

**UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA
CARRERA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**



PREVALENCIA E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *Clostridium perfringens* TIPO D EN HECES DE CAPRINOS CRIOLLOS (*Capra hircus*) DEL DISTRITO PAPAYAL, TUMBES

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

TESISTA:

SUCAPUCA SANTOS, Gabriela Raquel

ASESOR:

COTACALLAPA VILCA, Alcides Melecio

HUÁNUCO - PERÚ

2023

DEDICATORIA

Dedico a la buena voluntad de la ciencia,
la esperanza y especialmente a la vida

A mi querida Madre Antolina,
por su confianza e incondicional apoyo;
también a mis hermanas y hermano por
darme el apoyo y ejemplo
en el camino de la vida.

A mi esposo Cesar,
por su apoyo e inspiración.

A mi apreciada hija,
Karely; ya que es mi principal
motivo para seguir creciendo
profesionalmente.

AGRADECIMIENTO

Agradezco al Todopoderoso por estar conmigo a lo largo de mi vida, ser mi fortaleza en los momentos más difíciles.

Mi agradecimiento a la Universidad Nacional Hermilio Valdizán y al Programa de Fortalecimiento en Investigación.

Al Instituto Superior Tecnológico Público 24 de Julio de Zarumilla Tumbes, por darme la oportunidad de realizar el siguiente trabajo de investigación.

A mis amigos: Fredy Fabián, Lourdes Vásquez, Vannesa, por su constante apoyo durante la ejecución de la Tesis.

PREVALENCIA E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *Clostridium perfringens* TIPO D EN HECES DE CAPRINOS CRIOLLOS (*Capra hircus*) MENORES DE UN AÑO Y CON SIGNO CLÍNICO DE DIARREA DEL DISTRITO PAPAYAL, TUMBES

Bachiller: Gabriela Raquel SUCAPUCA SANTOS

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es determinar la prevalencia y la identificación molecular de *Clostridium perfringens* tipo D en heces de caprinos criollos (*Capra hircus*) del distrito Papayal, Tumbes. Es de tipo descriptivo, observacional, transversal y analítico. Se trabajó con 50 animales menores de 12 meses y con sintomatología de diarrea como tamaño de muestra. Se utilizó técnicas moleculares: aislamiento y purificación bacteriana utilizando el medio de cultivo Robertson cooked meat; extracción de ADN con el Kit de Purificación de ADN microbiano con el programa SPSS y la prueba Chi-cuadrado para la estadística inferencial. Los resultados fueron: la prevalencia de *Clostridium perfringens* tipo D fue del 10%, encontrándose 6% en animales de 1-4 meses, 4% en animales de 5-8 meses y no se encontró en animales de 9-12 meses. Según la presencia de diarrea se encontró una prevalencia de 2% en animales enfermos y 8% en animales sanos. Se concluye que la prevalencia de *Clostridium perfringens* tipo D es de 10 % y que no existe predisposición por la edad y signos clínicos de diarrea en los animales de estudio.

Palabras clave: *Clostridium perfringens* tipo D, PCR, Identificación molecular, Ganado caprino.

PREVALENCE AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF CLOSTRIDIUM PERFRINGENS TYPE D IN FECES OF CREOLE GOATS (CAPRA HIRCUS) UNDER ONE YEAR OF AGE AND WITH SIGN OF DIARRHEA FROM THE PAPAYAL DISTRICT, TUMBES

Bachelor: Gabriela Raquel Sucapuca Santos

SUMMARY

The objective of this work is to determine the prevalence and molecular identification of *Clostridium perfringens* type D in Creole goat (*Capra hircus*) feces from the Papayal district, Tumbes. It is descriptive, observational, cross-sectional and analytical. We worked with 50 animals under 12 months and with symptoms of diarrhea as a sample size. Molecular techniques were used: bacterial isolation and purification using the Robertson cooked meat culture medium; DNA extraction with the PureLink™ Microbial DNA Purification Kit; Polymerase chain reaction (PCR), with specific primers for *Clostridium perfringens* type D; the amplicons were taken to agarose gel electrophoresis, to observe the positive samples. The statistical analysis was carried out with the SPSS program and the Chi-square test for inferential statistics. The results were: the prevalence of *Clostridium perfringens* type D was 10%, being 6% in animals 1-4 months old, 4% in animals 5-8 months old and not found in animals 9-12 months old. According to the presence of diarrhea, a prevalence of 2% was found in sick animals and 8% in healthy animals. It is concluded that the prevalence of *Clostridium perfringens* type D is 10 % and that there is no predisposition due to age and clinical signs of diarrhea in the study animals.

Keywords: *Clostridium perfringens* type D, PCR, Molecular identification, Goats.

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
ÍNDICE	vi
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICOS.....	ix
INDICE DE ANEXOS.....	x
INTRODUCCIÓN.....	xi
1.1. Fundamentación del Problema de Investigación	13
1.2. Formulación del Problema de Investigación	14
1.3. Formulación del Objetivo	15
1.4. Justificación	15
1.5. Limitaciones	16
1.6. Formulación de Hipótesis	16
1.6.1. Hipótesis General	16
1.6.2. Hipótesis Específica	16
1.7. Variables	16
1.7.1. Variable Independiente	16
1.7.2. Variable Dependiente:	16
1.8. Definición teórica y operacionalización de variables	17
1.8.1. Definición teórica	17
1.8.2. Operacionalización de variables	17
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	18
2.1. Antecedentes de la Investigación	18
2.1.1. Antecedentes Internacionales	18
2.1.2. Antecedentes Nacionales	19
2.2. Bases Teóricas	20
2.2.1. Ganado caprino	20
2.2.2. Principales enfermedades del ganado caprino.....	21
2.2.3. PCR	28
2.3. Bases Conceptuales o Definición de Términos Básicos.....	28
2.3.1. Identificación molecular	28
2.3.2. Clostridium perfringens tipo D	28

2.3.3. Ganado caprino	29
2.4. Bases epistemológicas.....	29
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	30
3.1. Ámbito	30
3.2. Población.....	31
3.2.1. Criterios de inclusión:.....	31
3.2.2. Criterios de exclusión	31
3.3. Muestra	31
3.4. Nivel y tipo de estudio	31
3.4.1. Tipo de investigación	31
3.4.2. Nivel De Investigación	31
3.5. Diseño de investigación.....	31
3.6. Método, técnica e instrumento	31
3.6.1. Método.....	31
3.6.2. Técnica.....	31
3.6.3. Instrumento.....	32
3.7. Validación y confiabilidad del instrumento.....	32
3.8. Procedimiento.....	32
3.8.1. Toma de muestra.....	32
3.8.2. Aislamiento y purificación bacteriana	32
3.8.3. Extracción de ADN genómico bacteriano.....	33
3.8.4. Reacción en cadena polimerasa (PCR)	33
3.8.5. Electroforesis	34
3.9. Tabulación y análisis de datos estadístico	35
3.9.1. Tabulación.....	35
3.9.2. Análisis de datos	35
3.10. Consideraciones éticas	35
CAPÍTULO IV. RESULTADOS.....	36
4.1. Estadística descriptiva.....	36
4.2. Estadística inferencial.....	39
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN	40
CONCLUSIONES.....	41
RECOMENDACIONES	42
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	43
ANEXOS.....	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01. Tipificación de <i>C. perfringens</i> basado en la síntesis de toxinas.....	
¡Error! Marcador no definido.	
Tabla 02. Lista de nucleótidos que conforman el primers para la toxina épsilon.....	34
Tabla 03. Frecuencia de animales menores de 1 año del distrito de Papayal -Tumbes...36	
Tabla 04. Frecuencia de animales con presencia de signos clínicos de diarrea en el distrito de Papayal -Tumbes.....	37
Tabla 05. Prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D en caprinos criollos en el distrito de Papayal, Tumbes.....	
¡Error! Marcador no definido.	
Tabla 06. Prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D en caprinos criollos en el distrito de Papayal, Tumbes. Según la edad.....	39
Tabla 07. Prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D en caprinos criollos en el distrito de Papayal, Tumbes. Según la presencia del signo de diarrea.....	
¡Error! Marcador no definido.	

ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICOS

Figura 01. Ultra estructura de las esporas de Cl. Perfringens.....	¡Error! Marcador no definido.
Figura 02. Clostridium perfringen.....	27
Figura 03. Ubicación del distrito de Zarumilla, región Tumbes.....	¡Error! Marcador no definido.
Gráfico 01. Porcentaje (%) de animales menores de 1 año del distrito de Papayal – Tumbes.....	¡Error! Marcador no definido.
Gráfico 02. Porcentaje (%) de animales con signos clínicos de diarrea en el distrito de Papayal-Tumbes.....	¡Error! Marcador no definido.
Gráfico 03. Porcentaje (%) de animales positivos a Clostridium perfringens tipo D en el distrito de Papayal-Tumbes.....	¡Error! Marcador no definido.

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1 Matriz de consistencia.....	49
ANEXO N° 2 Ficha de registro para la toma de muestra de heces	50
ANEXO N° 3 Ficha de registro para la identificación de los positivos a <i>Clostridium perfringens</i> tipo d por la técnica de pcr.....	53
ANEXO N° 4 Aislamiento y purificación bacteriana.....	55
ANEXO N° 5 Plataforma bioinformática para el diseño de primers (Primers-BLAST).....	55
ANEXO N° 6 Reacción en cadena de la polimerasa.....	56
ANEXO N° 7 Frecuencia de edades en meses.....	56
ANEXO N° 8 Frecuencia de animales con signos clínicos de diarrea.....	56
ANEXO N° 9 Porcentaje de animales positivos a <i>Clostridium perfringens</i> tipo D.....	57
ANEXO N° 10 Tabla cruzada.....	57

INTRODUCCIÓN

La enterotoxemia es una enfermedad con actividad letal, citotóxica y enterotóxica. Se caracteriza por la presencia de lesiones morfológicas y fisiológicas en el intestino delgado de varios mamíferos causando diarrea en humanos y otros animales. **(Niilo, 1973)**

Uno de los patógenos bacterianos más prevalentes en el medio ambiente es *Clostridium perfringens*, que puede aislarse de muestras de suelo, agua y también se encuentra en la microbiota gastrointestinal de humanos y animales. Pero ocasionalmente puede comportarse como un patógeno oportunista y desencadenar enfermedades como gangrena gaseosa en ovinos y caprinos y disentería en corderos, entre otras enfermedades. **(Morris & Fernández-Miyakawa, 2009)**

Es una bacteria Gram positiva, en forma de bacilo y anaerobio. Forma parte del género *Clostridium*, compuesto por aproximadamente 150 especies. Algunas de estas especies son altamente patógenas y ocasionan enfermedades, principalmente por la síntesis de potentes toxinas extracelulares. Entre las especies patógenas más conocidas se encuentran *Clostridium botulinum*, que puede causar botulismo, *Clostridium tetani*, que causa el tétanos, y *Clostridium difficile*, que está asociado con infecciones del tracto gastrointestinal **(Songer et al., 1996)**. Estas especies también pueden ser difíciles de erradicar mediante la cocción u otros métodos de tratamiento térmico, ya que sus esporas les permiten sobrevivir en el medio ambiente durante largos períodos de tiempo.

El *Clostridium. perfringens* se divide en cinco toxinotipos, es decir, A, B, C, D, y E **(Milton et al., 2017)**. Sobre la base de cuatro toxinas principales, como, alfa (cpa), beta (cpb), épsilon (etx) e iota (itx), beta 2 toxina (cpb2) y enterotoxina (cpe), Las toxinas específicas son responsables de los signos clínicos y un síndrome atribuible a cada tipo. Las infecciones entéricas específicas de varias especies animales están asociadas a diferentes toxinotipos. **(Ohtani & Shimizu, 2016)**

Es correcto mencionar que la toxina épsilon del *Clostridium perfringens* tipo D es el toxinotipo más patógeno luego de las neurotoxinas tetánica y botulínica, y que es sintetizada y secretada como una prototoxina de peso molecular de 32,7 kDa (**Morris & Fernández-Miyakawa, 2009**), que adquiere su máxima actividad biológica tras sufrir un clivaje proteolítico específico. Es interesante mencionar que esta activación es catalizada por proteasas como la tripsina, la quimotripsina y una zincmetaloproteasa producida por *C. perfringens* en la mucosa del sistema digestivo, y que el gen de esta toxina (etx) se encuentra codificado en un elemento extracromosómico, un plásmido de gran tamaño. (**Songer, 1996**). Esto le confiere a *C. perfringens* la capacidad de producir la toxina en grandes cantidades y contribuye a su capacidad como patógeno oportunista.

Generalmente, la tipificación de las cepas de *C. perfringens* se ha descrito mediante una prueba de neutralización de toxinas con los antisueros apropiados en animales de laboratorio como cobayos. También se puede utilizar un método basado en ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas) para tipificar aislados de *C. perfringens*. Sin embargo, estos métodos a menudo requieren mucho tiempo y no siempre pueden identificar una variedad de toxinas diferentes, lo que limita las opciones de subtipificación (**Hadimli et al., 2012**). Además, se requieren métodos de cultivo especiales para inducir la esporulación, lo que ayuda a identificar las cepas productoras de enterotoxinas. (**Gajdács, Spengler, & Urbán, 2017**)

Sin embargo, la genotipificación de aislamientos de *C. perfringens* puede superar este problema y se ha convertido en el estándar para la toxinotipificación de *C. perfringens*. Se han establecido protocolos de PCR, especialmente ensayos de PCR multiplex, para la identificación de los genes de toxinas simultáneamente. (**Baums et al., 2004**)

En los últimos años, el uso frecuente de la PCR y secuenciación genómica ha producido avances significativos en el aislamiento, identificación y caracterización de diversos microorganismos, incluidas las especies de *Clostridium* (**Woo et al., 2008**). Estas técnicas moleculares han permitido una identificación más rápida y precisa de especies bacterianas, así como la identificación de cepas patógenas y sus factores de virulencia asociados. Además, el uso de estas técnicas también ha favorecido a la comprensión de la base genética de la resistencia a los antibióticos y la evolución de las poblaciones bacterianas. En general, el mayor uso de técnicas moleculares ha mejorado en gran medida nuestra capacidad para detectar y comprender las infecciones bacterianas causadas por especies de *Clostridium* y otros patógenos.

El principal objetivo del presente trabajo de investigación es determinar la prevalencia e identificar molecularmente al *Clostridium perfringens* tipo D en heces de caprinos criollos (*Capra iracus*) del distrito papayal, Tumbes.

CAPÍTULO I. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Fundamentación del Problema de Investigación

La crianza de caprinos en el Perú está asociada a pequeños productores con bajos niveles de ingresos. Estos productores tienden a utilizar recursos marginales como restos de cultivos, pastos naturales y arbustos para alimentar a sus cabras, lo que los convierte en una fuente de proteína animal relativamente económica.

La crianza de ganado caprino en el Perú se lleva a cabo principalmente en las regiones costeras y montañosas del país y se encuentra en cantidades mínimas en la zona selvática. En la región costera, los departamentos con más producción son Piura, Lima e Ica. En la región montañosa, la producción se concentra principalmente en Ayacucho y Huancavelica (**Gómez et al., 2016**). La ganadería caprina está dirigida principalmente a la producción de leche y carne para la elaboración de queso. (**MINAGRI, 2015**)

Mientras que en la región Tumbes la crianza de ganado caprino es una práctica muy poco sustentable. Según los reportes en el 2020 se logró alcanzar 35.3 toneladas de peso vivo, teniendo un incremento mínimo en el 2021 de 38.4 toneladas, con una variación de 8.9%. (**INEI, 2021**)

Gran parte de la crianza de caprinos está orientado a un sistema extensivo, adicionalmente la situación del criador, el déficit de recursos para mejorar la producción, hacen que su tecnología y fabricación de productos sea deficiente y limitada, comprometiendo directamente la comercialización y demanda de sus productos. (**Ortega, 2019**)

Por otro lado. no cuentan con un sistema de manejo a nivel reproductivo, alimenticio y sanitario; la mortalidad y morbilidad del ganado con agentes no conocidos por los ganaderos hacen cada vez un reto su producción. Los agentes patógenos que afectan a los caprinos son generalmente, parásitos, virus y bacterias; siendo estos últimos comunes causantes de mortalidad; también afectan la ubre, el rumen e intestino; el diagnóstico convencional es a nivel de cultivo microbiológico y análisis bioquímico, sin embargo, debido a la mutación constante de bacterias dichos resultados pueden dar falsos positivos.

La enterotoxemia en caprinos es una enfermedad infecciosa originada por la bacteria *Clostridium perfringens*, vive normalmente en el tracto gastrointestinal de bovinos, ovinos y caprinos. Es relativamente aerotolerante, formadora de esporas, no móviles y Gram positivas (0.6-0.8x2-4 µm). (**Prescott, 2016**)

Es una afección grave que afecta los intestinos y puede provocar la muerte súbita en las cabras. La enterotoxemia también se conoce como "enfermedad de comer en exceso" porque a menudo ocurre cuando las cabras tienen acceso a una gran cantidad de alimento o están sometidos a cambios repentinos de regímenes de alimentación esto hace que las bacterias se multiplican rápidamente en su tracto digestivo, produciendo toxinas y por consiguiente provocando toxemia, daño en el sistema nervioso y shock al animal.

C. perfringens tipo D es responsable de una enterotoxemia altamente letal en ovejas, cabras y otros rumiantes; es capaz de producir dos tipos de toxinas: enterotoxina (CPA) y toxina la épsilon (ETX). **(Mc Clane et al., 2006)**

La identificación de *C. perfringens* se ha basado en la administración de sobrenadantes bacterianos a animales de laboratorio. Sin embargo, la existencia de técnicas moleculares, como la PCR, facilitan la detección de genes que codifican las sustancias tóxicas clave, como la toxina alfa, la toxina Beta, la toxina Épsilon y la toxina Iota. Esta técnica, a diferencia de la seroneutralización, es más sensible para la identificación de los genotipos y subtipos de *C. perfringens* de manera temprana. **(Uzal et al., 1997)**

En tal sentido, el presente trabajo está orientado a la determinación de la prevalencia e identificación molecular utilizando herramientas biotecnológicas, tales como: cultivo microbiológico, extracción de ADN y PCR (Reacción de Cadena Polimerasa) de *C. perfringens* tipo D en heces de caprinos criollos.

1.2. Formulación del Problema de Investigación

1.2.1. Problema General:

¿Cuál es la prevalencia de *Clostridium perfringens* tipo D en heces de caprinos criollos (*Capra hircus*) del distrito Papayal, Tumbes?

1.2.2. Problemas Específicos:

¿La edad de los caprinos criollos (*Capra hircus*) del distrito Papayal, Tumbes es un factor predisponente en la prevalencia de *Clostridium perfringens* tipo D?

¿El signo clínico de diarrea de los caprinos criollos (*Capra hircus*) del distrito Papayal, Tumbes se encuentra relacionada a la prevalencia de *Clostridium perfringens* tipo D?

1.3. Formulación del Objetivo

1.3.1. Objetivo General

Evaluar la prevalencia del *Clostridium perfringens* tipo D en heces de caprinos criollos (*Capra hircus*) del distrito de Papayal, Tumbes.

1.3.2. Objetivos Específicos

Determinar si la edad de los caprinos criollos (*Capra hircus*) del distrito Papayal, Tumbes es un factor predisponente en la prevalencia de *Clostridium perfringens* tipo D.

Conocer si el signo clínico de diarrea de los caprinos criollos (*Capra hircus*) del distrito Papayal, Tumbes se encuentra relacionada a la prevalencia *Clostridium perfringens* tipo D.

1.4. Justificación

Las malas prácticas de manejo a nivel reproductivo, alimenticio y sanitario; la mortalidad y morbilidad del ganado con agentes no conocidos por los ganaderos hacen cada vez un reto la producción caprina. **(Consuelo & Rojo, 2003)**

Del mismo modo, la enterotoxemia es una enfermedad importante de las cabras y puede presentarse como un síndrome de muerte súbita o como una diarrea crónica culminando en la muerte o recuperación espontánea.

Es causada por el *Clostridium perfringens* tipo D, que normalmente reside en el estómago de los caprinos. Cuando ocurre un desequilibrio en el equilibrio fisiológico, la enfermedad puede presentarse, atacando a los cabritos más gordos que están próximos al destete y a las cabras más gordas. Cuando hay un cambio repentino en la alimentación, puede promover la multiplicación de estas bacterias **(Rosadio et al., 2012)**. Afectando directamente la rentabilidad de la producción caprina del pequeño productor.

Para disminuir el riesgo de enterotoxemia se requiere un manejo adecuado de la dieta del animal y evitar la alimentación en exceso, lo que puede causar trastornos digestivos que conducen al desarrollo de la enfermedad.

El siguiente trabajo será un aporte para determinar el agente infeccioso causal de una de las patologías más frecuentes en ganado caprino, y así contribuir con el preciso diagnóstico del *Clostridium perfringens*.

1.5. Limitaciones

Se cuenta con el tiempo y las competencias para realizar el proyecto, sin embargo, el recurso económico fue una limitante debido al costo de los insumos de laboratorio, del mismo modo la distancia entre las unidades familiares de crianza de caprinos dificultó la toma de muestra.

1.6. Formulación de Hipótesis

1.6.1. Hipótesis General

Hi: Existe alta prevalencia de *Clostridium perfringens* tipo D en heces de caprinos criollos (*Capra hircus*) del distrito de Papayal, Tumbes.

Ho: Existe baja prevalencia de *Clostridium perfringens* tipo D en heces de caprinos criollos (*Capra hircus*) del distrito de Papayal, Tumbes.

1.6.2. Hipótesis Específica

Hi: La edad de los caprinos criollos (***Capra hircus***) del distrito Papayal, Tumbes si es un factor predisponente en la prevalencia de *Clostridium perfringens* tipo D

Ho: La edad de los caprinos criollos (***Capra hircus***) del distrito Papayal, Tumbes no es un factor predisponente en la prevalencia de *Clostridium perfringens* tipo D

Hi: El signo clínico de diarrea de los caprinos criollos (*Capra hircus*) del distrito Papayal, Tumbes si se encuentra relacionada a la prevalencia de *Clostridium perfringens* tipo D

Ho: El signo clínico de diarrea de los caprinos criollos (*Capra hircus*) del distrito Papayal, Tumbes no se encuentra relacionada a la prevalencia de *Clostridium perfringens* tipo D

1.7. Variables

1.7.1. Variable Independiente

La edad de caprinos

Signos clínicos de diarrea

1.7.2. Variable Dependiente:

Prevalencia de *Clostridium perfringens* tipo D

1.8. Definición teórica y operacionalización de variables

1.8.1. Definición teórica

Clostridium perfringens: Es una bacteria móvil, que puede producir esporas. Este microorganismo es capaz de producir fuertes exotoxinas que pueden dar lugar a cuadros extremadamente tóxicos.

PCR: Técnica molecular denominada Reacción de la polimerasa en cadena.

1.8.2 Operacionalización de variables

Variable	Tipo De Variable	Escala Medición	Categorías	Indicador	Instrumento
Variable dependiente					
<i>Clostridium perfringens</i>	Cualitativa nominal	Nominal	Positivo=1 Negativo =2	PCR	Ficha de registro para la obtención de muestra (Anexo n°2)
Variable independiente					
Edad	Cualitativa ordinal	Ordinal	1-4 m=1 5-8 m = 2 9-12 m =3	Observación de la Dentición	Ficha de registro para la identificación de los positivos a <i>Clostridium perfringens</i> (Anexo n°3)
Signo clínico de diarrea	Cualitativa nominal	Nominal	SI = 1 NO = 2	Observación de la Consistencia de las heces	

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Hakan et al., (2023) en su trabajo titulado *“Caracterización molecular y Detección de Clostridium perfringens, Paeniclostridium sordellii y Clostridium septicum de corderos y cabritos con abomasitis hemorrágica en Turquía”*. Tuvo como objetivo investigar la frecuencia y la presencia de genes de virulencia de Clostridium perfringens, Paeniclostridium sordellii y Clostridium septicum en corderos y cabritos con abomasitis hemorrágica. Trabajaron con un total de 38 muestras de abomaso, recolectadas de corderos y cabritos de 1 semana a 1 mes de edad entre 2021 y 2022. Las muestras fueron evaluadas por histopatología, cultivo y PCR. Sus resultados revelaron que C. perfringens tipo A fue la especie detectada con mayor frecuencia (86,84 %), ya sea sola o en combinación con otras especies de Clostridium. El gen de la toxina beta2 (cpb2) se encontró en tres de las muestras positivas de C. perfringens tipo A. Concluyen que la vacunación de animales preñadas con vacunas de toxoides sería beneficiosa en cuanto a la protección de los animales recién nacidos contra las infecciones por clostridios.

Mudassar et al., (2020) en su investigación titulada: *“Prevalencia, caracterización genotípica y fenotípica y perfil de resistencia a antibióticos de Clostridium perfringens tipo A y D aislado a partir de heces de ovejas y cabras en Punjab, Pakistán”*. El objetivo fue la caracterización molecular de diferentes tipos de Clostridium perfringens junto con su perfil de resistencia antimicrobiana. Trabajaron con un total de 399 muestras de heces de ovejas y cabras en la provincia de Punjab, Pakistán durante un período de un año utilizando una técnica de muestreo aleatorio. Las muestras fueron evaluadas utilizando técnicas de cultivo, pcr y susceptibilidad antimicrobial. Se detectó una prevalencia general más alta de C. perfringens (46,1 %) entre ovejas y cabras (sanas y enfermas). La mayoría de los aislamientos se caracterizaron como tipo A (82%), seguido del tipo D (18%). Concluyen que se necesitan estudios de patogenia para comprender el papel de varias toxinas en la causa de infecciones entéricas en ovejas y cabras.

Salik et al., (2017) en su trabajo titulado *“Aislamiento, caracterización molecular y prevalencia de Clostridium perfringens en ovinos y caprinos del Himalaya de Cachemira, India”* El objetivo fue informar la prevalencia de Clostridium perfringens en ovejas y cabras y caracterizarlas molecularmente con respecto a los genes de la toxina. Trabajaron con

177 muestras (152 de ovejas y 25 de cabras) recolectadas de animales sanos, con diarrea, y material mórbido de animales sospechosos de haber muerto por enterotoxemia. Los aislados presuntamente positivos se confirmaron mediante PCR. Todos los aislamientos confirmados fueron seleccionados para seis genes de toxinas, a saber; cpa, cpb, etx, cpi, cpb2 y cpe utilizando una PCR multiplex. La amplificación por PCR reveló que, de 177 muestras, 125 (70,62%) resultaron positivas para *C. perfringens*, de las cuales 110 (72,36%) eran de ovejas y 15 (60%) de cabras. La prevalencia del toxinotipo D de *C. perfringens* en corderos (56,16 %) y cabritos (46,16 %), seguido de 3,84 % en ovinos adultos, mientras que estuvo ausente en muestras de caprinos adultos. Se concluyó que hubo una alta prevalencia de *C. perfringens*, incluso en corderos de un día. Los toxinotipos A y D prevalecen tanto en ovejas como en cabras.

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Pezo et al. (2018) en su trabajo "Inducción Secretoria de IgG, con toxina de *Clostridium perfringens* Tipo A para la reducción de mortalidad por enterotoxemia en crías de Alpacas" en Cusco, Perú. El proyecto pretendía inducir IgG secretora con la toxina tipo A de *Clostridium perfringens* para reducir la mortalidad por enterotoxemia en las crías de alpaca. La metodología consistió en preparar un toxoide a partir de muestras intestinales de crías con enterotoxemia positiva para *C. perfringens* Tipo A. El toxoide se administró a hembras gestantes al noveno y décimo mes de preñez y a crías a los 10 días de vida. Los resultados mostraron que la administración del toxoide indujo una mayor protección en los grupos 1 y 2 que en los grupos 3 y 4, por lo que se concluyó que el toxoide brinda protección contra la enterotoxemia en alpacas.

Pérez, Maturrano & Rosadio (2012) en su investigación "Genotipificación y subtipificación molecular de cepas de *Clostridium perfringens* aisladas en alpacas muertas por enterotoxemia" Lima, Perú. Su principal objetivo fue Genotipificar y subtipificar molecularmente cepas de *Clostridium perfringens* aisladas a partir de alpacas muertas por enterotoxemia. El proyecto utilizó 47 muestras intestinales de alpacas recién nacidas diagnosticadas con enterotoxemia en el año 2005 y las procesaron mediante técnicas de cultivo microbiano, extracción de ADN y PCR. La investigación encontró que 46 de 47 aislamientos (97,9%) correspondían al genotipo A, entre los cuales 13/46 (28,3%) contenían adicionalmente el gen β_2 , mientras que las 33 muestras restantes (71,7%) eran negativas para ambos genes secundarios. El estudio sugiere que las toxinas alfa y beta2 pueden estar involucradas en casos de enterotoxemia en alpacas, pero excluye la enterotoxina. Esta investigación proporciona información sobre las características moleculares de las cepas de *Clostridium perfringens* asociadas con la enterotoxemia, lo

que puede informar el desarrollo de enfoques diagnósticos y terapéuticos efectivos para la enfermedad en alpacas y otras especies susceptibles.

Rosadio et al. (2012) llevó a cabo su trabajo de investigación titulado: ‘ Avances en el estudio de la patogénesis y prevención de la enterotoxemia de las alpacas ’ La Molina Lima, Perú. Tuvo como objetivo hacer un acopio de las investigaciones realizadas en Perú, sobre la incidencia de enterotoxemia en alpacas. Describieron varios estudios que se centraron en los aspectos microbiológicos y moleculares de la enterotoxemia en alpacas, y se encontró que *C. perfringens* es el principal agente causal. Los resultados de estos estudios informaron el desarrollo de una vacuna inactivada convencional que contiene toxoides tipo A y C, que ha demostrado reducir significativamente la mortalidad por enterotoxemia en crías de alpacas en ensayos de campo. La declaración describe correctamente los componentes de la vacuna y la tasa de éxito de la vacuna en la reducción de la mortalidad por enterotoxemia. Por lo tanto, se puede concluir que el desarrollo de una vacuna ha tenido éxito en la reducción de la incidencia de enterotoxemia en alpacas.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Ganado caprino

Hace aproximadamente diez mil años, en las regiones montañosas de Irán, se llevó a cabo la domesticación de la cabra (*Capra hircus*). Estos animales herbívoros poseen una alimentación diversa y pueden consumir una mayor cantidad de especies vegetales en comparación con otros tipos de ganado. Las cabras salvajes actúan como portadoras de enfermedades que afectan a las especies oriundas, siendo las que se encuentran en islas las más susceptibles a estos impactos. (**Global Invasive Species Database, 2014**)

2.2.1.1. Taxonomía

Reino: Animalia, **Phylum:** Craniata, **Clase:** Mammalia, **Orden:** Artiodactyla, **Familia:** Bovidae, **Género:** Capra, **Especie:** hircus, **Nombre científico:** Capra hircus Linnaeus, **Nombre común:** Cabra doméstica (**Global Invasive Species Database, 2014**)

2.2.1.2. Descripción

Capra hircus es una especie que se caracteriza por poseer una conformación robusta, pezuñas anchas y patas fuertes. Hay presencia de diversas razas, lo que implica variaciones en cuanto a su tamaño, que oscila entre 1.20 y 1.60 metros, y su peso, que va desde los 25 hasta los 95 kilogramos. Además, presentan una amplia gama de colores en su pelaje, que pueden ser claro, negro, café, blanco, manchado, entre otros. Tienen una chiva debajo de la mandíbula, un hocico largo y una cola de tamaño pequeño. En cuanto

a los cuernos, pueden estar presentes o no, en los machos pueden llegar a medir hasta 130 centímetros de largo, mientras que en las hembras su longitud alcanza los 30 centímetros. **(Álvarez Romero & Medellín, 2005).**

2.2.1.3. Distribución

Afganistán, Omán, Pakistán, Asia menor, Suroeste de Asia, Italia y la Península de los Balcanes **(Álvarez Romero & Medellín, 2005).**

2.2.2. Principales enfermedades del ganado caprino

2.2.2.1. Brucelosis

B. melitensis es el principal agente involucrado en la causa de la brucelosis en las cabras, y también se considera que es uno de los agentes que desencadena la brucelosis humana, también conocida como fiebre de Malta **(Blasco, 2010).**

La vía de transmisión más importante de esta enfermedad es a través de la boca, que ocurre cuando los animales infectados ingieren alimentos o agua contaminados. Cabe señalar que *B. melitensis* se puede excretar en la leche y el calostro, lo que implica que la mayoría de las infecciones latentes probablemente se adquieran a través del consumo de estos productos **(Blasco, 2010).**

Los animales infectados presentan signos clínicos que son extremadamente importantes económicamente. En las mujeres sexualmente activas, estos síntomas incluyen disminución de la fertilidad, abortos y disminución de la producción de leche. En los hombres, estos síntomas incluyen orquitis y epididimitis. También se han reportado casos de artritis **(Lebre et al., 2014).**

2.2.2.2. Clamidiasis

Las bacterias que causan la clamidia son la causa principal de la enfermedad infecciosa y contagiosa conocida como clamidiasis. La especie que más afecta a las vacas se llama *C. abortus*; es una bacteria obligatoria intracelular que exhibe un ciclo de desarrollo multicelular irregular **(Essig & Longbottom , 2015).**

Esta enfermedad se distingue por causar abortos espontáneos en las etapas finales del embarazo o alrededor del momento del nacimiento de bebés débiles. La mayoría de las veces, el aborto ocurre sin previo aviso, mientras que los cambios de comportamiento y las secreciones vaginales que contienen una cantidad significativa de órganos fetales pueden aparecer entre 24 y 48 horas antes de la pérdida. **(Essig & Longbottom , 2015).**

Como zoonosis, se ha informado que la clamidiasis afecta a mujeres embarazadas, particularmente después del contacto con cabras infectadas. **(Essig & Longbottom , 2015).**

2.2.2.3. Colibacilosis

Uno de los principales síntomas de la colibacilosis, enfermedad provocada por *Escherichia coli*, es la diarrea en recién nacidos. Hay dos formas reconocidas de la enfermedad: colibacilosis gastrointestinal y sistémica. **(García De Jalón, 2000)**

La colibacilosis gastrointestinal se presenta en animales de dos y diez días de edad. El cabrito presenta debilidad, caquexia y deshidratación. La diarrea es típicamente de un tono blanco casi líquido de color crema. Si los animales no reciben el tratamiento adecuado y rápido, pueden morir dentro de las 12 horas posteriores a la apertura de las instalaciones clínicas. **(García De Jalón, 2000)**

La colibacilosis septicémica ataca a cabras entre dos y seis semanas de edad; la bacteria coloniza la mucosa gastrointestinal o respiratoria y se propaga al torrente sanguíneo, provocando en los animales aumento de la temperatura rectal, meningitis y artritis sin presentar diarrea. La fuente de transmisión más significativa es a través de cabritos infectados, siendo la transmisión fecal-oral la más común. **(García De Jalón, 2000).**

2.2.2.4. Enterotoxemia

En el año 1970 se purificó y caracterizó la enterotoxina de *Clostridium perfringens*, conocida como cpe por sus siglas en inglés **(Hauschild y Hilsheimer, 1971)**; Desde entonces, ha habido suficiente evidencia para apoyar la hipótesis de que esta toxina es la principal causa de intoxicación alimentaria causada por *Cl. perfringens* tipo A. En los Estados Unidos, la segunda y tercera causa de intoxicación alimentaria en humanos son causadas por *Cl. perfringens* tipo A. **(Satija y Narayan, 1980)**. Además, esta toxina está relacionada con el 5 y el 15 % de los trastornos gastrointestinales humanos que no están causados por intoxicaciones alimentarias (Borriello et al., 1984). Un ejemplo de esto es la diarrea inducida por antibióticos. La enterotoxina, por otro lado, es importante en medicina veterinaria ya que causa diarrea en una variedad de especies animales, incluidos cerdos, ovinos, bovinos, equinos, aves y caninos. **(Cornillot et al., 1995).**

Las actividades letales, citotóxica y enterotóxica están todas presentes en la enterotoxina. La diarrea que se observa en humanos y otras especies animales es causada

por daño a su morfología y fisiología que ocurre en los intestinos de varios mamíferos. **(Miyakawa y Uzal, 2005).**

A. Etiología

Phylum *Firmicutes*

Clase *Clostridia*

Orden *Clostridiales*

Familia *Clostridiaceae*,

Genero *Clostridium*

Especie *C. perfringens* **(Garrity et al., 2001).**

Fue descubierto por primera vez en 1892 por Welch y Nutball utilizando muestras de un cuerpo humano en descomposición. Anteriormente conocida como *C. welchii*, esta bacteria está ampliamente distribuida como componente normal de la flora intestinal y subcutánea de los animales de sangre caliente, especialmente del tipo A, mientras que los tipos B, C, D y E son menos comunes en el tracto gastrointestinal y son ocasionalmente se encuentran en el medio ambiente **((Joclik y Willett, 1991).** Microscópicamente *C. perfringens* es un bacilo grampositivo que a menudo se encuentra solo o en pares, rara vez en cadenas, y tiene una capa de peptidoglicano que puede verse en frotis directos de fluidos y tejidos corporales. **(Brooks et al., 1998)**

C. perfringens es un microorganismo que fermenta lactosa, glucosa, sacarosa maltosa, y otros tipos de azúcares, además de ser un productor estricto de gases como CO₂ e hidrógeno, que suministra al ambiente donde ocurre el crecimiento anaeróbico **(Madigan et al., 2001).** Hay informes que sugieren que la eimeriosis puede representar un riesgo para desencadenar la infección. Esto se debe a que puede causar suficiente daño tisular en el intestino grueso para fomentar el crecimiento de *C. perfringens*. Además, se sospecha que los patógenos de *E. coli* que causan la necrosis de las células epiteliales también pueden fomentar un entorno favorable para el crecimiento acelerado del bacilo, lo que lleva a la subsiguiente acelerada síntesis de toxinas **(Luna, 2009).**

C. perfringens se clasifica en cinco tipos A, B, C, D y E. El Tipo A puede causar la destrucción de las membranas epiteliales intestinales y se puede encontrar en el suelo y en animales clínicamente normales **(Bradford, 2010)**, mientras que los Tipos B, C y D se asocian comúnmente con enteritis hemorrágica, enterotoxemia necrótica y enterotoxemia clásica en bovinos, particularmente en terneros **(Pineda et al., 2004).** El *Clostridium*

perfringens tipo E se encuentra principalmente en terneros, pero los estudios han demostrado que puede estar presente en vacas adultas y causar enteritis hemorrágica, mastitis necrótica y muerte súbita (**Redondo et al., 2013**). Cada uno de estos producen diferentes tipos de toxinas (Tabla 1).

Tabla 1. Tipificación de *C. perfringens* basado en la síntesis de toxinas.

Tipo	Toxinas			
	Alfa	Beta	Épsilon	Iota
A	+	-	-	-
B	+	+	+	-
C	+	+	-	-
D	+	-	+	-

(Benitez et al., 2022)

Por ahora, la virulencia de esta especie se debe a la producción de toxinas, en las que las bacterias sintetizan una serie de toxinas grandes y pequeñas que intervienen en el proceso de patogenicidad (**Briolat y Reysset , 2002**).

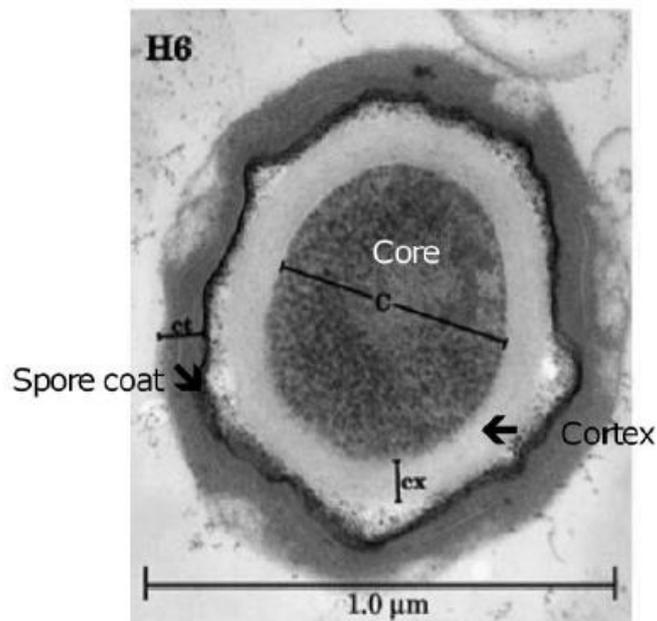


Figura 1. Ultra estructura de las esporas de *Cl. Perfringens* (**Li et al., 2016**).

B. Tipos de *Clostridium perfringens*

***Clostridium perfringens* tipo A.** Está relacionado con la abomasitis bovina, produce una o más toxinas nuevas vinculadas a las de otros organismos clostridiales, lo que puede conducir a una enfermedad gastrointestinal grave (**Nowell et al., 2012**). Aunque los mecanismos subyacentes de la enfermedad no se comprenden bien, se ha observado en terneros, donde se manifiesta clínicamente como taquicardia abomasal y distensión abdominal. También se asocia a la presencia de inflamación hemorrágica necrosante aguda. (**Van et al., 2009**)

***Clostridium perfringens* tipo B.** La toxina beta es el factor de virulencia que causa la enterocolitis hemorrágica aguda en animales jóvenes o rumiantes recién nacidos, típicamente en terneros menores de 10 días (**Simpson et al., 2018**).

***Clostridium perfringens* tipo C.** Debido a la acción de la toxina beta a nivel intestinal, la enfermedad provoca enteritis necrótica en animales neonatos de varias especies, incluidos los bovinos. Esta toxina provoca una severa necrosis de la mucosa intestinal. Es vital tener en cuenta que esta cepa en particular tiende a causar la muerte de los animales en menos de 24 horas (**Uzal, 2013**).

***Clostridium perfringens* tipo D.** Sintetiza una exotoxina potente denominada toxina épsilon que se secreta inicialmente como una prototoxina inactiva. Esta prototoxina se activa en los intestinos mediante la acción de proteasas derivadas de *C. perfringens*. (**Jones et al., 2015**).

***Clostridium perfringens* tipo E.** Debido a la producción de la toxina alfa e iota, en los rumiantes se puede producir enteritis hemorrágica o muerte séptica. Aunque no se sabe mucho sobre la patogenia de las infecciones por *C. perfringens* tipo E, esta cepa se ha aislado en terneros y en bovinos con enteritis. (**Redondo et al., 2015**)

C. Tipos de Toxinas

Toxina Alfa. Según Consuelo y Rojo (2003), la Toxina Alfa es una fosfolipasa C o lecitinasa C que tiene la capacidad de actuar sobre las membranas celulares, provocando hemólisis y necrosis en las células afectadas (Maxie, Kennedy y Palmer's, 2016)

Toxina Beta. es una toxina que tiene la capacidad de formar agujeros en las membranas celulares, lo que induce necrosis y, ocasionalmente, diversos efectos neurológicos. Aunque

el mecanismo exacto aún no se comprende por completo. Es importante tener en cuenta que esta toxina, que es rápidamente inactivada por la enzima tripsina, es extremadamente sensible a su acción. Esta propiedad es crucial para comprender la patogenia de las enfermedades relacionadas con las toxinas beta **(Maxie , Kennedy, & Palmer's, 2016)**

Toxina Iota. Es una toxina binaria que está conformada por la toxina Iota a y Iota b. Al igual que otras toxinas, es producida inicialmente al igual a una prototoxina inactiva y requiere la activación mediante enzimas proteolíticas para desencadenar su actividad tóxica. Esta activación enzimática es necesaria para que la toxina Iota sea funcional y ejerza sus efectos biológicos. **(Maxie , Kennedy, & Palmer's, 2016)**

Toxina Epsilon. Producida como una prototoxina relativamente inactiva, necesita ser activada a través de la digestión enzimática. La tripsina, la quimotripsina intestinal y la toxina lambda producida por la propia *C. perfringens* son las tres enzimas principales responsables de la activación de la prototoxina Epsilon. La toxina Epsilon es una toxina formadora de poros que causa principalmente efectos neurológicos y respiratorios. Aunque existe evidencia de que la toxina Epsilon puede tener un impacto directo en las neuronas del cerebro, estos efectos se atribuyen principalmente a un aumento de la permeabilidad vascular **(Maxie , Kennedy, & Palmer's, 2016).**

Las cepas de *C. perfringens* son parte de la microbiota normal del medio ambiente y del intestino de los bovinos. Sin embargo, ciertos factores, tales como cambios violentos en la alimentación o condiciones ambientales adversas, pueden perturbar el equilibrio de la microbiota intestinal y favorecer la proliferación excesiva de *C. perfringens* **(Uzal F et al., 2013)**. Es decir, es conocida por su gran cantidad de toxinas y enzimas catalíticas que contribuyen a su virulencia. Estas bacterias producen una variedad de enzimas hidrolíticas, también conocidas como toxinas menores, que desempeñan un importante rol para desencadenar el ciclo patológico en el animal. Siendo las siguientes enzimas: DNasa, Hemolisina, Colagenasa, Neuraminidasa, Hialuronidasa, Ureasa y Proteasa (Figura 2.). **(Goosens et al., 2017).**

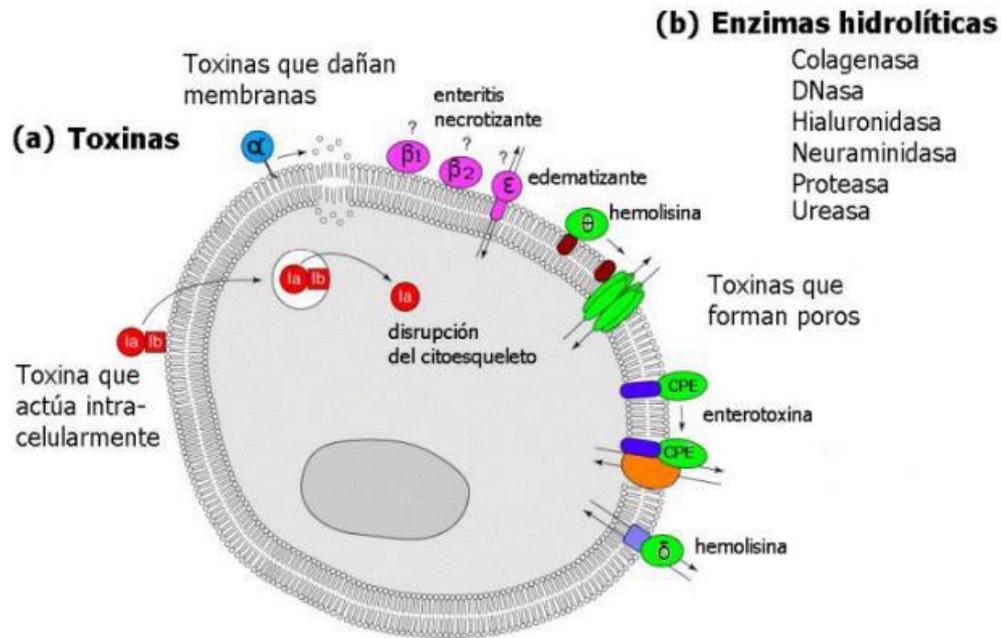


Figura 2. *Clostridium perfringens* (Cerquetti 2015)

D. Cuadro clínico

Las bacterias ingeridas o las ya existentes en el intestino pueden multiplicarse rápidamente y producir una gran cantidad de toxinas, que luego son absorbidas y provocan una disminución del peristaltismo intestinal cuando estos factores predisponentes están presentes. Los cambios en la dieta, como el exceso de alimentos consumidos, ya sean altos en proteínas o energía, el estrés y la presencia de numerosos parásitos son factores que pueden afectar el ambiente intestinal. Estas acciones modifican el entorno, dando como resultado grandes áreas de necrosis donde los clostridios encuentran un entorno favorable para su crecimiento (Cerviño Lopez, 2000).

E. Signos clínicos

Una característica notable de las enterotoxemias causadas por *Clostridium perfringens* es la rápida progresión de la enfermedad. En muchos casos, los animales afectados pueden parecer sanos y tener una buena condición corporal antes de presentar los síntomas. Sin embargo, una vez que aparecen los signos clínicos, la enfermedad puede avanzar rápidamente (Maxie, Kennedy, & Palmer's, 2016)

Los signos premonitorios pueden incluir decaimiento, fiebre, falta de coordinación, diarrea y convulsiones. Estos signos pueden ser indicadores de la presencia de toxinas en el cuerpo del animal y de la progresión de la enfermedad. La muerte del animal puede

ocurrir en un corto período de tiempo, a menudo dentro de las 5 horas siguientes a la aparición de los síntomas **(Valgaeren et al., 2013)**

El rápido progreso de la enfermedad es una característica distintiva de las enterotoxemias causadas por *C. perfringens* y es crucial actuar rápidamente para controlar la diseminación, así como también realizar un correcto tratamiento **(Valgaeren et al., 2013)**

2.2.3. PCR

La reacción en cadena de la polimerasa, también conocida como PCR para abreviar (reacción en cadena de la polimerasa), es una herramienta de biología molecular creada por Kary Mullis en 1986. (Bartlett & Stirling, 2003), todo el proceso de PCR se automatiza utilizando un dispositivo llamado termociclador, que ayuda a calentar y enfriar los tubos de reacción para regular la temperatura requerida en cada etapa de la reacción. La pared muy delgada de los tubos de PCR que facilita una buena conductividad térmica, lo que permite alcanzar rápidamente el equilibrio termodinámico. **(Sambrook, Fritsch, & Maniatis, 1989)**

2.3. Bases Conceptuales o Definición de Términos Básicos

2.3.1. Identificación molecular

Se centra en la estructura de los ácidos nucleicos, como el ADN o el ARN, para determinar la identidad de un organismo o una especie. Estas técnicas se centran en la evaluación de secuencias genéticas específicas o en la detección de marcadores moleculares únicos para cada organismo. **(Ward & Roy, 2005)**

El desarrollo de nuevas herramientas moleculares se ha visto facilitado por el descubrimiento de la PCR, la clonación, la secuenciación y la tecnología de detección de fluorescencia, así como por la accesibilidad a una gran cantidad de información en Internet. Su uso ha aumentado considerablemente la capacidad de identificar y cuantificar muchas bacterias emergentes, como *Escherichia coli* O157, *Helicobacter pylori* y *Campylobacter* sp **(Palomino Camargo & González Muñoz, 2014)**

2.3.2. Clostridium perfringens tipo D

La enterotoxemia tipo D es una importante enfermedad infecciosa que afecta a los rumiantes. pequeños en todo el mundo. Se desencadena después de la rápida multiplicación de *C. perfringens* tipo D en los intestinos, mayormente en respuesta a un cambio dietético repentino, como la introducción de un nivel superior de nutrición. Toxina Epsilon, una poderosa exotoxina producida por *C. perfringens* tipo D, se secreta como una

prototoxina temporalmente inactiva y es activada en los intestinos por proteasas del animal o de la *C. perfringens*. **(Jones, Dagleish, & Caldow, 2015)**

2.3.3. Ganado caprino

El conjunto de operaciones destinadas a la cría de *Capra aegagrus hircus* en beneficio de la actividad humana se conoce como producción caprina. **(Global Invasive Species Database, 2014).**

2.4. Bases epistemológicas

La base epistemológica para el siguiente trabajo es el positivismo, donde nos indica que todo concepto se obtiene a través de la experiencia y las hipótesis deben ser contrastadas.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1. **Ámbito**

El estudio se realizó en caprinos de unidades familiares ubicadas en el distrito de Papayal de la provincia de Zarumilla en la región de Tumbes. El distrito de Papayal es en efecto uno de los cuatro distritos que componen la provincia de Zarumilla, la cual se ubica al norte de la región de Tumbes. Limita al norte con los distritos de Zarumilla y Aguas Verdes, al este con Ecuador, al sur con el distrito de Matapalo y al oeste con la provincia de Tumbes. **(INDECI, 2008)**.

La identificación molecular se efectuó en las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología Molecular del I.S.T.P 24 de Julio de Zarumilla, localizado en la provincia de Zarumilla, departamento de Tumbes. Zarumilla está ubicada a una altitud de 11 m.s.n.m., tiene una temporada de lluvias durante el verano y seca en el periodo de invierno; no obstante, las precipitaciones están en aumento por el calentamiento global durante la estación lluviosa. En Zarumilla, la T° media al año es de 25.3 °C. La precipitación es de 421.2 mm al año. **(INDECI, 2008)**.



Figura 3. Ubicación del distrito de Zarumilla, región Tumbes **(Google Maps, 2023)**

3.2. Población

Los caprinos criollos de las unidades familiares, ubicados en el distrito de Papayal es la población en estudio, siendo una población de 250 cabezas de ganado caprino, esta información fue proporcionada por el presidente de la asociación de técnicos agropecuarios de Zarumilla (**Tec. Agrop. Cesar Panta Moran, 2023**).

3.2.1. Criterios de inclusión:

- Animales menores de un año de edad
- Animales con signos de diarrea
- Animales sin signos de diarrea
- Animales machos y hembras

3.2.2. Criterios de exclusión

- Animales mayores de un año
- Animales con tratamiento de antibiótico

3.3. Muestra

50 caprinos de la raza criolla, fueron considerados como el grupo y el tipo de muestreo será no probabilístico selectivo y por conveniencia.

3.4. Nivel y tipo de estudio

3.4.1. Tipo de investigación

Descriptivo y explicativo

3.4.2. Nivel De Investigación

Observacional y Transversal

3.5. Diseño de investigación.

No experimental

3.6. Método, técnica e instrumento

3.6.1. Método

Se utilizaron los métodos generales, tales como: deductivo, inductivo, analítico y sintético. Así como también el método científico.

3.6.2. Técnica

En el presente estudio se utilizarán diversas técnicas de microbiología, biotecnología molecular y bioinformática para la identificación molecular de la bacteria.

3.6.3. Instrumento

La ficha de registro para la toma de muestra (ANEXO 2) y ficha de registro para la identificación de los positivos a *Clostridium perfringens* (ANEXO 3), fueron los instrumentos para la presente investigación.

3.7. Validación y confiabilidad del instrumento

Las herramientas e instrumentos que se utilizaron se evaluaron por profesionales con conocimiento de la unidad de análisis dentro de una población de animales.

3.8. Procedimiento

3.8.1. Toma de muestra.

La recaudación de las muestras de heces fue previa coordinación con la asociación de productores de caprinos, con la finalidad de obtener sus permisos.

El muestreo se llevó a cabo teniendo en cuenta los criterios de exclusión y inclusión, los datos obtenidos fueron registrados en la ficha de registro para la toma de muestra de heces (ANEXO 2)

La toma de muestra se realizó de la manera más aséptica para evitar la contaminación. Dichas muestras fueron colectadas directamente del recto utilizando guantes estériles y fueron almacenadas en tubos eppendorf de 50 ml a una temperatura de 4°C. de un total de 50 animales, para luego ser llevadas al Laboratorio, para su respectivo procesamiento.

3.8.2. Aislamiento y purificación bacteriana

Para el cultivo bacteriano se utilizó 1 gr de heces, luego se alicuotó en un tubo de 15 ml con 10 ml de caldo Robertson's Cooked Meat (RCM), cada muestra por separado. El aislamiento bacteriano se realizó con una dilución de 50 uL de muestra más 950 uL de caldo RCM (dos veces).

Después del crecimiento de las bacterias, se realizó 4 purificaciones en placas Petri (Medio agar RCM) empleando el método de estrías. Inmediatamente se seleccionó una UFC (unidad formadora de colonia) según el tamaño, morfología y color. Posteriormente se vertió en un tubo eppendorf (1.5ml) el cual contenía 950 µL del medio de cultivo (caldo RCM), y llevadas a incubación a temperatura de 37°C durante 12 horas. Después de reactivar la cepa bacteriana se procedió a tomar una alícuota de 50 ul del medio que contenía la cepa y fueron llevadas a un nuevo tubo con el medio de cultivo (caldo RCM), repitiendo el mismo procedimiento antes mencionado.

3.8.3. Extracción de ADN genómico bacteriano

El Kit de Purificación de ADN microbiano PureLink™, fue utilizado para la extracción de ADN, las cantidades varían de acuerdo al tipo de muestra, según las instrucciones del fabricante.

a. Preparado del lisado

Primero se midió 2 ml de cultivo microbiano, luego se adiciono en un tubo Bead, seguido de 700 µL del Buffer Lisis (S1) y se vortexeó hasta dispersar la muestra en el líquido, después se añadió 100 µL del buffer Lysis Enhancer (S2) y se vortexeó brevemente, incubándose a 65°C por 10 minutos para luego ser centrifugado a 14,000 gravedades por 5 minutos, así mismo se transfirió 400 µL del líquido sobrenadante a un nuevo tubo de microcentrifuga, se añadió 250 µL Buffer de Limpieza (S3) para ser vortexeado y centrifugado a 14,000 g por 2 minutos, 500 µL del líquido sobrenadante fue transferido otro tubo de microcentrifuga.

b. Unión del ADN a la columna

Se adicionó 900 µL de Buffer de Unión (S4) y se agitó brevemente, se tomó 700 µL de la mezcla de muestra en un conjunto de tubo de columna giratorio y fue centrifugado a 14,000 gravedades durante 1 minuto. Se repitió los pasos hasta terminar con la muestra restante.

c. Lavado y elución del ADN

El tubo de columna se colocó en un microtubo de recolección nuevo para luego agregar 500 µL de Buffer de lavado (S5), luego se centrifugó a 14,000 gravedades durante 1 min. Se desechó dicho flujo y nuevamente se llevó a la centrifuga. La columna giratoria se colocó en un microtubo nuevo, se añadió 50 µL de Tampón de Elución (S6), seguido de una incubación a T° ambiente por 1 min Posteriormente se llevó a la centrifuga el conjunto de tubo de columna giratorio a 14,000 gravedades durante 1 min, luego se descartado la columna y el ADN purificado se queda en el tubo.

3.8.4. Reacción en cadena polimerasa (PCR)

a. Cebadores o iniciadores:

Para el diseño de primers se realizó una búsqueda bibliográfica utilizando la página PubMed, de artículos de trabajos de investigación. Con el fin de identificar la secuencia de nucleótidos de la toxina épsilon. Los primers se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Lista de nucleótidos que conforman el primers para la toxina épsilon.

Épsilon	etx-F	TTAGCAATCGCATCAGCGGT	688 bp	(Salik , et al., 2017)
	etx-R	TCTCTCCCCATTCACTTCCAC		

A su vez se realizó la validación de dichas secuencias con la herramienta Primers-BLAST del centro nacional de información biotecnológica (NIH), Pubmed (Anexo 4).

b. Procedimiento:

Para la amplificación de la toxina épsilon se utilizó la técnica de PCR, usando el ADN obtenido en el proceso anterior. El volumen final de los mix fue de 25 µL, conteniendo: 2.5 µL MgCl₂ a 25mM, 2.5 µL de Buffer 10X (10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 16.2 µL Agua ultra pura, 0.5 µL dNTPs a 10mM, 0.6 µL Primer Forward, 0.6 µL Primer Reverse, 0.1 µL Taq DNA polimerasa y 2 µL de ADN bacteriano.

El termociclador fue programado de la siguiente manera: 35 ciclos, t° de pre desnaturalización 95°C/5 min; 35 ciclos de desnaturalización a 95°C /30 seg; la etapa de hibridación fue a 58°C/ 45 seg; polimerización 72°C/1 min y finalmente la etapa de extensión fue de 72°C/4 min (BIOMETRA UNO-Thermoblock).

3.8.5. Electroforesis

Los amplicones obtenidos de la PCR, se observaron utilizando la técnica de electroforesis en gel de agarosa al 1.5%. Fue preparado de la siguiente manera: se pesó al 1.5gr de agarosa y fue disuelto en 100 mL de TAE 1X, se sometió a fuego bajo para diluir por completo el gel, después se enfrió hasta llegar a una temperatura ambiental, para adicionar 0.5 µg/mL Bromuro de Etidio, inmediatamente se vertió a la cubeta para su solidificación, finalmente una vez solidificado se retiró cuidadosamente el molde. En una superficie lisa los productos de la PCR (ADN microbiano) fueron mezclados con el azul de Bromofenol que es un tapón de depósito, luego la mezcla fue depositada cuidadosamente en la cubeta de electroforesis. La fuente de poder fue programada a 90 voltios/ 30 min. El gel se observó en un equipo llamado transiluminador, los resultados observados fueron anotados en la ficha de registro para la identificación de los positivos a *Clostridium perfringens* (ANEXO N°3)

Los residuos obtenidos en el proceso, fueron separados en función a su estado (líquido, sólido o gel), y desechados en su respectivo contenedor.

3.9. Tabulación y análisis de datos estadístico

3.9.1. Tabulación

La tabulación consistió en procesar los datos acopiados para la variable dependiente, con la finalidad de resolver las hipótesis planteadas.

3.9.2. Análisis de datos

Los datos estadísticos fueron procesados con el programa SPSS 24 y se utilizó la prueba Chi-cuadrado(χ^2) para la estadística inferencial.

3.10. Consideraciones éticas

El presente trabajo se realizó con una estricta consideración del bienestar animal, y tuvo en cuenta las cinco libertades que deben de tener los animales bajo control humano. Libre de miedo y ansiedad; libre del dolor, lesiones y enfermedades; Libres para expresar su comportamiento natural y típico de su especie; libre de malestar físico y psicológico y libre hambre, la sed y la desnutrición. **(OMSA, 2023)**

Por otro lado, se les informó a los propietarios el procedimiento del proyecto, así como también se les mencionó que los resultados no serán publicados sin su consentimiento.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

4.1. Estadística descriptiva

Tabla 3.

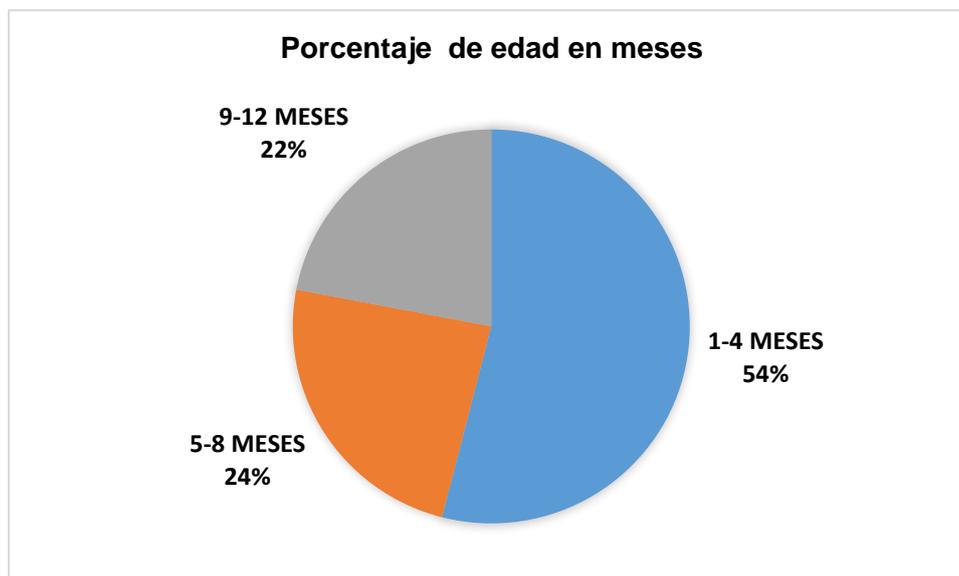
Frecuencia de animales menores de 1 año del distrito de Papayal -Tumbes.

Edad	Frecuencia	Porcentaje(%)
1-4 meses	27	54
5-8 meses	12	24
9-12 meses	11	22
Total	50	100

*Anexo 04

Gráfico 1

Porcentaje (%) de animales menores de 1 año del distrito de Papayal -Tumbes



Interpretación. En la tabla 01 y gráfico 01, se observa la frecuencia y porcentaje (%) de animales menores de 1 año muestreados en el distrito de Papayal –Tumbes, en el trabajo se muestreo 50 animales, de la cuales 27(54%) fueron de 1 – 4 meses, 12(24%) fueron 5 – 8 meses y 11 (22%) fueron de 9 – 12 meses.

Tabla 4.

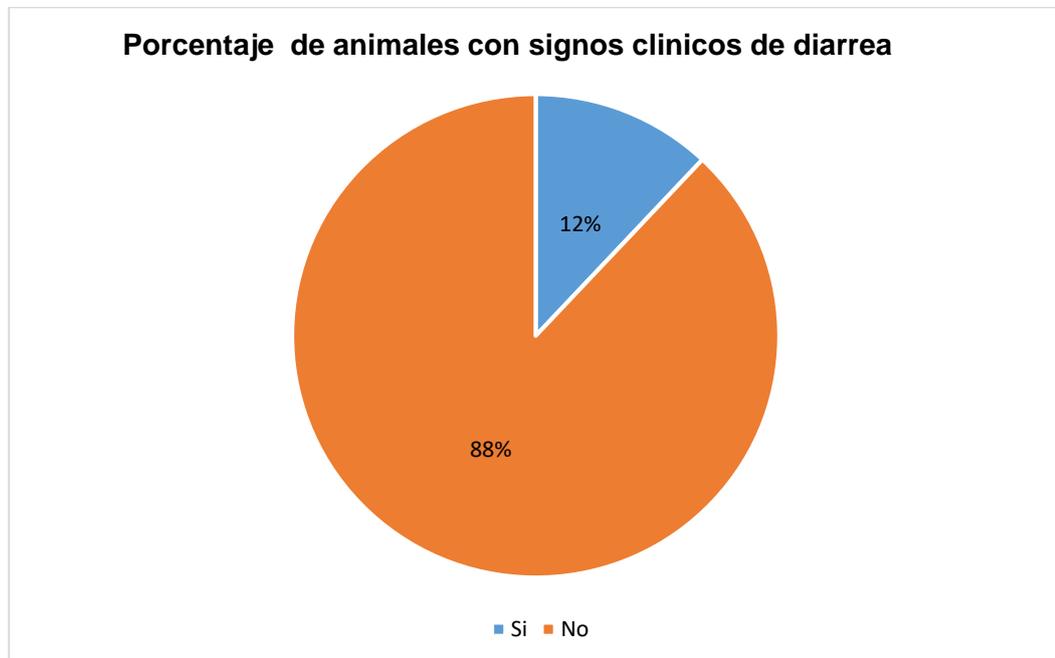
Frecuencia de animales con presencia de signos clínicos de diarrea en el distrito de Papayal -Tumbes.

Signos De Diarrea	Frecuencia	Porcentaje %
Si	6	12
No	44	88
Total	50	100

*Anexo 5

Gráfico 2.

Porcentaje (%) de animales con signos clínicos de diarrea en el distrito de Papayal-Tumbes



Interpretación. En la tabla 2 y gráfico 2 se observa la frecuencia y porcentaje (%) de los animales con presencia de signos clínicos de diarrea en el distrito de Papayal - Tumbes, durante el periodo de evaluación se muestreo 50 animales, de las cuales 6(12%) presentaron signos de diarrea y 44(88%) no presentaron signos de diarrea.

Tabla 5.

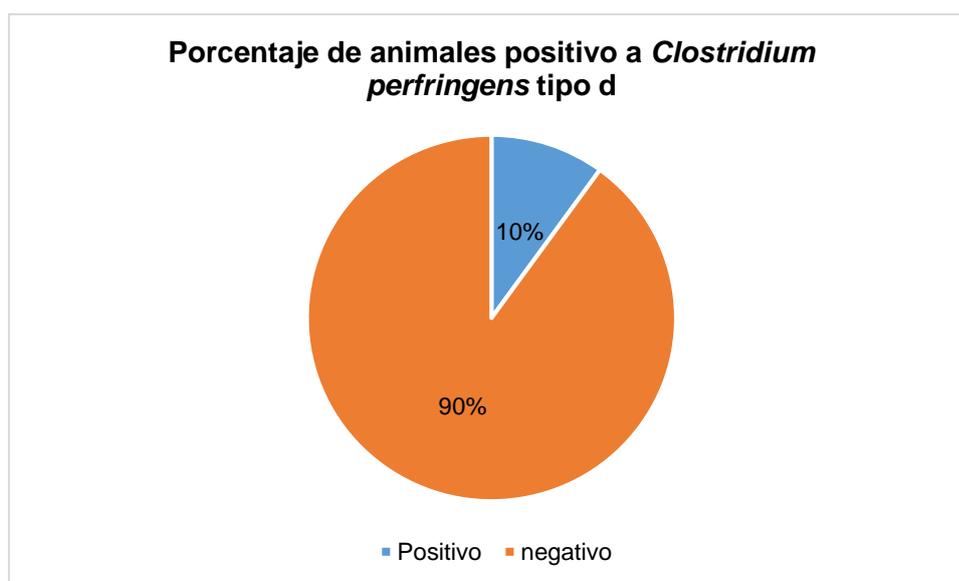
Prevalencia de Clostridium perfringens tipo D en caprinos criollos en el distrito de Papayal, Tumbes.

<i>Clostridium perfringens</i> tipo D	Frecuencia	porcentaje(%)
Positivo	5	10
negativo	45	90
Total	50	100

*Anexo 6

Gráfico 3.

Porcentaje (%) de animales positivos a Clostridium perfringens tipo D en el distrito de Papayal-Tumbes



Interpretación. En la tabla 3 y gráfico 3 se observa la prevalencia de *Clostridium perfringens* Tipo D en el distrito de Papayal- Tumbes, de las 50 muestras evaluadas 5(10%) resultaron positivos y 45(90%) resultaron negativas.

4.2. Estadística inferencial

Tabla 6.

Prevalencia de Clostridium perfringens tipo D en caprinos criollos en el distrito de Papayal, Tumbes. Según la edad.

EDAD	PREVALENCIA DE <i>Clostridium perfringens</i> Tipo D
1-4 MESES	6 %
5-8 MESES	4 %
9-12 MESES	0%
<i>p</i>	0.396

*Anexo 7

Interpretación: La prevalencia de *Clostridium perfringens* en animales 1 – 4 meses es 6 %, 5 – 8 meses es de 4 % y de 9 – 12 meses es 0%. No existiendo significancia estadística ($p=0.396$), por lo tanto, se acepta la hipótesis nula, es decir la enfermedad no tiene predisposición por la edad del animal.

Tabla 7

Prevalencia de Clostridium perfringens tipo D en caprinos criollos en el distrito de Papayal, Tumbes. Según la presencia del signo de diarrea.

Signos De Diarrea	PREVALENCIA DE <i>Clostridium perfringens</i> Tipo D
Si	2 %
No	8 %
<i>p</i>	0.562

Interpretación: La prevalencia de *Clostridium perfringens* Tipo D en animales con signos de diarrea es 2% y en animales que no presentaron diarrea es de 8%, No existiendo significancia estadística ($p=0.562$), por consiguiente, se afirma la hipótesis nula, es decir el signo clínico de diarrea no está relacionada con la presentación de *Clostridium perfringens* tipo D.

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

Salik et al., (2017) demostró que la presencia del *Cl. perfringens* toxinotipo D (46,16 %) fue superior a la del (15,38 %) *Cl. perfringens* toxinotipo A en caprinos jóvenes. En cabras adultas, el 58,33% eran portadoras del toxinotipo A, mientras que ninguna de las muestras de cabras adultas reveló la presencia del toxinotipo D de *Cl. perfringens*. Mientras que, en la presente investigación, se identificó una prevalencia de 6% en animales de uno a cuatro meses de edad, 4% en animales de cinco a ocho meses de edad y no se encontró positivos en animales mayores de 8 meses. Por lo tanto, nuestros resultados nos indican que no se encontró diferencia significativa del *Clostridium perfringens* toxinotipo D con la edad del animal. En estudios realizados por Mudassar et al., (2020), indicaron que *C. perfringens* tipo D prevalece tanto en animales sanos como enfermos. Alrededor del 18% de los aislamientos de ovinos y caprinos tanto sanos como enfermos pertenecen al tipo D de *Cl. perfringens*. Tal como se demostró en el trabajo realizado, en el que la prevalencia de *Clostridium perfringens* Tipo D en animales con signos de diarrea fue de 2% y en animales que no presentaron diarrea fue de 8%, No existiendo significancia estadística ($p=0.562$), por lo tanto, el signo clínico de diarrea no está relacionada con la presentación de *Clostridium perfringens* tipo D. En los rumiantes, este toxinotipo normalmente está presente en el intestino, aunque diferentes estudios han aislado este tipo de *Clostridium* en menos del 20% de los animales y en algunas granjas, no se encontró ningún toxinotipo tipo D (Uzal F. , 2013).

CONCLUSIONES

La enterotoxemia provocada por el *Cl. perfringens tipo D* es una de las enfermedades frecuentes que ataca tanto al ganado caprino y ovino. El presente estudio demostró que *Cl. perfringens* toxinotipo D tiene una prevalencia del 10% en los caprinos criollos (*Capra hircus*) del distrito de Papayal, Tumbes.

Diferentes estudios mencionan que el toxinotipo D del *Clostridium perfringens* es el microorganismo que tiene más prevalencia en caprinos jóvenes, sin embargo, el presente estudio concluyó que animales de 1 – 4 meses (4%) y 5 – 8 meses, (6%) pueden presentar el toxinotipo D.

Así mismo; el signo clínico de diarrea puede ser causado por diferentes microorganismos. No obstante, se demostró que tantos animales que presentan signos clínicos de diarrea (2%) y los que no presentan ningún signo clínico de diarrea (8%), pueden presentar el toxinotipo D del *Clostridium perfringens*.

Se concluye que, no existe significancia estadística, consecuentemente, se confirma la hipótesis nula en ambos objetivos, eso significa que la edad y los signos clínicos de diarrea no tiene predisposición a la presentación de la enfermedad.

RECOMENDACIONES

Se recomienda utilizar un mayor número de unida de estudio o diseño muestral

Utilizar métodos como kits de extracción de ADN Genómico directamente de las heces y utilizar la técnica de Pcr multiplex para poder identificar los diferentes toxinotipos de *Clostridium perfringens*.

Implementar la técnica PCR LAMP, que nos permitirá la detección rápida de este microorganismo y, por consiguiente, poder actuar a tiempo frente a la enfermedad.

Realizar investigaciones en hembras gestantes mediante análisis moleculares para prevenir el nacimiento de crías con diferentes serotipos de *Clostridium perfringens*

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Álvarez Romero, J., & Medellín, R. (2005). *Vertebrados superiores exóticos en México: diversidad, distribución y efectos potenciales*. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto U020, México. D.F.
- Arroyo, O. (2007). Situación actual y proyecciones de la crianza de caprinos en el Perú. *XX Reunión ALPA. Cusco, Perú: Asociación Latinoamericana de Producción Animal*.
- Assis, R. A., Lobato, F. C., FACURY FILHO, E., UZAL, F., SANTANA, F., DIAS, L., & PARREIRAS, P. (2002). Isolation of *Clostridium perfringens* type D from a suckling calve with ulcerative abomasitis. *Archivos de Medicina Veterinaria*(2), 287-292.
- Bartlett , & Stirling. (2003). A Short History of the Polymerase Chain Reaction. *Methods Mol Biol*, 226, 3-6.
- Baums, C., Schotte, U., Amtsberg, G., & Goethe, R. (2004). Diagnostic multiplex PCR for toxin genotyping of *Clostridium perfringens* isolates. *Vet. Microbiol*, 100, 11-16.
- Benitez Guzman, J. V., & Rodríguez Cañón, J. N. (2022). *Mecanismo de acción de la toxina Alpha de Clostridium perfringens en la enterotoxemia bovina*. Ibagué Tolima.
- Blasco , J. (2010). Control and eradication strategies for *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. *Prilozi*, 31(1), 145-165.
- Bokori, M., Titball, R. W., Christos, G., Fernandes da Costa, S. P., Naylor, C. E., & Basak, A. K. (2011). Molecular basis of toxicity of *Clostridium perfringens* epsilon toxin. *Biosciences, College of Life and Environmental Sciences*.
- Borriello, S., Larson, H., Welch, A., Barclay, F., Stringer, M., & Bartholomew, B. (1984). Enterotoxigenic *Clostridium perfringens*: a possible cause of antibiotic-associated diarrhoea. *Lancet*, 8372, 305-307.
- Boyazoglu , J., Hatziminaoglou , I., & Morand-Fehr , P. (2005). The role of the goat in society: past, present and perspectives for the future. *Small Ruminant Res*, 60, 13-23. doi:doi: 10.1016/j.smallrumres.2005.06.003
- Bradford , P. (2010). *Medicina interna de grandes animales*. Obtenido de file:///C:/Users/acer/AppData/Local/Temp/Rar\$D1b12352.29833/M3d1c1n4 Int3rn4 d3 G4nd3s An1m4l3s 2010.pdf
- Briolat , V., & Reysset , G. (2002). Identification of the *Clostridium perfringens* Genes Involved in the Adaptive Response to Oxidative Stress. *J Bacteriol*, 23-33.
- Brooks , G., Butel , J., & Morse , M. (1998). Microbiología médica. *Jawetz, Melnick, y Aldergerg*, 16va, 230-231.
- Cerviño Lopez , M. (s.f.). Enterotoxemias en ganado vacuno. *Schering- Plough SA*.
- Consuelo , M., & Rojo , M. (2003). *Clostridium perfringens: INFECCIONES DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS*.

- Cornillot, E., Saint Joanis, B., Daube,, G., Katayama, S., Granum, P., & Canard, B. (1995). The enterotoxin gene (cpe) of *Clostridium perfringens* can be chromosomal or plasmidborne. *Mol Microbiol*, 15, 639-647.
- Essig , A., & Longbottom , D. (2015). Chlamydia abortus: New aspects of infectious abortion in sheep and potential risk for pregnant women. *Curr Clin Micro*, 2, 22-34.
- Flores , M., Pérez , R., Basurto , M., & Jurado, M. (2009). La leche de cabra y su. *Tecnociencia Chihuahua*, 3, 107-113.
- Gajdács, M., Spengler, G., & Urbán, E. (2017). Identification and antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria: Rubik's cube of clinical microbiology? *Antibiotics*, 6, 25.
- Gamboa Coronado, M., Inchaustegui , S. M., & Rodríguez Cavallini, E. (2011). Caracterización molecular y resistencia antimicrobiana de aislamientos de *Clostridium perfringens* de diferentes orígenes en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 59-60.
- Garrity, G., Winter , M., & Searless , D. (2001). Taxonomic outline of the prokaryotic genera. *Bergey's Manual of Sytematic Bacteriology*, 1-41.
- Global Invasive Species Database*. (2014). Recuperado el 18 de Febrero de 2014, de Capra hircus: <http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?si=40&fr=1&sts=sss&lang=EN>
- Gómez Urviola, N. C., Gómez Urviola, J. w., Celi Mariátegui, I. D., Milán Sendra, M. J., & Jordana Vidal, J. (2016). *La cabra criolla peruana, situación actual y perspectivas conservacionistas*. Lima, Perú: Ediciones Universidad Cooperativa de Colombia, Bogotá.
- García De Jalón, C. (2000). Diarreas en corderos y cabritos. *PR*, 1(1), 8-14.
- Hadimli , H., Erganis, O., Sayin, Z., & Aras, Z. (2012). Toxinotyping of *Clostridium perfringens* isolates by ELISA and PCR from lambs suspected of enterotoxemia. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 36, 409-415.
- Hakan, K., Hasan, Ö., Necati, T., Burcu, K., Burak, K., Canan Akdeniz, İ., . . . Burhan, Ç. (2023). Detection and molecular characterization of *Clostridium perfringens*, *Paeniclostridium sordellii* and *Clostridium septicum* from lambs and goat kids with hemorrhagic abomasitis in Turkey. *BMC Veterinary Research*, 19(8), 1-8. doi:DOI.org/10.1186/s12917-023-03569-5
- Hassan , M., Hoque , M., Islam, S., Khan , S., Roy , K., & Banu , Q. (2011). A prevalence of parasites in Black Bengal goats in Chittagong, Bangladesh. *Bengal goats in Chittagong, Bangladesh*, 2, 40-44.
- Hauschild, A., & Hilsheimer, R. (1971). Purification and characteristics of the enterotoxin of *Clostridium perfringens* type A. *Can J Microbiol*, 1425-1433.
- IMPASTATO PLANELLES, M. (10 de 01 de 2020). Obtenido de <https://www.capraispana.com/apreciacion-de-la-edad-en-ovinos-y-caprinos/>
- INDECI. (2008). *ESTUDIOS DE PLAN DE USOS DEL SUELO ANTE DESASTRES Y MEDIDAS DE MITIGACIÓN*. TUMBES.
- INEI. (2021). *PERU: Panorama economico departamental*.
- Instituto nacional del cancer. (1 de Marzo de 2023). Obtenido de Reacción en cadena de la polimerasa:

<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/reaccion-en-cadena-de-la-polimerasa>

- Joclik, W. K., & Willett, H. (1991). Zinsser Microbiología. *Médica Veterinaria. Buenos Aires*, 861-871.
- Jones, A., Dagleish, M., & Caldow, G. (2015). Clostridium perfringens type-D enterotoxaemia. *Veterinary Record*, 1-6. doi:DOI: 10.1136/vr.103097
- Lebre, A., Velez, J., Seixas, D., Rabado, E., Oliveira, J., Saraiva da Cunha, J., & Silvestre, A. (2014). Brucellar spondylodiscitis: case series of the last 25 years. *Acta Med Port*, 27(2), 204-210.
- Li, J., Paredes Sabja, D., Sarker, M., & McClane, B. (2016). Clostridium perfringens Sporulation and Sporulation-Associated Toxin Production. *Microbiol Spectr*, 4(3).
- Li, J., Sayeed, S., & McClane, B. (2007). Prevalence of enterotoxigenic Clostridium perfringens isolates in Pittsburgh (Pennsylvania) area soils and home kitchens. *Appl. Environ. Microbiol*, 73, 7218-7224.
- Luna, L. (2009). *Genotipificación de cepas*. Perú: Tesis de.
- Madigan, M., Martinko, J., & Parker, J. (2001). Biología de los microorganismos. *Prentice Hall*, 8va.
- Miyakawa, F., & Uzal, M. E. (2005). Morphologic and physiologic changes induced by Clostridium perfringens type A alpha toxin in the intestine of sheep. *Am J Vet Res*, 251-257.
- Maxie, M., Kennedy, & Palmer's. (2016). Pathology of Domestic Animals. *Elsevier Inc*, 2.
- McClane, B., Uzal, Miyakawa, F., Wilkins, D. D., Falkow, S., Rosenberg, E., . . . Stackebrandt, E. (2006). The Enterotoxic Clostridia. *The Prokaryotes*, 688-752.
- Mendez, M. (2013). Regulación catabólica por carbono de los factores de patogenicidad de Clostridium perfringens relacionados con la gangrena gaseosa. *Universidad Nacional de Rosario*.
- MIDAGRI. (2015). *Ministerio de desarrollo agrario y riego*. Obtenido de <https://www.midagri.gob.pe/portal/>
- MIDAGRI. (2021). *Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego*. Obtenido de Dirección General de Evaluación y Seguimiento de Políticas - SIEA: https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1829/cap13/cap13.htm
- Milton, A., Agarwal, R., Bhuvana Priya, G., Saminathan, M., Aravind, M., Reddy, A., . . . Kumar, A. (2017). Prevalence and molecular typing of Clostridium perfringens in captive wildlife in India. *Anaerobe*, 44, 55-57.
- MINAGRI. (2015). *Ministerio de agricultura y riego*. Obtenido de Situación de las actividades de crianza y producción en caprinos: <http://minagri.gob.pe/portal/40-sector-agrario/situacion-de-las-actividades-de-crianza-y-produccion/299-caprinos?limitstart=0>
- Morris, W., & Fernández-Miyakawa, M. (2009). Toxinas de Clostridium perfringens. *Rev. argent. microbiol*, 41(4), 251-260.
- Mudassar, M., Zahid, I., Abubakar, S., Shenquan, L., Muhammad Khalid, F., Nanshan, Q., . . . Mingfei, S. (2020). Prevalence, Genotypic and Phenotypic Characterization and Antibiotic Resistance Profile of Clostridium perfringens Type A and D Isolated

- from Feces of Sheep (*Ovis aries*) and Goats (*Capra hircus*) in Punjab, Pakistan. *Toxins*, 12(10), 657. doi:DOI: 10.3390/toxins12100657.
- Niilo , L. (1973). Fluid secretory response of bovine Thiry jejunal. *Infect Immun*, 7, 1-4.
- Nilo, L. (1980). *Clostridium perfringens* in animal disease. *A review of current knowledge.*, 21, 141-148.
- Ohtani, K., & Shimizu, T. (2016). Regulation of toxin production in *Clostridium perfringens*. *Toxins (Basel)*, 8(7), 207.
- OMSA. (10 de Febrero de 2023). *Organizacion mundial de la salud animal* . Obtenido de OIE:
[https://www.woah.org/es/#:~:text=La%20Organizaci%C3%B3n%20Mundial%20de%20Sanidad%20Animal%20\(OMSA%2C%20fundada%20como%20OIE,sus%20pol%C3%ADticas%20y%20programas%20nacionales.](https://www.woah.org/es/#:~:text=La%20Organizaci%C3%B3n%20Mundial%20de%20Sanidad%20Animal%20(OMSA%2C%20fundada%20como%20OIE,sus%20pol%C3%ADticas%20y%20programas%20nacionales.)
- Ortega, P. V. (10 de Enero de 2019). *Peru lactea*. Obtenido de Crianza de Caprinos en Perú: <http://www.perulactea.com/2019/01/10/crianza-de-caprinos-en-peru/>
- Palomino Camargo, C., & González Muñoz, Y. (2014). Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. *SCIELO PERÚ*, 31(3), 534-546.
- Park , Y., & Haenlein , G. (2006). Manual de Manual de. *Acribia*, 456.
- Pérez, D., Maturrano, L., & Rosadio, R. (2012). Genotipificación y subtipificación molecular de cepas de *clostridium perfringens* aisladas en alpacas muertas por enterotoxemia. *Inv Vet Perú*, 23(3), 272-279.
- Pezo Carreon , D., Alarcón Bayona, V., Franco Febres , F., & Pacheco Curie , J. (2018). Inducción Secretoria de IgG, con toxina de *Clostridium perfringens* Tipo A para la reducción de. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 56-64.
- Pineda , Y., De Aponte , F., & Santander , J. (2004). AISLAMIENTO DE *Clostridium perfringens* EN UN TERNERO. *Rev Científica*, 14.
- Prescott, J. (2016). Brief Description of Animal. *Clostridial Diseases of Animals*, 13-19. doi:10.1002/9781118728291.ch3
- Redondo , L., Farber , M., Venzano , A., Jost , B., Parma , Y., & Fernandez Miyakawa , M. (2013). Sudden death syndrome in adult cows associated with *Clostridium perfringens* type E. *Anaerobe*. (20), 1-4.
- Rosadio , R., Maturrano , L., Pérez , D., Castillo , H., Véliz , Á., Luna, L., . . . Londoño , P. (2012). La patogénesis y prevención de la enterotoxemia de las alpacas . *Rev Inv Vet Perú* , 251-260 .
- Salik , N., Shakil A., W., Rafia, P., Showkat A. , A., Zahid A. , K., Syed , H., . . . Pervaiz A. , D. (2017). Isolation, molecular characterization and prevalence of *Clostridium perfringens* in sheep and goats of Kashmir Himalayas, India. *Veterinary World*, 10(14), 1501-1507. doi:DOI: 10.14202/vetworld.2017.1501-1507
- Sambrook, j., Fritsch, E., & Maniatis, T. (1989). *Molecular cloning:a Laboratory Manual*. *New York:Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,NY,USA*, 6.
- Satija, K., & Narayan, K. (1980). Passive bacteriocin typing of strains of *Clostridium perfringens* type A causing food poisoning for epidemiologic studies. *J Infect Dis*, 142, 899-902.

- Songer , J. (1996). Clostridial enteric diseases of domestic animals. *Clin Microbiol Rev*, 9(21), 16-34.
- Songer, J. G. (1996). Clostridial Enteric Diseases of Domestic Animals. *Clinical Microbiology Reviews*, 216-234. doi:10.1128/CMR.9.2.216
- Uzal , F. (2013). Enterotoxemia bovina. *Argentino Prod Anim*, 1(3), 1-3.
- Uzal, F. (2013). Enfermedades clostridiales de los rumiantes, con especial énfasis en bovinos. *XLI Jornadas Uruguayas*, págs. 65-70.
- Uzal, F., Plumb, J., Blackall, L., & Kelly, W. (1997). PCR detection of *Clostridium perfringens* producing different. *Letters in Applied Microbiology*, 26, 339–344.
- Valgaeren , B., Pardon , B., Verherstraeten , S., Goossens , E., Timbermont, L., & Haesebrouck , F. (2013). Intestinal clostridial counts have no diagnostic value in the diagnosis of enterotoxaemia in veal calves. *Vet Rec*, 237.
- Ward, P., & Roy, D. (2005). Review of molecular methods for identification, characterization and detection of bifidobacteria. *Lait*, 85, 23-32.
- Warren, A., Uzal, F., Blackall, L., & Kelly, W. (1999). PCR detection of *Clostridium perfringens* type D in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues of goats and sheep. *Letters in Applied Microbiology*, 29, 15–19.
- Wikipedia la enciclopedia libre* . (24 de Diciembre de 2022). Obtenido de Ganadería caprina: https://es.wikipedia.org/wiki/Ganader%C3%ADa_caprina
- Woo , P., Lau , S., Teng , J., Tse, H., & Yuen , K. (2008). Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infec*, 14(90), 8-34.

ANEXOS

ANEXO N° 1 Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		ESCALA DE MEDICIÓN	CATEGORÍA	INDICADOR	INSTRUMENTO
<p>P. GENERAL ¿Cuál es la prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D en heces de caprinos criollos (<i>Capra hircus</i>) del distrito Papayal, Tumbes?</p>	<p>O. GENERAL Determinar la prevalencia del <i>Clostridium perfringens</i> tipo D en heces de caprinos criollos (<i>Capra hircus</i>) del distrito de Papayal, Tumbes.</p>	<p>H. GENERAL Hi: Existe alta prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D en heces de caprinos criollos (<i>Capra hircus</i>) del distrito de Papayal, Tumbes Ho: Existe baja prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D en heces de caprinos criollos (<i>Capra hircus</i>) del distrito de Papayal, Tumbes</p>	VARIABLE DEPENDIENTE	Prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D	NOMINAL	Positivo=1 Negativo =2	PCR	Ficha de registro para la identificación de los positivos a <i>Clostridium perfringens</i> Anexo n°3
<p>P. ESPECÍFICOS ¿La edad de los caprinos criollos (<i>Capra hircus</i>) del distrito Papayal, Tumbes es un factor predisponente en la prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D? ¿El signo clínico de diarrea de los caprinos criollos (<i>Capra hircus</i>) del distrito Papayal, Tumbes se encuentra relacionada a la prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D?</p>	<p>O. ESPECÍFICOS Evaluar si la edad de los caprinos criollos (<i>Capra hircus</i>) del distrito Papayal, Tumbes es un factor predisponente en la prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D. Conocer si el signo clínico de diarrea de los caprinos criollos (<i>Capra hircus</i>) del distrito Papayal, Tumbes se encuentra relacionada a la prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D.</p>	<p>H. ESPECÍFICOS Hi: La edad de los caprinos criollos (<i>Capra hircus</i>) del distrito Papayal, Tumbes si es un factor predisponente en la prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D Ho: La edad de los caprinos criollos (<i>Capra hircus</i>) del distrito Papayal, Tumbes no es un factor predisponente en la prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D Hi: El signo clínico de diarrea de los caprinos criollos (<i>Capra hircus</i>) del distrito Papayal, Tumbes si se encuentra relacionada a la prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D Ho: Hi: El signo clínico de diarrea de los caprinos criollos (<i>Capra hircus</i>) del distrito Papayal, Tumbes no se encuentra relacionada a la prevalencia de <i>Clostridium perfringens</i> tipo D</p>	VARIABLE INDEPENDIENTE	La edad de caprinos Signos clínicos de diarrea	ORDINAL NOMINAL	1-4 MESES=1 5-8 MESES=2 9-12 MESES= 3 SI=1 NO=2	Observación de la Dentición Observación de la Consistencia de las heces	Ficha de registro para la toma de muestra Anexo n°2 Ficha de registro para la toma de muestra Anexo n°2

ANEXO N°2

ANEXO N°2 FICHA DE REGISTRO PARA LA TOMA DE MUESTRA DE HECES

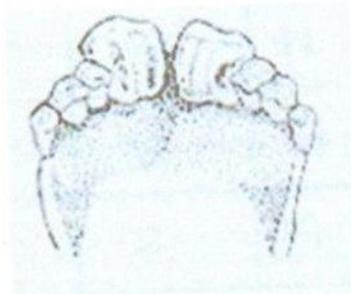
M	PROPIETARIO	CARACTERISTICAS	PRESENCIA DE DIARREA	CONDICION CORPORAL	EDAD (MESES)	SEXO
1	Arturo Meñez	Negro pato Marrones	No	3	10	H
2	Arturo Meñez	Pecho Blancas	No	3	10	H
3	Arturo Meñez	Crema.	No	2	9	M
4	Arturo Meñez	Blancas manchado en la cabeza.	No	2	11	H
5	Arturo Meñez	Patos Marrones	No	3	10	H
6	Arturo Meñez	Blancas	No	1	7	H
7	Arturo Meñez	Negro Cabeza Marron.	No	3	11	H
8	Arturo Meñez	Blancos/Negros.	SI	2	7	H
9	Arturo Meñez	Negro	No	1	9	M
10	Arturo Meñez	Ojos Blancos	No	2	5	H
11	Arturo Meñez	Negro con Cuernos.	No	1	5	H
12	Arturo Meñez	Espalda Negra	No	2	4	H
13	Arturo Meñez	Cabeza Marron	SI	2	3	H
14	Arturo Meñez	Blancas patos Marrones.	No	1	4	H
15	Arturo Meñez	Cabeza Marron patos Blancas.	No	2	3	H
16	Arturo Meñez	Blancas.	No	1	3	H
17	Arturo Meñez	Blancas habado.	No	2	2	M

18	Astero Heinz	Blanco Mateado	No	2	2	H
19	Astero Heinz	Pecho Marrón	No	1	1	H
20	Astero Heinz	Mateado	No	1	2	H
21	Garino	Borriga blanca.	No	2	7	H
22	Garino	Blanco Lan Cuerpo	No	2	9	H
23	Garino	Maso Plama	No	2	12	H
24	Garino	Calorado	No	2	7	H
25	Garino	Calorado Mateado	No	3	12	H
26	Garino	Casa Blanca	No	2	9	H
27	Garino	Calorado Mancho Borriga.	No	2	8	H
28	Garino	Calorado Orya Carbada.	No	2	8	H
29	Garino	Mateado	No	2	6	H
30	Garino	Calorado Cuerpo	No	3	7	H
31	Garino	Oena	No	2	4	H
32	Garino	Babaza blanca Calorado	No	3	6	H
33	Garino	Lamo Calorado.	No	2	3	H
34	Garino	Negra.	No	2	4	M
35	Garino	Lamo Negra.	No	1	3	M

36	Corvino	Calorado de Ojos blancos	SI	1	3	H
37	Corvino	Patos Blancos.	No	1	4	H
38	Corvino	Negro patos blancos	No	3	2	M
39	Corvino	Negro Lamo Mavran.	No	J	J	M
40	Corvino	Calorado Patos Blancos.	No	2	1	M
41	Corvino	Calorado Patos blancos	No	1	1	H
42	Corvino	Negro Matabado	No	2	2	M
43	Corvino	Negro Mancha Cabeza	SI	1	2	H
44	Corvino	Negro Patos Mavranes	SI	1	3	M
45	Juan t.	P Lamo Matabado	No	3	7	M
46	Juan tandaza	P Lamo Ojos blancos	No	2	3	H
47	Juan tandaza	Lamo Negro Matabado	No	3	3	M
48	Juan tandazo	Patos Blancos	No	J	2	H
49	Juan tandazo	Bovigo blanca.	No	2	4	H
50	Juan Tandazo	Bovigo Mavran.	No	1	2	M

DETERMINACIÓN DE LA EDAD CAPRINOS 2 DIENTES DE LECHE

- ❖ Al mes : Posesión de todos los incisivos caducos.
A los tres meses: Evolución total de los incisivos, alcanzando la arcada su redondez característica. Ver figura.
- ❖ De 6 a 7 meses: Rasamiento de los primeros medianos.
- ❖ De 8 a 9 meses: Rasamiento de los segundos medianos.
- ❖ De 10 a 12 meses: Rasamiento de los extremos (**IMPASTATO PLANELLES, 2020**)



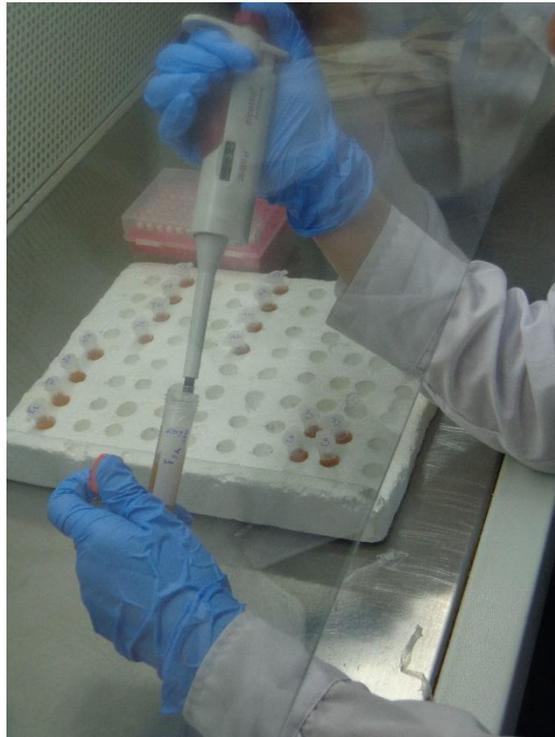
ANEXO N° 3

**ANEXO N°3 FICHA DE REGISTRO PARA LA IDENTIFICACION DE LOS POSITIVOS A
Clostridium perfringens TIPO D POR LA TECNICA DE PCR**

MUESTRA	POSITIVO	NEGATIVO
1	-	
2	-	
3	-	
4	-	
5	-	
6		+
7	-	
8	-	
9	-	
10	-	
11	-	
12	-	
13	-	
14	-	
15	-	
16	-	
17	-	
18	-	
19	-	
20	-	
21	-	
22	-	
23	-	
24	-	
25	-	
26	-	
27	-	
28	-	
29		+
30	-	
31	-	
32	-	
33	-	
34	-	
35	-	
36	-	
37		+
38		+
39	-	
40	-	

41	-	
42	-	
43		+
44	-	
45	-	
46	-	
47	-	
48	-	
49	-	
50	-	

ANEXO N°4. Aislamiento y purificación bacteriana



ANEXO N°5. Plataforma bioinformática para el diseño de primers (Primers-BLAST)

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Log In

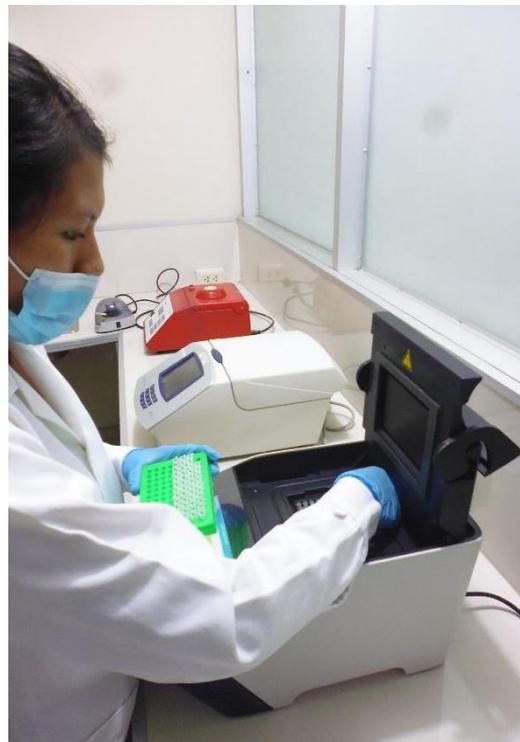
Primer-BLAST » JOB ID:fXejeL8Faq2Vv7eWuvaTpMDtpbt_pml7A

Graphical view of primer pairs

Detailed primer reports

Primer pair 1	Sequence (5'->3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TTAGCAATCGCATCAGCGGT	Plus	20	119	138	60.46	50.00	4.00	3.00
Reverse primer	TCTCTCCCATTCACCTCCAC	Minus	21	806	786	59.09	52.38	2.00	0.00
Product length	688								

ANEXO N°6 Reacción en cadena de la polimerasa



ANEXO N° 7. Frecuencia de edades en meses

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	1-4 MESES	27	54,0	54,0	54,0
	5-8 MESES	12	24,0	24,0	78,0
	9-12 MESES	11	22,0	22,0	100,0
	Total	50	100,0	100,0	

ANEXO N° 8. Frecuencia de animales con signos clínicos de diarrea

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SI	6	12,0	12,0	12,0
	NO	44	88,0	88,0	100,0
	Total	50	100,0	100,0	

ANEXO N° 9. Porcentaje de animales positivos a *Clostridium perfringens* tipo D

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	POSITIVO	5	10,0	10,0	10,0
	NEGATIVO	45	90,0	90,0	100,0
	Total	50	100,0	100,0	

ANEXO N°10 Tabla cruzada

			CL. PERFRINGENS TIPO D		Total
			POSITIVO	NEGATIVO	
EDAD EN MESES	1-4 MESES	% dentro de EDAD EN MESES	11,1%	88,9%	100,0%
		% dentro de CL. PERFRINGENS TIPO D	60,0%	53,3%	54,0%
		% del total	6,0%	48,0%	54,0%
	5-8 MESES	% dentro de EDAD EN MESES	16,7%	83,3%	100,0%
		% dentro de CL. PERFRINGENS TIPO D	40,0%	22,2%	24,0%
		% del total	4,0%	20,0%	24,0%
	9-12 MESES	% dentro de EDAD EN MESES		100,0%	100,0%
		% dentro de CL. PERFRINGENS TIPO D		24,4%	22,0%
		% del total		22,0%	22,0%
Total	% dentro de EDAD EN MESES		10,0%	90,0%	100,0%
	% dentro de CL. PERFRINGENS TIPO D		100,0%	100,0%	100,0%
	% del total		10,0%	90,0%	100,0%

NOTA BIOGRÁFICA



Bachiller Gabriela Raquel, Sucapuca Santos, nació en el Distrito de Yanahuanca Provincia Daniel Alcides Carrión del Departamento de Pasco en el año 1992, en un hogar conformado por sus padres, 5 hermanas mujeres y 1 hermano varón, siendo la última. Cuando tenía 8 años lamentablemente mi padre falleció con una enfermedad cancerita, Desde entonces mi madre nunca se rindió.

Cuando era niña tenía una meta, tener una carrera profesional siguiendo el ejemplo de mis hermanas mayores, es así que termine mis estudios primarios en la Institución Educativa 35004 "Santo Domingo Savio"; mis estudios secundarios en la IE Ernesto Diez Canseco de Yanahuanca y mis estudios universitarios en la Universidad nacional Hermilio Valdizan de Huánuco, en la carrera de Medicina Veterinaria, obteniendo el grado de bachiller el año 2016, en el 2017 viaje a la ciudad de Tumbes para realizar mis estudios de posgrado en la universidad de Tumbes, tuve el grado de magister en el año 2020.

En el transcurso de mis estudios de posgrado conocí a mi esposo y tuve una hija, actualmente tengo una familia muy unida.

En la actualidad me gustaría seguir en el mundo de la investigación aplicado a la medicina veterinaria, ya que es una herramienta para contribuir con el desarrollo del Perú.



UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

El director de la Unidad de Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, que suscribe, hace constar:

Que el Informe de Tesis titulado: **“PREVALENCIA E IDENTIFICACION MOLECULAR DE *Clostridium perfringens* TIPO D EN HECES DE CAPRINOS CRIOLLOS (*Capra hircus*) DEL DISTRITO PAPAYAL, TUMBES”**, Presentado, por la Bachiller en Medicina Veterinaria, **SUCAPUCA SANTOS, Gabriela Raquel**, tiene un índice de similitud del **11%**, verificable en el reporte final del análisis de originalidad mediante el Software Turnitin. Se concluye que las coincidencias detectadas no constituyen plagio y cumple con uno de los requisitos estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional “Hermilio Valdizán” de Huánuco.

Huánuco, 29 de mayo del 2023

Dr. José Goicochea Vargas
Director de Investigación. FMVZ

NOMBRE DEL TRABAJO

**PREVALENCIA Clostridium perfringens,
TUMBES**

AUTOR

Gabriela Sucapuca Santos

RECUENTO DE PALABRAS

12224 Words

RECUENTO DE CARACTERES

73625 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

68 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

2.3MB

FECHA DE ENTREGA

May 29, 2023 7:01 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

May 29, 2023 7:02 PM GMT-5

● **11% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base

- 11% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 5% Base de datos de trabajos entregados
- 2% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Cros

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 12 palabras)
- Material citado



DR. JOSÉ FRANCISCO GOICOCHEA VARGAS
DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En la ciudad de Huánuco, Distrito de Pillco Marca, a los veintidós días del mes de julio del dos mil veinte y tres, a horas 9:00 am., se reunieron los miembros del jurado evaluador designados mediante Resolución N° 170-2023-UNHEVAL.FMVZ/D, de fecha 14.JUL.2023, a los docentes: Dr. Rosel Apaéstegui Livaque (**PRESIDENTE**); Mag. Teófanos Anselmo Canches Gonzáles (**SECRETARIO**); Dra. Ernestina Ariza Avila (**VOCAL**) y al Dr. Wilder Javier Martel Tolentino (**ACCESITARIO**), para la sustentación de tesis y optar el Título Profesional de Médico Veterinario titulado: "PREVALENCIA E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *Clostridium perfringens* TIPO D EN HECES DE CAPRINOS CRIOLLOS (*Capra hircus*) DEL DISTRITO PAPAYAL, TUMBES", presentado por la Bachiller en Medicina Veterinaria Gabriela Raquel SUCAPUCA SANTOS del programa de Fortalecimiento de Investigación PROFI - 2022 - II.

Que, según el Reglamento del Programa de Fortalecimiento en Investigación – PROFI de la Universidad Nacional Hermilio Valdizán - Huánuco, en su **CAPÍTULO XII DE LA SUSTENTACIÓN DE LA TESIS. Art. 48° y 52°**, se procedió a llevar a cabo la sustentación de tesis de **manera presencial** en el Auditorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, la misma que fue conformada por los siguientes docentes:

Mag. Teófanos Anselmo Canches Gonzales	PRESIDENTE
Dra. Ernestina Ariza Avila	SECRETARIA
Dr. Wilder Javier Martel Tolentino	VOCAL

Respondiendo las preguntas formuladas por los miembros del Jurado Evaluador y público, se finalizó el acto de defensa, en donde cada miembro del Jurado Evaluador procedió a la evaluación del aspirante a Médico Veterinario, teniendo presente los siguientes criterios:

- Presentación personal.
- Exposición:** el problema a resolver, hipótesis, objetivos, resultados, conclusiones, los aportes, contribución a la ciencia y solución a un problema social y recomendaciones.
- Grado de convicción y sustento bibliográfico utilizados para las respuestas a las interrogantes del Jurado Evaluador y público.
- Dicción y dominio de escenario.

Después del acto de sustentación, los miembros del Jurado Evaluador procedieron a la calificación correspondiente, obteniéndose el siguiente resultado:

APROBADO con la nota: DIECISIETE (17) con la mención de Muy Bueno

Con lo que se dio por concluido el acto y en fe de la cual firman los miembros del Jurado Evaluador.

Mag. Teófanos Anselmo Canches Gonzáles
PRESIDENTE

Dra. Ernestina Ariza Avila
SECRETARIA

Dr. Wilder Javier Martel Tolentino
VOCAL

LEYENDA:

RESULTADO: APROBADO Y DESAPROBADO - MENCIÓN SEGÚN ESCALA DE CALIFICACIÓN: (19 a 20: EXCELENTE); (17 a 18: MUY BUENO); (14 a 16: BUENO)

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DIGITAL Y DECLARACIÓN JURADA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR UN GRADO ACADÉMICO O TÍTULO PROFESIONAL

1. Autorización de Publicación: (Marque con una "X")

Pregrado	<input checked="" type="checkbox"/>	Segunda Especialidad		Posgrado:	Maestría		Doctorado	
----------	-------------------------------------	----------------------	--	-----------	----------	--	-----------	--

Pregrado (tal y como está registrado en SUNEDU)

Facultad	MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
Escuela Profesional	MEDICINA VETERINARIA
Carrera Profesional	MEDICINA VETERINARIA
Grado que otorga	-----
Título que otorga	MÉDICO VETERINARIO

Segunda especialidad (tal y como está registrado en SUNEDU)

Facultad	-----
Nombre del programa	-----
Título que Otorga	-----

Posgrado (tal y como está registrado en SUNEDU)

Nombre del Programa de estudio	-----
Grado que otorga	-----

2. Datos del Autor(es): (Ingrese todos los datos requeridos completos)

Apellidos y Nombres:	SUCAPUCA SANTOS GABRIELA RAQUEL				
Tipo de Documento:	<input type="checkbox"/> DNI	<input type="checkbox"/> Pasaporte	<input type="checkbox"/> C.E.	Nro. de Celular:	931266213
Nro. de Documento:	70086755			Correo Electrónico:	gabys1492@gmail.com

Apellidos y Nombres:					
Tipo de Documento:	<input type="checkbox"/> DNI	<input type="checkbox"/> Pasaporte	<input type="checkbox"/> C.E.	Nro. de Celular:	
Nro. de Documento:				Correo Electrónico:	

Apellidos y Nombres:					
Tipo de Documento:	<input type="checkbox"/> DNI	<input type="checkbox"/> Pasaporte	<input type="checkbox"/> C.E.	Nro. de Celular:	
Nro. de Documento:				Correo Electrónico:	

3. Datos del Asesor: (Ingrese todos los datos requeridos completos según DNI, no es necesario indicar el Grado Académico del Asesor)

¿El Trabajo de Investigación cuenta con un Asesor?: (marque con una "X" en el recuadro del costado, según corresponda)	SI	<input checked="" type="checkbox"/> X	NO
Apellidos y Nombres:	COTACALLAPA VILCA ALCIDES MELECIO		ORCID ID: https://orcid.org/0000-0001-7546-9864
Tipo de Documento:	<input checked="" type="checkbox"/> DNI	<input type="checkbox"/> Pasaporte	Nro. de documento: 01289184

4. Datos del Jurado calificador: (Ingrese solamente los Apellidos y Nombres completos según DNI, no es necesario indicar el Grado Académico del Jurado)

Presidente:	APAÉSTEGUI LIVAQUE ROSEL
Secretario:	CANCHES GONZALES TEÓFENES ANSELMO
Vocal:	ARIZA AVILA ERNESTINA
Vocal:	
Vocal:	
Accesitario	MARTEL TOLENTINO WILDER JAVIER

5. Declaración Jurada: (Ingrese todos los datos requeridos completos)

a) Soy Autor (a) (es) del Trabajo de Investigación Titulado: (Ingrese el título tal y como está registrado en el Acta de Sustentación)

PREVALENCIA E IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *Clostridium perfringens* TIPO D EN HECES DE CAPRINOS CRIOLLOS (*Capra hircus*) DEL DISTRITO PAPAYAL, TUMBES

b) El Trabajo de Investigación fue sustentado para optar el Grado Académico ó Título Profesional de: (tal y como está registrado en SUNEDU)

TITULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

c) El Trabajo de investigación no contiene plagio (ninguna frase completa o párrafo del documento corresponde a otro autor sin haber sido citado previamente), ni total ni parcial, para lo cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias.

d) El trabajo de investigación presentado no atenta contra derechos de terceros.

e) El trabajo de investigación no ha sido publicado, ni presentado anteriormente para obtener algún Grado Académico o Título profesional.

f) Los datos presentados en los resultados (tablas, gráficos, textos) no han sido falsificados, ni presentados sin citar la fuente.

g) Los archivos digitales que entrego contienen la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado.

h) Por lo expuesto, mediante la presente asumo frente a la Universidad Nacional Hermilio Valdizan (en adelante LA UNIVERSIDAD), cualquier responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido del Trabajo de Investigación, así como por los derechos de la obra y/o invención presentada. En consecuencia, me hago responsable frente a LA UNIVERSIDAD y frente a terceros de cualquier daño que pudiera ocasionar a LA UNIVERSIDAD o a terceros, por el incumplimiento de lo declarado o que pudiera encontrar causas en la tesis presentada, asumiendo todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse de ello. Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para LA UNIVERSIDAD en favor de terceros con motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido del trabajo de investigación. De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional Hermilio Valdizan.

6. Datos del Documento Digital a Publicar: (Ingrese todos los datos requeridos completos)

Ingrese solo el año en el que sustentó su Trabajo de Investigación: (Verifique la información en el Acta de Sustentación)			2023		
Modalidad de obtención del Grado Académico o Título Profesional: (Marque con X según Ley Universitaria con la que inició sus estudios)	Tesis	X	Tesis Formato Artículo		Tesis Formato Patente de Invención
	Trabajo de Investigación		Trabajo de Suficiencia Profesional		Tesis Formato Libro, revisado por Pares Externos
	Trabajo Académico		Otros (especifique modalidad)		

Palabras Clave: (solo se requieren 3 palabras)	<i>Clostridium perfringens</i> tipo D	PCR	Identificación molecular
--	--	-----	--------------------------

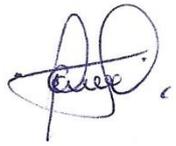
Tipo de Acceso: (Marque con X según corresponda)	Acceso Abierto	X	Condición Cerrada (*)	
	Con Periodo de Embargo (*)		Fecha de Fin de Embargo:	

¿El Trabajo de Investigación, fue realizado en el marco de una Agencia Patrocinadora? (ya sea por financiamientos de proyectos, esquema financiero, beca, subvención u otras; marcar con una "X" en el recuadro del costado según corresponda):	SI		NO	X
Información de la Agencia Patrocinadora:				

El trabajo de investigación en digital y físico tienen los mismos registros del presente documento como son: Denominación del programa Académico, Denominación del Grado Académico o Título profesional, Nombres y Apellidos del autor, Asesor y Jurado calificador tal y como figura en el Documento de Identidad, Título completo del Trabajo de Investigación y Modalidad de Obtención del Grado Académico o Título Profesional según la Ley Universitaria con la que se inició los estudios.

7. Autorización de Publicación Digital:

A través de la presente. Autorizo de manera gratuita a la Universidad Nacional Hermilio Valdizán a publicar la versión electrónica de este Trabajo de Investigación en su Biblioteca Virtual, Portal Web, Repositorio Institucional y Base de Datos académica, por plazo indefinido, consintiendo que con dicha autorización cualquier tercero podrá acceder a dichas páginas de manera gratuita pudiendo revisarla, imprimirla o grabarla siempre y cuando se respete la autoría y sea citada correctamente. Se autoriza cambiar el contenido de forma, más no de fondo, para propósitos de estandarización de formatos, como también establecer los metadatos correspondientes.

		
Firma:		
Apellidos y Nombres:	SUCAPUCA SANTOS GABRIELA RAQUEL	
DNI:	70086755	
Firma:		Huella Digital
Apellidos y Nombres:		
DNI:		
Firma:		Huella Digital
Apellidos y Nombres:		
DNI:		
Fecha: 28/08/2023		

Nota:

- ✓ No modificar los textos preestablecidos, conservar la estructura del documento.
- ✓ Marque con una X en el recuadro que corresponde.
- ✓ Llenar este formato de forma digital, con tipo de letra **calibri**, **tamaño de fuente 09**, manteniendo la alineación del texto que observa en el modelo, sin errores gramaticales (*recuerde las mayúsculas también se tildan si corresponde*).
- ✓ La información que escriba en este formato debe coincidir con la información registrada en los demás archivos y/o formatos que presente, tales como: DNI, Acta de Sustentación, Trabajo de Investigación (PDF) y Declaración Jurada.
- ✓ Cada uno de los datos requeridos en este formato, es de carácter obligatorio según corresponda.