los sistemas de diagnóstico para enterotoxemia causada por *C. perfringens* en animales domésticos siguen siendo la evaluación de signos clínicos y lesiones macroscópicas. También la histopatología de las lesiones microscópicas, para esto se requiere muestras tomadas de abomaso, intestino delgado y colon en formalina tamponada al 10%. Un frotis de impresión de la superficie de la mucosa del tracto gastrointestinal afectado para una citología, incluida la tinción de Gram es recomendada. Un cultivo bacteriológico en agar sangre, para esto se necesita contenidos intestinales, tejidos o heces. Además, la detección de toxinas en muestras patológicas. Actualmente, el PCR se utiliza para clasificar esta especie diversa en distintos tipos o genotipos. Por ejemplo, la detección de secuencias de genes para toxinas alfa, beta, beta-2, épsilon y iota y enterotoxina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acha, P. & Szyfres, B. (2001). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Volumen I Bacteriosis y micosis. Organización mundial de la salud. Washington, DC.
- Aluja, A., Casas, F., Velasco, J. (2002). Técnicas de necropsia en animales domésticos. 2da edición. Editorial el manual moderno. Mexico.
- Filho, E. & et.al. (2009). Clinicopathologic Features of Experimental *Clostridium perfringens* type D Enterotoxaemia in Cattle. *Veterinary Pathology* 46: 1213-1220
- Garcia, J., Anderson, M., Blanchard, P., Uzal, F. (2013). The pathology of enterotoxaemia by *Clostridium perfringens* type C in calves. *Journal of veterinary Diagnostic Investigation* 25 (3) 438-442
- Glenn, J. & Mislimmins, D. (2004). *Clostridium perfringens* type E enteritis in calves: two cases and a brief review of the literature. *Veterinary anaerobes and diseases*.
- Guizelini, C. & et.al. (2019). Salmonellosis in calves without intestinal lesions. *Brazilian Journal of Veterinary Research* 39 (8): 580-586.
- Hammit, M., & et.al. (2007). A possible role for *Clostridium difficile* in the etiology of calf enteritis. *Veterinary Microbiology* 127: 343-352
- Lebrun, M., Mainil, J., Linden, A. (2010). Cattle enterotoxaemia and *Clostridium perfringens*: description, diagnosis and prophylaxis. *Veterinary Record* 167: 13-22.
- Manteca, C. & et.al. (2002). A role for clostridium perfringens B2 toxin in bovine enterotoxaemia. *Veterinary microbiology*.
- Morris, W. & et.al. (2011). Necrotic Enteritis in Young Calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 23: 254-259
- Muylaert, A. & et.al. (2015). Enterotoxaemia-like syndrome and *Clostridium perfringens* in veal calves. *Veterinary Record* 167: 64-65.
- Santos, B., & et.al. (2019). Clostridial diseases diagnosed in cattle from the South of Rio Grande do Sul, Brazil. A forty-year survey and a brief review of the literature. *Brazilian Journal of Veterinary Research* 39 (7): 435-446
- Savic, B., Prodanovic, R., Ivetic, V., Radanovic, O., Bojkovski, J. (2012). Enteritis associated with *Clostridium perfringens* type A in 9-month-old calves. *Canadian Veterinary Journal* 53: 174-176
- Simpson, K., Callan, R., & Van Metre, D. (2018). Clostridial Abomasitis and Enteritis in Ruminants. *Vet Clin Food Animal* 24: 155-184
- Songer, J. (1996). Clostridial Enteric Diseases of Domestic Animals. *Clinical microbiology reviews*. Vol 9, No.2 p. 216-234

- Songer, J. (1998). Clostridial diseases of small ruminants. *Veterinary Research* 29: 219-232.
- Songer, J. & Miskimmins, D. (2004). *Clostridium perfringens* type E enteritis in calves: two cases and a brief review of the literature. *Anaerobe* 10: 239-242.
- Songer, J. & Misskimmins, D. (2005). Clostridial abomasitis in calves: Case report and a review of the literature. *Anaerobe* 11: 290-294
- Uzal, F., Kelly, W., Morris, W., Assis, R. (2002). Effects of Intravenous Injection of *Clostridium perfringens* type D Epsilon Toxin in Calves. *Journal Comp. Pathology*. Vol 126: 71-75
- Valgaeren, R. & et.al. (2015). Haemorrhagic enteritis in newborn calves associated with *Clostridium perfringens* and colostrum delivery. *JMM Case Reports*.
- Verherstareten, S. & et.al. (2013). The synergistic necrohemorrhagic action of *Clostridium perfringens* perfringolysin and alpha toxin in the bovine intestine and against bovine endothelial cells. *Veterinary Research* (44): 45
- Watson, P. & Scholes, S. (2009). *Clostridium perfringens* type D epsilon intoxication in one-day old calves. *The veterinary record*. London.