



## Análisis por microscopía electrónica y difracción de rayos X de enterolitos de equinos en el valle de Aburrá, Antioquia, Colombia



Sergio Andrés Vélez Gil <sup>a</sup>

Juan José Patiño Marulanda <sup>a</sup>

José Ramón Martínez Aranzales <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Medicina Veterinaria. Línea de Investigación en Medicina y Cirugía Equina – LIMCE, Grupo de Investigación Centauro. Medellín, Colombia.

\* Autor de correspondencia: [jose.martinez@udea.edu.co](mailto:jose.martinez@udea.edu.co)

### Resumen:

El objetivo de este estudio fue determinar la composición mineralógica de enterolitos de equinos del Valle de Aburrá, Antioquia, Colombia. Muestras de ocho enterolitos de ocho caballos, fueron sometidas a análisis por Difracción de Rayos X Semicuantitativo (DRX) y microscopía electrónica de transmisión y barrido (METB). La METB de los enterolitos analizados reportó carbono, oxígeno, fósforo, magnesio, calcio, silicio, potasio, bromo, hierro, azufre y aluminio. A través de DRX se identificó estruvita, newberyta, kyanita, quartz low, actinolita, nitratina, cordierita, vivianita. Ambas técnicas empleadas en el análisis de los enterolitos se correlacionaron al coincidir los compuestos minerales, con los elementos químicos determinados. Los principales componentes minerales de los enterolitos fueron fosfatos de magnesio, siendo la estruvita y la newberyta los más comunes.

**Palabras clave:** Cólico, Enterolitiasis, Equino, Estruvita.

Recibido: 18/10/2023

Aceptado: 18/02/2024

## Introducción

Los enterolitos son concreciones derivados de precipitaciones de minerales alrededor de un núcleo o nido de material orgánico o inorgánico, localizado en el tracto gastrointestinal<sup>(1,2)</sup>. Estos cuerpos extraños poseen diversas formas, siendo los de

conformación esférica o tetraédrica e irregulares los más comunes, con diferentes tamaños y pesos<sup>(3)</sup>. Se han determinado regiones geográficas con alta predisposición a la formación de enterolitos debido a los componentes minerales específicos del suelo, del agua y especies vegetales<sup>(2-8)</sup>.

Factores de riesgo como las fuentes de agua y elevado consumo de heno de alfalfa con altos niveles de magnesio, nitrógeno y fósforo en la dieta, pueden contribuir a la formación de enterolitos, ya que la estruvita conformada por estos minerales predispone a su formación<sup>(9)</sup>. La alfalfa facilita la formación de óxido de magnesio al promover un pH alcalino, que favorece las condiciones para la deposición y formación de enterolitos; de allí que esta leguminosa en la dieta de los caballos se describe como un posible factor de riesgo. Entre otros factores involucrados se reportan, el ambiente, pH intestinal, hipomotilidad y la presencia de núcleos que hacen posible la formación de estos cuerpos extraños<sup>(1,8,10)</sup>.

Además de los factores predisponentes exógenos, se describen factores endógenos como la raza, sexo, edad y particularidades fisiológicas de los caballos para la presentación de enterolitos y fitobezoares<sup>(4,9)</sup>. Se reporta, por ejemplo, caballos con 15 años de edad tuvieron enterolitiasis en el colon mayor y de 13 años en el colon menor<sup>(3)</sup>; sin embargo, también se reportan en animales de todas las edades<sup>(2,4)</sup>, aunque es menos común en animales jóvenes por el tiempo requerido para su formación<sup>(7)</sup>.

La velocidad de formación de los enterolitos en el tracto intestinal es variable, ya que se relaciona con particularidades del microambiente luminal del colon, tipo de alimentación, principalmente concentrado y manejo en confinamiento<sup>(8,9,10)</sup>, forma del crecimiento a partir del núcleo y presencia de minerales y elementos traza<sup>(11)</sup>. Las alteraciones en el pH intestinal pueden contribuir tanto en la formación como en la disolución de los enterolitos, afectando de esta manera el tiempo de formación<sup>(1)</sup>. Ante estas situaciones, se requieren estudios encaminados a identificar y determinar la participación de factores predisponentes para establecer medidas preventivas adecuadas y evitar la solución quirúrgica como última instancia<sup>(12)</sup>. Por tal motivo, este estudio tuvo como objetivo evaluar la composición mineralógica a través de microscopía electrónica (elementos químicos) y difracción de rayos X (compuestos químicos) de enterolitos obtenidos de caballos en Colombia.

## Material y métodos

Se utilizaron enterolitos recolectados (extracción quirúrgica y excreción espontánea) de equinos (caballo Criollo colombiano y Silla argentina) con edades entre los 12 y 16 años, con alimentación a base de concentrado comercial, heno de Angleton (*Dichantium aristatum*), sal y agua a voluntad, ubicados en el Valle de Aburrá, Antioquia, Colombia. Una vez registrados fotográficamente, se pesaron y se clasificaron por aspecto, forma y tamaño; para posteriormente fragmentarlos con sierra eléctrica sinfín, permitiendo identificar su nido o núcleo central. Los cortes facilitaron la evaluación del color y características de la arquitectura interna como la textura y la porosidad. Se analizaron ocho muestras de enterolitos de igual número de caballos en laboratorios especializados en mineralogía, cristalografía o en caracterización de materiales; a través de la técnica de difracción de rayos X y por microscopía electrónica de transmisión y barrido (METB).

Fragmentos de enterolitos se procesaron para obtener su pulverización e inmediatamente ser colocados en el cristal de cuarzo para el análisis de composición mineralógica, a través de la técnica de difracción de rayos X semicuantitativo (DRX) (Empyrean® Serie II – Alpha 1, Modelo 2012, Madrid, Spain). El análisis de las fases cristalinas y cuantificación, se realizó con el software High Score Plus y base de datos PDF-4-2012, ICSD, para la identificación de fases. Con la configuración de reflexión estándar, ángulo  $2\theta - 5-80^\circ$ , paso:  $0.0263^\circ$ , tiempo: 46.359 seg. La identificación de los minerales se obtuvo por la comparación de los patrones de difracciones de las muestras de enterolitos con patrones estándares.

Por otro lado, muestras de los enterolitos se cortaron en láminas que fueron pulidas por ambos lados, para posteriormente deshidratarse en placa de calor y preparadas para procedimiento de rutina para ser examinadas con METB (Tecnai® G2 F20 de FEI), acoplado a un rayo X espectroscópico dispersivo, para el escaneo del material de estudio.

Los datos fueron tabulados y sistematizados en planillas de MS Excel, analizados con estadística descriptiva y presentados en tablas de frecuencia con reportes en porcentajes de los elementos y compuestos minerales en la composición de cada una de las muestras de enterolitos. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética para la Experimentación con Animales (CEEA) de la Universidad de Antioquia, Medellín – Colombia (protocolo No. 1062016).

## Resultados

El tamaño, forma y textura de los enterolitos recolectados se muestran en la Figura 1. Predominaron las formas esféricas, poliédricas e irregulares con superficies lisas, ásperas y porosas. La figura muestra, además, la textura macroscópica y por microscopía electrónica de algunos enterolitos. Los enterolitos presentaron tamaños entre 5 a 15 cm, peso de  $664.14 \pm 385.01$  g (máximo 1,157 g; mínimo: 127 g). Por otro lado, se identificó material de origen vegetal (fibra y semillas) en todos los núcleos de los enterolitos estudiados, al fragmentarlos con la sierra.

**Figura 1:** Enterolitos obtenidos de equinos

a) Forma, tamaño y textura de enterolitos. b) Imagen de microscopía electrónica de enterolitos, según la textura y conformación de los cristales de estruvita.

Los elementos químicos en porcentajes composicional reportados durante el análisis de cada enterolito por METB se muestran en el Cuadro 1. Los elementos con mayor porcentaje fueron el carbono (C) 46.06 %, oxígeno (O) 26.85 %, fósforo (P) 11.55 %, magnesio (Mg) 5.97 % y calcio (Ca) 3.71 %, habiendo minerales como silicio (Si) 2.74 %, potasio (K) 1.24 %, bromo (Br) 0.35 %, hierro (Fe) 0.71 %, azufre (S) 0.61 % y aluminio (Al) 0.17 %. La presencia de estos elementos varió entre los enterolitos, sobre todo los elementos considerados como trazas.

**Cuadro 1:** Composición porcentual de elementos minerales de enterolitos de ocho caballos procedentes del Valle de Aburrá, Antioquia, Colombia, analizado por microscopía electrónica de transmisión y de barrido (METB)

Enterolito	Elemento (%)										
	C	O	P	Mg	Ca	Si	K	Br	Fe	S	Al
1	31.86	21.07	32.46	12.32	0	0	2.29	0	0	0	0
2	38.07	30.61	11.32	2.56	13.96	2.88	0.60	0	0	0	0
3	57.46	24.00	3.27	1.27	4.12	4.37	1.35	0	1.98	1.48	0.71
4	27.16	27.22	30.18	13.29	0	0	2.15	0	0	0	0
5	61.81	23.79	1.18	0	1.18	9.37	0	2.66	0	0	0
6	32.56	30.45	7.13	11.23	5.21	3.56	2.34	0	3.45	3.40	0.67
7	63.45	27.04	2.34	4.23	1.56	1.23	0	0.15	0	0	0
8	56.12	30.67	4.56	2.89	3.67	0.56	1.23	0	0.30	0	0

Los compuestos determinados en cada enterolito por el análisis de DRX se muestran en el Cuadro 2. Los compuestos minerales con la mayor concentración fueron estruvita (fosfato amónico de magnesio hexahidrato  $[MgNH_4PO_4 \cdot 6H_2O]$ ) 78.68 %, newberyta (fosfato ácido de magnesio) 11.23 %, kyanita (silicato de aluminio) 3.18 %, quartz low (óxido de silicio) 2.36 %, actinolita (inosilicato) 2.15 %, nitratina (nitrato de sodio) 1.45 %, cordierita, (ciclocilicado de magnesio) 0.46 %, vivianita, (fosfato de hierro

hidratado) 0.45 %. Ninguna de las muestras estuvo compuesta por más de cinco de los compuestos encontrados.

**Cuadro 2:** Concentración porcentual de compuestos minerales de enterolitos de caballos procedentes del Valle de Aburrá, Antioquia, Colombia, analizado por difracción de rayos X (DRX)

Enterolito	Compuesto (%)							
	Estruvita	Nitratina	Newberyta	Quartz low	Cordierita	Actinolita	Vivianita	Kyanita
1	83.8	7.8	1.1	6.9	0.3	0	0	0
2	99.6	0	0.4	0	0	0	0	0
3	81.9	3.3	3.1	4.0	0	7.8	0	0
4	81.5	0	18.1	0.1	0	0.3	0	0
5	96.1	0	0.5	0	3.4	0	0	0
6	96.4	0	0	0	0	0	3.6	0
7	55.7	0	33.3	7.9	0	3.1	0	0
8	34.5	0.5	33.4	0	0	6.0	0	25.5

## Discusión

La literatura reporta que los enterolitos en equinos, se forman principalmente por la precipitación de estruvita, con aumentada presencia de Mg, nitratos, fosfatos y elevadas concentraciones de cationes en un medio alcalino del colon<sup>(5,7,13)</sup>. Además, elevadas concentraciones de Mg en el colon del equino se han asociado con la dietas (> 50 %) basadas en alfalfa y son considerados predisponentes a enterolitos; sin embargo, no todos los caballos que se alimentan con alfalfa desarrollan cuadros de enterolitiasis, indicando la presencia de otros factores inductores en la formación de estas concreciones, como aspectos individuales, la hipomotilidad, flora bacteriana, dietas, incapacidad buferante y calidad del agua; que pueden influir en el pH intestinal y contenido mineral colónico<sup>(6,9,10)</sup>.

En este estudio no se analizaron los factores de predisposición de formación de enterolitos ni la evolución de los cuadros clínicos de los caballos diagnosticados con enterolitiasis, siendo una limitante reconocida del presente trabajo, ya que no se puede inferir sobre la participación de estos en la conformación de los enterolitos, tan solo se describe la composición de estos. No obstante, los enterolitos provienen de una zona geográfica del departamento Antioquia, Colombia; donde el suministro de alfalfa no es común en la alimentación de los equinos y no hay un contexto desértico, contrastando con reportes previos donde regiones del mundo con alta oferta de alfalfa y en suelos arenosos se han señalado con tener las mayores frecuencias de presentación de la enterolitiasis<sup>(1-4,6,7)</sup>, indicando que la génesis de los enterolitos puede ser multifactorial.

La variedad de forma, tamaño y textura, y la configuración de los nidos fueron similares a otros reportes<sup>(13)</sup>; sin embargo, a diferencia de otros trabajos, todos los nidos fueron identificados, siendo el material vegetal predominante, difiriendo de otros estudios que han descrito materiales diferentes al vegetal<sup>(1,9)</sup>. No se pudo comprobar la presencia única o múltiple de enterolitos, donde los esféricos se interpretan como presencia única de cuerpos extraños y los poliédricos con presencia múltiple<sup>(14,15)</sup>, ya que no se dispuso de la información completa de los cuadros clínicos de los equinos.

La identificación de la estruvita como el compuesto mineral predominante en los enterolitos es similar a otros estudios<sup>(6,7,13)</sup>. Igualmente, la presencia de vivianita, aunque en menor proporción en la composición, fue semejante a lo reportado por Hassel *et al*<sup>(13)</sup>. Sin embargo, la presencia de newberyta, kyanita, quartz low, actinolita, nitratina y cordierita, elementos minerales y minerales trazas determinados por METB (Cuadro 1) no ha sido reportado; sin embargo, no se puede inferir que sea una característica de los enterolitos obtenidos de los animales de esta región geográfica, dado el bajo número de muestras. Asimismo, es de resaltar el hallazgo de más de tres compuestos en la mayoría de los enterolitos, a excepción del compuesto por estruvita y vivianita.

Si bien se determinó la presencia de ocho compuestos en el grupo de enterolitos seleccionados, no se encontró presencia de apatita (fosfato de Ca), coincidiendo con Hassel *et al*<sup>(13)</sup>, aunque se requiere un mayor número de muestras para confirmar este hallazgo. Sin embargo, en caninos y felinos, los cálculos urinarios de estruvita se pueden acompañar de cálculos de apatita<sup>(16,17)</sup>, indicando condiciones especiales y de interacción o sustitución de iones que pueden influir en la cristalización de la apatita, como es el caso del K y el Mg<sup>(18)</sup>.

Con relación a los elementos mayores, la concentración de P, Mg, K, Ca y C orgánico y los elementos trazas como Fe, coincidieron con las reportadas en los estudios petrográficos y de mineralogía realizados por Rouff *et al*<sup>(11)</sup>, en muestras de enterolitos provenientes de regiones geográficas diferentes. Sin embargo, contrastaron con la concentración de S, Si, Br, Al, que fueron reportada en este estudio, pero no se determinaron la presencia de Zn y Mn. Adicionalmente, en ninguno de los estudios se detectó cobre (Cu), a pesar de encontrarse en los análisis nutricionales del alimento de los equinos, realizados por estos mismos autores<sup>(11)</sup>. Por tanto, es posible que la precipitación y cristalización de los compuestos minerales, no solo depende de la saturación, sino también de la interacción de iones y condiciones de pH en el fluido del colon<sup>(18)</sup>. Con todo lo anterior, es posible plantearse como hipótesis, que la diferencia de contextos y de sistemas de alimentación de los equinos, pueden afectar la saturación iónica en el fluido del colon, lo que podría explicar en parte la cantidad de elementos mayores y de trazas determinados en este trabajo.

A pesar de la oferta alimentaria y de la presencia en el fluido del colon de algunos minerales, no forman compuestos o no se detectan en la composición de los enterolitos, reforzando la hipótesis de la existencia de otros factores predisponentes que participan en su formación y crecimiento<sup>(11,13,18)</sup>. Sin embargo, es interesante que la estruvita sea el mayor componente de los enterolitos analizados en varias partes del mundo, lo que podría conllevar a analizar la existencia de una posible analogía con la formación de los cálculos urinarios de estruvita, donde existe evidencia de participación de metabolismo microbiano, más que, saturación mineral<sup>(19,20)</sup>. No obstante, este proceso es complejo y aún no existe evidencia de que suceda en el colon de los equinos<sup>(9,21)</sup>.

El reconocimiento de los elementos trazas e impurezas orgánicas dentro la composición de la estruvita es importante, debido a que mayor concentración de estos elementos, mayor susceptibilidad de descomposición<sup>(11)</sup>. Además, los cálculos de apatita de caninos y felinos, son más resistentes que los de estruvita<sup>(16,17)</sup>; sin embargo, estos son ausentes en la enterolitiasis de los equinos. Por tanto, es posible considerar estrategias médicas (disolventes) y de manipulación de dietas para la prevención de enterolitos, una vez que

los análisis mineralógicos mostraron altas impurezas de material orgánico y de elementos trazas que los convierte susceptibles a la desintegración, ya que según la composición puede ser viable el uso de disolventes como las bebidas carbonatadas tipo Coca-Cola<sup>®(12)</sup>.

## Conclusiones e implicaciones

Ambas técnicas (METB y DRX) empleadas en el análisis de los enterolitos se correlacionaron al coincidir los compuestos minerales con los elementos químicos determinados. En síntesis, los principales componentes minerales de los enterolitos analizados, se constituyeron de fosfatos de Mg, siendo la estruvita y la newberyta los más comunes, a diferencia de la vivianita que también se determinó, pero en una menor proporción a lo reportado previamente<sup>(13)</sup>. Igualmente, se reportaron otros compuestos distribuidos en todas las muestras analizadas, sin embargo, se requiere estudios con un mayor número de muestras y con información relevante de manejo, alimentación y condición clínica asociada a la enterolitiasis de los animales, para determinar asociación con la composición mineralógica de los enterolitos.

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado con recursos del CODI de la Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Antioquia, Centro de investigación de la Facultad de Ciencias Agrarias (CIAG) y Recursos de sostenibilidad 2019 – 2020 del Grupo Centauro.

## Literatura citada:

1. Hassel DM. Enterolithiasis. *Clin Tech Equine Pract* 2002;1(3):143-147. <https://doi.org/10.1053/ctep.2002.35576>.
2. Pérez L, Calderón VR, Rodríguez MA, Jacinto ME. Estudio recapitulativo de cinco casos de enterolitiasis en caballos remitidos al hospital para équidos del DMZE FMVZ-UNAM, durante 2003. *Vet Méx* 2006;37:223-238.
3. Pierce RL. Enteroliths and other foreign bodies. *Vet Clin Equine* 2009;25:329-340. doi: 10.1016 / j.cveq.2009.04.010.
4. Cohen ND, Vontur CA, Rakestraw PC. Risk factors for enterolithiasis among horses in Texas. *J Am Vet Med Assoc* 2000;216(11):1787-1794. <https://doi.org/10.2460/javma.2000.216.1787>.
5. Hassel DM, Rakestraw PC, Gardner IA, Spier SJ, Snyder JR. Dietary risk factors and colonic pH and mineral concentrations in horses with enterolithiasis. *J Vet Intern Med* 2004;18:346-349. <http://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2004.tb02556.x>.
6. House AM, Warren LK. Nutritional management of recurrent colic and colonic impactions. *Equine Vet Educ* 2016;28:167-172. doi:10.1111/eve.12543.
7. Turek B, Witkowski M, Drewnowska O. Enterolithiasis in horses: analysis of 15 cases treated surgically in Saudi Arabia. *Iran J Vet Res* 2019;20(4):270-276.

8. Nardi KB, Barros AMC, Zoppa ALV, Silva LCL, Ambrósio AM, Hagen SCF, *et al.* Large bowel obstruction by enteroliths and/or foreign bodies in domestic equids: a retrospective study of cases seen from January 2003 to March 2020. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2022;74:83-92. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-12442>.
9. Hassel DM, Spiers SJ, Aldridge BM, Watnick M, Argenzio RA, Snyder JR. Influence of diet and water supply on mineral content and pH within the large intestine of horses with enterolithiasis. *Vet J* 2009;182:44-49. doi:10.1016/j.tvjl.2008.05.016.
10. Hassel DM, Aldridge BM, Drake CM, Snyder JR. Evaluation of dietary and management risk factors for enterolithiasis among horses in California. *Res Vet Sci* 2008;85(3):476-480. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.03.001>.
11. Rouff, AA, Lager GA, Arrue D, Jaynes J. Trace elements in struvite equine enteroliths: concentration, speciation and influence of diet. *J Trace Elem Med Biol* 2018;45:23-30. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2017.09.019>.
12. Vélez SAG, Patiño JJM, Martínez JRM. *In vitro* evaluation of the dissolving effect of carbonated beverages (Coca-Cola®) and enzyme-based solutions on enteroliths obtained from horses: pilot study. *Braz J Vet Res Anim Sci* 2021;58:1-7. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2021.182579>.
13. Hassel DM, Schiffman P, Snyder JR. Petrographic and geochemic evaluation of equine enteroliths. *Am J Vet Res* 2001;62(3):350-358. <https://10.2460/ajvr.2001.62.350>.
14. Lloyd K, Hintz HF, Wheat JD, Schryver HF. Enteroliths in horses. *Cornell Vet* 1987;77:172- 186.
15. Bray RE. Enteroliths: feeding and management recommendations. *J Equine Vet Sci* 1995;15(11):474-478. [https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(06\)81820-4](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(06)81820-4).
16. Neumann RD, Ruby AL, Ling GV, Schiffman PS, Johnson DL. Ultrastructure of selected struvite-containing urinary calculi from cats. *Am J Vet Res* 1996a;57:12-24.
17. Neumann RD, Ruby AL, Ling GV, Schiffman PS, Johnson DL. Ultrastructure of selected struvite-containing urinary calculi from dogs. *Am J Vet Res* 1996b;57:1274-1287.
18. Legeros RZ, Legeros JP. Phosphate minerals in human tissues. In: Nriagu JO, Moore PB, editors. *Phosphate minerals*. Springer-Verlag Inc (Berlin). 1984;31-385. doi:10.107 / 978-3-642-61736-2\_12.
19. Kramer G, Klingler HC, Steiner GE. Role of bacteria in the development of kidney stones. *Curr Opin Urol* 2000;10:35-38. doi:10.1097/00042307-200001000-00009.
20. Prywer J, Torzewska A. Bacterially induced struvite growth from synthetic urine: experimental and theoretical characterization of crystal morphology. *Crys Growth Des* 2009;9(8):3538-3543. <https://doi.org/10.1021/cg900281g>.
21. Blue MG, Wittkopp RW. Clinical and structural features of equine enteroliths. *J Am Vet Med Assoc* 1981;179:79-82.