



Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de babesiosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha

Moreira Mendoza, Lady Gema

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Dr. Ron Román, Jorge Washington, Ph.D.

25 de agosto del 2022



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de babesiosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha**; fue realizado por la señorita **Moreira Mendoza, Lady Gema**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 25 de agosto del 2022



Firmado electrónicamente por:

**JORGE
WASHINGTON RON
ROMAN**

Dr. Ron Román, Jorge Washington, Ph.D.

C. C.: 1709505125

Resultado de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos

CL_Moreira_L.docx
Scanned on: 4:41 August 25, 2022 UTC



Identical Words	79
Words with Minor Changes	3
Paraphrased Words	245
Omitted Words	0



Firmado electrónicamente por:
**JORGE
WASHINGTON RON
ROMAN**

Dr. Ron Román, Jorge Washington, Ph.D.

C. C.: 1709505125



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Moreira Mendoza, Lady Gema**, con cedula de ciudadanía No. 1315346260, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de babesiosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha**; es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 25 de agosto del 2022

Moreira Mendoza, Lady Gema

C. C.: 1315346260



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Autorización de Publicación

Yo **Moreira Mendoza Lady Gema**, con cédula de ciudadanía No. 1315346260, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de babesiosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha**; en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 25 de agosto del 2022

Moreira Mendoza Lady Gema

C. C.: 1315346260

Dedicatoria

Dios, tu promesa es leal, de semilla a sequoia me transformaré.

Dedico este trabajo a mi madre, quien ha sido mi amor, guía y soporte durante toda mi vida, no pude haber tenido mejor ejemplo de fortaleza para salir adelante y convertirme en quien soy hoy.

Papi Wellington y Mami Ruth, gracias por enseñarme a amar al campo, a ser paciente, valiente y apasionada; toda la magia proviene de ustedes.

A mis hermanos, María José y Matías, son mi motor y alegría para mi alma.

A Yoqui, Javi, Fernan, Sandri, Jhonny y Glenia, gracias a ustedes crecí amada y feliz desde pequeña, son la mejor demostración de esfuerzo, dedicación y ñeque.

Carlos, tu apoyo y amor incondicional durante este tiempo me llena el corazón día a día.

Lady Gema Moreira Mendoza

Agradecimientos

Gracias al Dr. Jorge Ron Román por ser guía y apoyo como director del proyecto de vinculación BruTryp y este proyecto de integración curricular.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE y a la facultad de Ingeniería Agropecuaria IASA I por permitirme adquirir conocimientos y técnicas importantes para mi desarrollo como futuro profesional del país.

A los laboratorios de Biotecnología Animal, Mejoramiento Genético y Sanidad Animal junto con sus técnicos, Ing. Gabriela Morales, Ing. Jimmy Jumbo, Ing. Cristina Cholota y demás integrantes por sus aportes esenciales durante el desarrollo del proyecto.

Al proyecto de vinculación “Establecimiento de una plataforma en apoyo a la formación y la sensibilización, al diagnóstico y al desarrollo de una estrategia de control de la brucelosis y de la tripanosomosis en Ecuador -Brutryp” junto con la Université Liège y ARES de Bélgica por el financiamiento de este trabajo de investigación.

Al Dr. Armando Reyna y la Dra. María Augusta Chávez por sus consejos y conocimientos brindados en este lapso de tiempo.

A la Entomóloga Sandra Enríquez del Instituto de Investigación en Zoonosis, Universidad Central del Ecuador por su aporte para la caracterización de las diferentes especies de garrapatas.

A los ganaderos participantes en el proyecto, por su paciencia y disposición durante todo el proceso.

Índice de contenidos

8

Carátula.....	1
Certificación	2
Resultado de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos	3
Responsabilidad de Autoría	4
Autorización de Publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimientos	7
Índice de contenidos.....	8
Índice de tablas.....	12
Índice de figuras.....	14
Resumen.....	15
Abstract.....	16
Capítulo I.....	17
Introducción.....	17
Antecedentes	17
Justificación.....	18
Objetivos	19
Objetivo general.....	19
Objetivos específicos	19
Hipótesis	19

	9
Hipótesis nula.....	19
Hipótesis de investigación	19
Capítulo II.....	20
Revisión de Literatura	20
Agente causal	20
Taxonomía	20
Babesia bovis.....	21
Babesia bigemina	21
Vectores	22
Géneros y especies de garrapatas	22
Caracterización morfológica de las garrapatas.....	24
Ciclo biológico de las garrapatas.....	26
Patogenia	27
Transmisión.....	27
Ciclo biológico de Babesia.....	27
Signos clínicos en bovinos	28
Diagnóstico de babesiosis	29
Detección microscópica.....	29
ELISA	30
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	30
Inmunofluorescencia indirecta.....	30
Prevalencia y distribución	30
Mundial.....	30

	10
Latinoamérica.....	31
Ecuador.....	33
Control y tratamiento.....	34
Principios para control de babesiosis.....	34
Programa de control de Agrocalidad.....	34
Determinación de factores de riesgo.....	35
Risk Ratio.....	35
Capítulo III.....	36
Metodología.....	36
Revisión Bibliográfica.....	36
Duración de la investigación.....	36
Zona de estudio.....	36
Procedimiento.....	37
Fase de campo.....	37
Fase de laboratorio.....	41
Análisis estadístico.....	45
Georreferenciación.....	47
Capítulo IV.....	48
Resultados y Discusión.....	48
Análisis de la muestra.....	48
Distribución de animales por predio y zona de ubicación.....	48

	11
Distribución de animales muestreados según la zona de ubicación y tamaño de UPA.....	50
Distribución de animales muestreados según sexo, raza y edad en las dos zonas de estudio.....	51
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR convencional).....	53
Prevalencia de babesiosis bovina	54
Análisis univariado	56
Prevalencia por zona de ubicación	56
Prevalencia por sexo	56
Prevalencia por tipo de animal	57
Prevalencia por edad.....	58
Prevalencia en función de la temperatura.....	58
Prevalencia en función de la presencia de garrapatas	59
Caracterización taxonómica de las garrapatas	59
Factores de riesgo	63
Georreferenciación	64
Capítulo V	66
Conclusiones y Recomendaciones	66
Conclusiones.....	66
Recomendaciones	66
Bibliografía	67

Índice de tablas

Tabla 1 Descripción de la taxonomía de Babesia sp.	20
Tabla 2 Descripción de la taxonomía de la garrapata	23
Tabla 3 Principales claves diferenciales entre las familias Ixodidae y Argasidae	25
Tabla 4 Técnicas microscópicas para la detección de Babesia sp.	29
Tabla 5 Prevalencia de babesiosis en Latinoamérica	32
Tabla 6 Prevalencia de babesiosis en Ecuador.....	33
Tabla 7 Resumen de muestreo por tamaño de Unidad de Producción Agropecuaria (UPA)	39
Tabla 8 Característica predios seleccionados para diagnostico PCR	42
Tabla 9 Cebadores y condiciones para la amplificación de Babesia spp.	44
Tabla 10 Distribución de animales muestreados por predio y zona durante la investigación	48
Tabla 11 Distribución de animales muestreados según la zona de ubicación y tamaño de UPA en el noroccidente de la provincia de Pichincha, Ecuador	50
Tabla 12 Distribución de animales muestreados según sexo, tipo de animal y edad en las dos zonas de estudio del noroccidente de la provincia de Pichincha, Ecuador	52
Tabla 13 Resultados de frotis sanguíneo y PCR convencional para babesiosis bovina de muestras de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha, Ecuador.....	54
Tabla 14 Prevalencia de babesiosis bovina por zona de ubicación.....	56
Tabla 15 Prevalencia de babesiosis bovina por sexo	57
Tabla 16 Prevalencia de babesiosis bovina por tipo de animal	57
Tabla 17 Prevalencia de babesiosis bovina por edad	58
Tabla 18 Prevalencia de babesiosis bovina en función de la temperatura.....	59
Tabla 19 Prevalencia de babesiosis bovina en función de la presencia de garrapatas	59

Tabla 20 Garrapatas de la familia Ixodidae de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha, encontradas en bovinos muestreados para diagnóstico de babesiosis....	61
Tabla 21 Factores de riesgo para babesiosis bovina en la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha, Ecuador	64

Índice de figuras

Figura 1 Babesia bovis en capilar cerebral con tinción Giemsa observado al microscopio	21
Figura 2 Babesia bigemina en extensión de sangre con tinción Giemsa observada al microscopio.....	22
Figura 3 Imagen comparativa en microscopia electrónica de la morfología de las familias Ixodidae y Argasidae.....	24
Figura 4 Zona de muestreo de las diferentes Unidades de Producción animal (UPA) de la zona nor-occidental de Pichincha	37
Figura 5 Diagrama representativo del proceso de muestreo y técnicas diagnósticas utilizadas	38
Figura 6 Amplificación del gen 18S rRNA Babesia sp.	53
Figura 7 Porcentaje de babesiosis bovinas por PCR convencional en los seis predios ganaderos previamente seleccionados de las diferentes zonas	55
Figura 8 Especies de garrapatas identificadas en las zonas de muestreo de las diferentes Unidades de Producción animal (UPA) de la zona nor-occidental de Pichincha.....	60
Figura 9 Amblyoma cajennense macho adulto en vista dorsal y ventral.....	61
Figura 10 Rhipicephalus (Boophilus) microplus macho adulto en vista dorsal y ventral	62
Figura 11 Rhipicephalus (Boophilus) microplus macho adulto en vista dorsal y ventral	63
Figura 12 Georreferenciación de babesiosis bovina de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha.....	65

Resumen

Babesia spp. es un parásito protozoario causante de la babesiosis en animales, la cual es transmitida por garrapatas; esta enfermedad afecta a una gran cantidad de animales al provocar síntomas como lo son la anemia, anorexia, ictericia y hemoglobinuria, es por esto que se convierte en una problemática con impacto económica en la ganadería debido a la disminución del peso en el ganado y a raíz de esto se ve afectada la producción de carne y leche con bajos rendimientos. Existen escasos estudios de esta enfermedad en Ecuador encaminados al control y prevención para contrarrestar los vectores y factores de riesgo, estos fueron realizados mediante la aplicación de técnicas de biología molecular, microscópicas y serológicas. Si n embargo, aún existe deficiencias en cuanto al diagnóstico y análisis de babesiosis bovina, por lo cual el presente estudio tiene como objetivo principal, determinar la prevalencia y factores de riesgo de babesiosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) través de la aplicación de la técnica de frotis sanguíneo y coloración de Giemsa, en la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha. Se obtuvieron 853 muestras de bovinos de 53 predios ganaderos en dos zonas altitudinales diferentes. Todas las muestras fueron diagnosticadas por frotis sanguíneo y coloración Giemsa, dando como resultado una prevalencia del 0% debido a la sensibilidad de la prueba; solo 111 muestras previamente seleccionadas se analizaron con PCR convencional, obteniendo una prevalencia del 23,40% a *Babesia* spp.. Los posibles factores de riesgo no fueron determinados debido a que no se pudo evidenciar diferencia significativa en la distribución de los resultados positivos a PCR en las seis fincas analizadas.

Palabras clave: Ganado bovino, babesiosis, frotis sanguíneo, PCR.

Abstract

Babesia spp. it is a protozoan parasite that causes babesiosis in animals, which is transmitted by ticks; This disease affects a large number of animals by causing symptoms such as anemia, anorexia, jaundice and hemoglobinuria, which is why it becomes a problem with an economic impact on livestock due to the decrease in weight in cattle and as a result This affects the production of meat and milk with low yields. There are few studies of this disease in Ecuador aimed at control and prevention to counteract vectors and risk factors, these were carried out by applying molecular, microscopic and serological biology techniques. However, there are still deficiencies regarding the diagnosis and analysis of bovine babesiosis, for which the main objective of this study is to determine the prevalence and risk factors of babesiosis in livestock farms (large, medium and small) through the application of the blood smear technique and Giemsa staining, in the north-western area of the province of Pichincha. A total of 853 bovine samples were acquired from 53 cattle ranches in two different altitudinal zones. All samples were diagnosed by blood smear and Giemsa staining, resulting in a prevalence of 0% due to the sensitivity of the test; only 111 previously selected samples were analyzed with conventional PCR, obtaining a prevalence of 23.40% to *Babesia* spp. The possible risk factors were not determined because no significant difference could be evidenced in the distribution of positive PCR results. in the six farms analyzed.

Keywords: Cattle, babesiosis., blood smear, PCR.

Capítulo I

Introducción

Antecedentes

Babesia spp. es un parásito protozoario causante de la babesiosis en animales, la cual es transmitida por garrapatas; esta enfermedad afecta a una gran cantidad de animales e incluso al ser humano, es por esto que se convierte en una problemática de gran importancia económica en la ganadería, puesto que causa la disminución del peso en el ganado y a raíz de esto se ve afectada la producción de carne y leche con bajos rendimientos (Santamaria et al., 2019). Debido a su importancia, se deben realizar actividades encaminadas al control y prevención para contrarrestar los vectores y factores de riesgo.

Se han presentado estudios referentes a la determinación de la prevalencia de esta enfermedad en algunas zonas de Ecuador, entre ellos, Chávez-Larrea et al. (2021) señalan que, en un estudio realizado en El Carmen, el 18,94% (50/264) del ganado resultó positivo para *Babesia* spp. y de los 143 bovinos del estudio realizado en una finca de Quito, el 20,28% (29/143) fueron positivos. Los estudios reportados en Ecuador, se realizaron mediante el uso de técnicas PCR, de diagnóstico microscópicas y serológicas; sin embargo, aún existe la falta de investigaciones en el país y conocimiento de parte de los propietarios de las explotaciones ganaderas, teniendo como consecuencia que esta enfermedad no disponga un control adecuado y siga causando daños en el sector ganadero ecuatoriano, por lo antes indicado

Justificación

Las explotaciones ganaderas corresponden al 40% de la producción mundial que ayuda a mantener la seguridad alimentaria de 7700 millones de personas, dentro de ese grupo se encuentran conformando familias que obtienen empleos e ingresos de este campo, contribuyendo así, a la disminución de desempleo y pobreza (FAO, 2022).

Ecuador se constituye como un país plenamente agropecuario, dentro de este campo, la ganadería se considera como una base fundamental para la economía nacional y en especial para la rural campesina. El dinamismo de esta actividad aporta a la alimentación de la población con productos cárnicos y lácteos, para el caso de la producción de leche en la provincia de Pichincha, aproximadamente 40,752 litros/día son destinados a la alimentación en balde y 25,215 litros/día son destinados al consumo de los terneros (ESPAC, 2021).

Los parámetros de producción e ingresos económicos en la ganadería muchas veces disminuyen por la presencia de diversos agentes patógenos como el caso de *Babesia* spp., generando bajas producciones de leche con extensos periodos de inmunodepresión (Bock et al., 2004).

Es por esto que el presente estudio tiene como objetivo principal, determinar la prevalencia y factores de riesgo de babesiosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) a través de la aplicación de la técnica de frotis sanguíneo con coloración de Giemsa y PCR, en la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha.

Objetivos

Objetivo general

Determinar la prevalencia y factores de riesgo de babesiosis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha.

Objetivos específicos

Determinar la prevalencia de babesiosis bovina, a través de la aplicación de la técnica de frotis sanguíneo con coloración de Giemsa y PCR, de muestras sanguíneas obtenidas en la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha.

Identificar a través de claves entomológicas las especies de garrapatas presentes en las explotaciones ganaderas muestreadas en la zona nor-occidental de Pichincha.

Establecer los factores de riesgo para la presencia de *Babesia* spp. por medio de la aplicación de encuestas epidemiológicas y georreferenciar las explotaciones.

Hipótesis

Hipótesis nula

La prevalencia de babesiosis bovina en las explotaciones ganaderas de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha es nula.

Hipótesis de investigación

La prevalencia de babesiosis bovina en las explotaciones ganaderas de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha es alta.

Capítulo II

Revisión de Literatura

Agente causal

Dentro del grupo de hemotrópicos que afecta gravemente al ganado bovino de zonas tropicales y subtropicales, se encuentra *Babesia*, este protozoo con forma piriforme, bacilar, oval o anular causa una infección intraeritrocitaria que llega a ser transmitida por un artrópodo hematófago, como lo es la garrapata. Sus hospedadores llegan a ser humanos, animales salvajes y domésticos, principalmente bovinos y otros reservorios relevantes como los caninos y equinos (Ayard, 2020).

Taxonomía

Tabla 1

Descripción de la taxonomía de Babesia sp.

Reino	Protista
Phylum	Apicomplexa
Clase	Sporozoasida
Orden	Piroplasmorida
Familia	Babesiidae
Género	<i>Babesia</i>
Especie	<i>Babesia bovis</i>
	<i>Babesia bigemina</i>
	<i>Babesia divergens</i>
	Otros

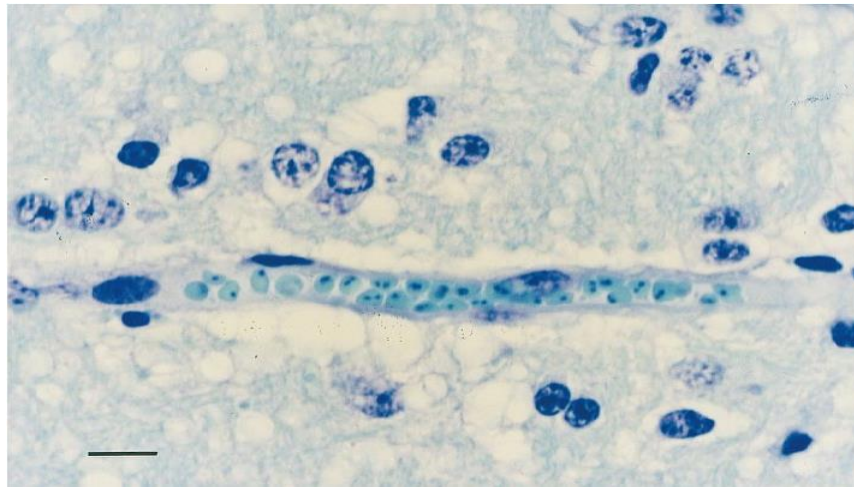
Nota. Clasificación ordenada y jerarquizada de *Babesia* con sus principales especies. Adaptado de (Bock et al, 2004).

Babesia bovis

Es descrita como una especie pequeña y con forma de anillo, su posición es periférica central dentro del glóbulo rojo (Laha et al., 2015).

Figura 1

Babesia bovis en capilar cerebral con tinción Giemsa observado al microscopio



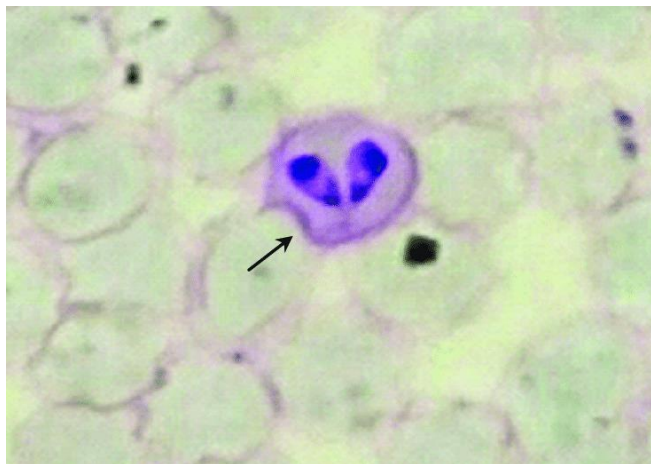
Nota. Corte de cerebro de un ternero infectado con *B. bovis*, este se puede observar dentro de los eritrocitos secuestrados en un capilar cerebral. Tomado de (Nevils et al., 2000).

Babesia bigemina

Es descrita como una especie grande, conformada por un par de organismos con forma de pera formando un ángulo agudo, su posición es periférica central dentro del glóbulo rojo (Laha et al., 2015).

Figura 2

Babesia bigemina en extensión de sangre con tinción Giemsa observada al microscopio



Nota. Frotis sanguíneo con coloración Giemsa obtenido a partir de una muestra de sangre bovina infectado con *B. bigemina*, observado dentro del eritrocito. Tomado de (González et al., 2018).

Vectores

La babesiosis, fiebre de aguja roja o fiebre de garrapatas es una enfermedad que se puede transmitir por vectores mecánicos como moscas hematófagas, fómites que se encuentren contaminados con sangre infectada, pero el vector más importante es la garrapata.

Las especies de *Babesia* se transmiten por garrapatas teleoginas que están infectadas al ingerir este protozoo de la sangre del ganado bovino infectado, los vectores de *B. bigemina* y *B. bovis* son *Rhipicephalus microplus* y *Rhipicephalus annulatus* (Araoz et al., 2017).

Géneros y especies de garrapatas

Existe una clasificación taxonómica de las garrapatas por familias, divididas en Argasidae (garrapatas blandas), Nuttalliellidae e Ixodidae (garrapatas duras), esta última familia está conformada aproximadamente por 12 géneros a nivel mundial (tabla 2) y es de gran importancia veterinaria debido a que es vector de hemotrópicos. En el Ecuador, se han

reportado aproximadamente cuatro especies del género *Amblyoma*, una especie del género *Anocentor*, *Haemaphysalis*, *Ixodes*, *Rhipicephalus* y dos especies del género *Ornithodoros* (Bustillos, 2014).

Tabla 2

Descripción de la taxonomía de la garrapata

Reino	Animalia
Phylum	Artrópoda
Clase	Arachnida
Orden	Parasitiformes
Familia	Ixodidae
Género	<i>Amblyomma</i> , <i>Dermacentor</i> , <i>Haemaphysalis</i> , <i>Bothriocroton</i> , <i>Hyalomma</i> , <i>Ornithodoros</i> , <i>Anocentor</i> , <i>Margaropus</i> , <i>Ixodes</i> , <i>Anomalohimalaya</i> , <i>Cosmiomma</i> , <i>Nosomma</i> , <i>Rhipicentor</i> , <i>Rhipicephalus</i>

Nota. Clasificación ordenada y jerarquizada de *la garrapata* con sus principales géneros. Adaptado de (Walker et al., 2014).

Ripicephalus microplus

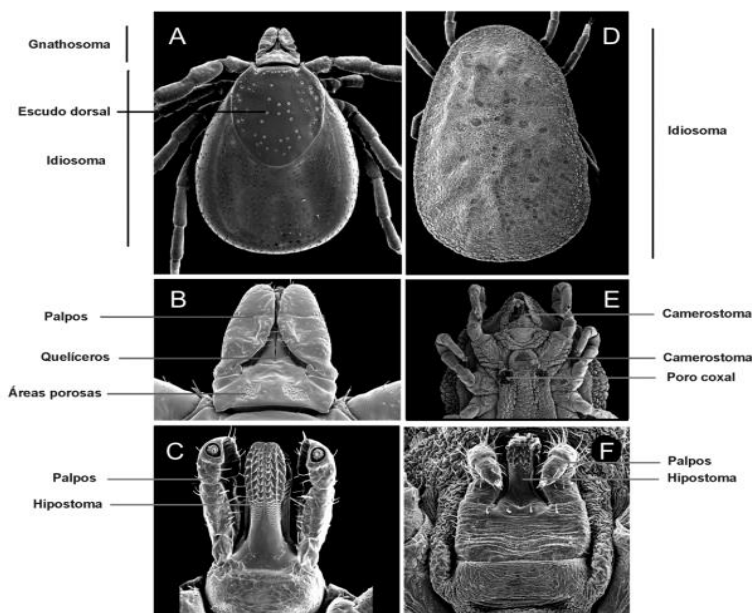
Anteriormente esta especie era conocida como *Boophilus microplus* pero después de ser analizada entomológicamente llegó a convertirse en un subgénero del género *Ripicephalus*.

La garrapata común del ganado o *R. microplus* es un ectoparásito obligado que utiliza la sangre como la principal fuente de alimento para lograr completar su ciclo de vida, se encuentra distribuidas en áreas tropicales y subtropicales, tales como: Centroamérica, Sudamérica y ciertas islas del Caribe causando efectos complementarios a la Babesiosis bovina (menor consumo de alimento, baja producción de leche, pérdida de peso, alta morbilidad y mortalidad, entre otros) (Benavides et al., 2016).

Caracterización morfológica de las garrapatas

Figura 3

Imagen comparativa en microscopía electrónica de la morfología de las familias Ixodidae y Argasidae



Nota. Garrapatas ixódidas (**A, B, C**) y argásidas (**D, E, F**). En **A**, hembra vista dorsal, **B** vista dorsal de los palpos del gnathosoma o capítulo, **C** vista ventral del gnathosoma con el hipostoma dentado. Imágenes de la morfología de garrapata adulta en **D** (vista dorsal), **E** (hembra en cara ventral) y **F** (gnathosoma cara ventral). Tomado de (Estrada-Peña, 2015).

Estos ectoparásitos hematófagos poseen cuerpo redondeado sin segmentación llamado idiosoma y en algunas especies, con un par de ojos en la parte lateral del mismo. El capítulo o gnathosoma separa el idiosoma de las piezas bucales y tiene un par de palpos compuestos por cuatro artejos, quelíceros con un par de dientes, además se encuentra una pieza llamada hipostoma con algunas filas de dientes que tienen como función anclarse a la piel del hospedador (figura 3) (Walker et al., 2014).

Las garrapatas en estadios de larva, ninfa y adultos tienen placas espiraculares a los lados del cuerpo donde comienza un sistema de traqueolas respiratorias, estos dos últimos estadios poseen cuatro pares de patas segmentadas en seis partes (coxa, trochanter, fémur, tibia, metatarsus y tarsus) (Labruna, 2020). La morfología de las familias Ixodidae y Argasidae es claramente diferente, como se presenta en la (tabla 3).

Tabla 3

Principales claves diferenciales entre las familias Ixodidae y Argasidae

Característica	Ixódidos	Argásidos
Placa esclerotizada en superficie dorsal	Presente	Ausente
Posición del gnathosoma o capítulo	Posición anterior	Posición ventral (invisible en vista dorsal)
Dimorfismo sexual	Escudo dorsal quitinizado completo en machos y cubre la mitad anterior en hembras.	Ausente
Áreas porosas en el capítulo	Presente	Ausente

Nota. Características claves para poder diferenciar familias *Ixodidae* y *Argasidae* de las garrapatas. Adaptado de (Nava et al., 2014).

Ciclo biológico de las garrapatas

Estos arácnidos presentan las siguientes etapas de desarrollo: huevo, larva, ninfa y adulto, estas últimas llegan a tener las mismas cualidades morfológicas, hábitos y alimentación comprendiendo una metamorfosis incompleta (Polanco-Echeverry & Alberto Ríos-Osorio, 2016).

Existe una clasificación de ciclos según el número de hospederos, *Rhipicephalus* spp. y *Anocenter* spp. representan el ciclo de un solo hospedero que afectan a animales grandes como los bovinos, equinos y caprinos, su alimentación se da sobre el hospedero y luego depositan sus huevos al caer al suelo; *Hyalomma* spp. de ciclo de dos hospederos está presente en sabanas en épocas de sequía donde sus larvas alimentadas permanecen en su hospedero para mudar a ninfas, ingurgitarse y caer al suelo para mudar otra vez a estado adulto y buscar un segundo hospedero donde ingurgitarse y caer al suelo para entrar a estado de ovoposición y morir; por último, el ciclo de tres hospederos lo representan principalmente *Ixodes* spp., *Amblyomma* spp., *Haemaphysalis* spp., y *Rhipicephalus sanguineus* que empieza primero por el estado de oviposición, seguido de la incubación y por último la eclosión, dando como resultado larvas que se adhieren a un hospedero para completar su alimentación de sangre, caen al suelo para buscar un lugar seguro donde mudar, la ninfa nueva busca un nuevo hospedero para repetir el ciclo antes mencionado hasta mudar a estadio de adulto, luego este adulto busca un tercer hospedero para alimentarse, fecunda y hembras ingurgitadas ovopositan para completar y finalizar el ciclo (Bustillos, 2014).

El ciclo de vida hemimetábolo de las garrapatas se divide en dos fases: una parasitaria que consiste en una alimentación sanguínea y, por otro lado, una fase de vida libre o no parasítica que incluye el periodo de oviposición y mudas (Walker et al., 2014).

Ciclo de vida no parasítica

Es también llamado ciclo de vida libre y comienza cuando la hembra ingurgitada se desprende de su hospedero, cae al suelo y entra en etapa de preoviposición (2 a 4 días en verano y 20 a 23 días en invierno), oviposición (5 a 15 días en verano y 30 días en invierno), incubación (26 a 32 días en verano /y 69 a 74 días en invierno) y larva de vida libre (10 a 70 días en verano y 250 días en invierno) (Rodríguez et al., 2006).

Ciclo de vida parasítica

Tiene una duración de 18 a 22 días y empieza una vez que la larva se adhiere a un hospedero para alimentarse de su sangre, caer al suelo y realizar la muda. La búsqueda del hospedero se da gracias al rol que cumplen los órganos sensoriales al ser estimulados principalmente por el dióxido de carbono, olores, luz, aire, humedad o calor que emanen los hospederos, estos son acechados desde la vegetación alta para poder adherirse.

Patogenia

Transmisión

Babesia es transmitida por garrapatas del género *Rhipicephalus* que son infectadas al alimentarse de parásitos que se encuentran en la sangre del bovino infectado, esta transmisión se encuentra influenciada por algunos factores como: especificidad a nivel de hospedador definitivo, características propias del parásito u hospedador, resistencia juvenil adquirida por el calostro y premunidad con una infección leve subclínica.

Ciclo biológico de Babesia

Después de que el bovino es mordido por la garrapata, este se infecta tras la inoculación de esporozoitos de *Babesia* spp. inmersos en la saliva del acaro, estos se internan en los glóbulos rojos para cumplir con todas las fases del ciclo. Por fisión binaria se

producen dos merozoitos que penetran un nuevo eritrocito individualmente para producir merogonias consecutivamente (Bock et al., 2004).

El desarrollo de babesia dentro de la garrapata se da una vez que estas ingieren glóbulos rojos infectados con el parásito, los pre-gametocitos sobreviven para convertirse en gametocitos que se combinan en el lumen del tracto digestivo de la garrapata y así formar un cigoto de *Babesia* para internarse y transformarse en un oocineto que escapa del epitelio del intestino e irrumpe los tejidos del cuerpo del acaro, esto incluye los ovarios provocando que muchos de los huevos seas infectados (transmisión transovárica). La multiplicación asexual de *Babesia* continua como esporogonia y el desarrollo de muchos kinetos que invaden las glándulas salivales y desarrollar esporozoitos, indicando la fase infecciosa del parasito en el hospedero. Esta infección se puede alcanzar durante una fase de vida a la siguiente (transmisión transestadial) (Vasco, 2013).

Signos clínicos en bovinos

Dependiendo de factores como edad del hospedero, especie y cepa del parasito, la babesiosis se presenta mayormente en animales adultos y animales menores a 9 meses, donde a nivel general *Babesia bovis* es más patógena que *Babesia bigemina* o *Babesia divergens* (Center for Food Security and Public Health, 2008).

La anemia es uno de los signos más representativos de esta enfermedad, llega a ser regenerativa, macrocítica e hipocrómica alterando la coagulación. Una vez que la hemoglobina es liberada el animal entra en un estado febril causando la pérdida de apetito, adelgazamiento progresivo, disminución de la producción (carne o leche) y abortos. Además, en la orina se puede observar hemoglobinuria asociada muchas veces con hemoglobinemia, el exceso de hemoglobina transformada a bilirrubina se acumula en las mucosas, causando palidez al inicio para pasar a ictericia. Animales infectados adquieren inmunidad por toda su vida contra la reinfección a consecuencia de una reacción cruzada (Bock et al., 2004).

Diagnóstico de babesiosis

Para un diagnóstico clínico de la existencia de babesiosis se toma en cuenta animales que presenten fiebre, anorexia, anemia, hemoglobinuria e ictericia; para un diagnóstico diferencial se incluyen enfermedades hemotrópicas (anaplasmosis y tripanosomosis), leptospirosis, teileriosis, hemoglobinuria bacilar, entre otras. La identificación de este parásito en sangre y tejidos se puede dar por múltiples análisis de laboratorio con diferentes porcentajes de sensibilidad y especificidad dependiendo del estado de la enfermedad (Bobbi, 2015).

Detección microscópica

Los diagnósticos directos para la observación e identificación de estadios divisionales del parásito bajo un microscopio tienen la función de confirmar casos clínicos y se detallan en la tabla 4.

Tabla 4

Técnicas microscópicas para la detección de Babesia sp.

Técnica	Tipo de muestra	Coloración	Función
Frotis sanguíneos (finos y gota gruesa)	Sangre	Giemsa/Naranja de acridina	Detección de pequeñas cantidades de parásitos e identificación de especies (frotis fino).
Frotis de cerebro	Improntas de la corteza cerebral del animal	Giemsa/Naranja de acridina	Identificación del parásito en bovinos post mortem con presencia de signos nerviosos.
Prueba de hemolinfa	Gota de hemolinfa de garrapata	SI	Diagnóstico basado en la observación de kinetos con forma vermicular.

Nota. Diferencias entre técnicas de diagnóstico microscópicas para detectar babesiosis Tomado de (Bock et al., 2004).

ELISA

La técnica de inmunoensayo ELISA es una herramienta de la serología para diagnosticar animales infectados por *Babesia* y detectar anticuerpos en muestras de suero y plasma en una fase muy inicial de la infección (<14 días), en esta prueba, un antígeno inmovilizado es detectado por un anticuerpo enlazado a una enzima que puede generar un cambio de color visible en la placa. Para detectar con un anticuerpo anti-antígeno marca se utiliza un ELISA directo, por el contrario, el ELISA indirecto utiliza un anticuerpo primario anti-antígeno y uno secundario anti primario marcado (Bariani, 2018).

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Con una muestra de sangre total del animal, extraída con EDTA se puede realizar la detección del patógeno por detección molecular con ayuda de la prueba diagnóstica de amplificación geonómica PCR, correlacionando los anticuerpos persistentes que por su sensibilidad logra detectar casos de animales con parasitemias muy bajas, pero no es adecuado para determinar el estado inmunitario en animales o poblaciones tras una vacunación(OIE, 2018).

Inmunofluorescencia indirecta

La inmunofluorescencia indirecta (IFI) es una técnica basada en el reconocimiento de antígenos de parásito junto con anticuerpos del suero obtenido de la muestra de sangre, según la OIE,2021 esta técnica es muy recomendada para demostrar la ausencia de la infección, tanto una población, como en animales individuales antes del desplazamiento, pero no es adecuada para confirmar casos clínicos de la enfermedad.

Prevalencia y distribución

Mundial

Existe una gran diversidad de estudios realizados a nivel mundial sobre *Babesia* spp., Center for Food Security and Public Health (2008), menciona que tanto *B. bovis* como *B.*

bigemina fueron endémicas en la zona sur de Estados Unidos, causando grandes pérdidas productivas. *B. divergens* se encuentra distribuido en áreas de Europa, al igual que *B. major* que además se distribuye en el Noroeste de África y Asia.

Un ejemplo es el estudio realizado por Saleh (2009) en Turquía, donde se determinaron factores de riesgo para la anemia como la peroxidación de lípidos eritrocíticos y la oxidación de hemoglobina en bovinos infectados con *B. bigemina*.

Para el caso de Sudáfrica, Mtshali & Mtshali (2013) determinó mediante pruebas PCR anidadas, que existe una prevalencia del 64,7 % y 35,1% para *B. bigemina* y *B. bovis* respectivamente, llegando a la conclusión que en las diferentes provincias la situación parasitaria por babesiosis bovina ha alcanzado una estabilidad endémica o casi llegando a la estabilidad.

Latinoamérica

En la tabla 5 se detallan los casos más recientes de babesiosis en países latinoamericanos.

Tabla 5*Prevalencia de babesiosis en Latinoamérica*

Año	Lugar	Especie	Muestras	Técnica	Prevalencia	Autor
2017	Salta, Argentina	Bovinos	4.398	Frotis	<i>B. bovis</i> 37,7% <i>B. bigemina</i> 13,2%	Araoz et al. (2017)
2021	Cauca, Colombia	Bovinos	30	PCR	53,3%	Niño (2021)
2020	Chontales, Nicaragua	Bovinos	40	Frotis	<i>B. bigemina</i> 10%	González & Catín (2020)
2014	Corrientes, Argentina	Bovinos	48	ELISA indirecto	<i>Babesia</i> sp. 88,65%	Martinez et al. (2014)
2018	Arauca, Colombia	Bovinos	333	Frotis	<i>Babesia</i> sp. 16,66%	Salamanca et al. (2018)
2012	Puntarenas, Costa Rica	Bovinos	449	ELISA PCR	<i>B. bigemina</i> 59,1% <i>B. bigemina</i> 1,34% <i>B. bovis</i> 0,45% <i>Babesia</i> spp. 18,5 %	Shebish et al. (2012)
2020	Antioquia, Colombia	Bovinos	202	PCR	<i>B. bovis</i> 4,9 % <i>B. bigemina</i> 15,4 %	González et al. (2020)
2019	Amecameca, Mexico	Bovinos	99	ELISA	<i>Babesia</i> spp 86,86%	Palacios (2019)

Nota. Valores de prevalencia de babesiosis obtenidos de estudios realizados en países latinoamericanos.

Ecuador

En la 6 se pueden observar los casos más recientes de babesiosis en Ecuador.

Tabla 6

Prevalencia de babesiosis en Ecuador

Año	Lugar	Especie	Muestras	Técnica	Prevalencia	Autor
2020	Sto. Domingo de los Tsáchilas	Bovinos	123	PCR	22,5%	Rodríguez (2020)
2019	Pedernales, Manabí	Bovinos	462	PCR	64,35%	Arboleda (2019)
2018	Esmeraldas	Bovinos	181	ELISA Indirecto	21,55%	Aguayo (2018)
2021	El Carmen	Bovinos	407	18s PCR	18,94%	Chávez-Larrea et al. (2021)
	Quito				20,28%	
2021	Napo Orellana Sucumbíos	Garrapatas	207	PCR multiplex anidada	88% 19% 53%	Insuaste (2021)
2017	Pastaza	Bovinos	58	PCR	0%	Medina et al. (2017)
2020	Sucumbíos	Bovinos	132	Frotis	33,90%	Guamán-Quinche et al. (2020)
2020	Morona Santiago	Bovinos	165	Frotis PCR	18,18% 31,51%	Caroa (2020)

Nota. Valores de prevalencia de babesiosis obtenidos de estudios realizados en Ecuador. PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), ELISA (Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas). Todos los valores de prevalencia corresponden a *Babesia* sp

Control y tratamiento

Principios para control de babesiosis

Se implementan un grupo de medidas de control utilizadas para controlar y prevenir la babesiosis bovina, como prevención se debe realizar la anamnesis de la finca y estudios serológicos de la población bovina para la toma de decisiones. Además, se debe evitar la transmisión a través del cambio agujas, no movilizar animales y desinfección constante de la explotación ganadera.

La aplicación del tratamiento para esta enfermedad consta de una dosis de 3,5 mg/kg de Diaminazeno por vía intramuscular de una sola aplicación, también se puede aplicar Imidocarb en dosis de 1,2 mg/kg vía subcutánea en una sola aplicación. Los estimulantes y reconstituyentes son necesarios para la recuperación del animal, aportando con hierro, cobre, vitamina B12, protectores hepáticos y sueros isotónicos (Morilla, 2009).

Programa de control de Agrocalidad

En AGROCALIDAD (2016), se establece un control post-mortem para bovinos de abasto en mataderos infectados con *Babesia* sp. Para el caso de la enfermedad sin signos clínicos o efectos sistémicos, se aprueba el procesamiento de la canal, pero el decomiso total o parcial de las vísceras. Cuando está asociada a lesiones generalizadas como la hemoglobinuria, anemia, falta de apetito y otros síntomas de infección aguda o cuando el animal se encuentre en condiciones crónicas tales como pérdida de peso, mal nutrición, anemia entre otras, se establece el decomiso total de la canal y vísceras para uso industrial.

Además, según AGROCALIDAD (2022) en el caso de presentarse Babesiosis cerebral se dictamina el rechazo o destrucción del embarque.

Determinación de factores de riesgo

Risk Ratio

El Risk Ratio (RR) o riesgo relativo en español, es una comparación entre el riesgo de algún evento como una enfermedad entre un grupo con el riesgo entre otro que no lo tenga. Esto se logra obtener mediante la división del riesgo en el primer grupo para el riesgo del grupo dos.

Si el riesgo es de 1,0 indica que es el mismo para ambos grupos, >1 establece que existe un mayor riesgo para el grupo de interés principal o grupo uno y <1 disminuye el riesgo para dicho grupo (Cerdeira et al., 2013).

Capítulo III

Metodología

Revisión Bibliográfica

Se procedió a realizar la investigación bibliográfica dentro de artículos científicos descargados de base de datos como PubMed, Google Academic, ResearchGate, Repositorio ESPE en base a las palabras claves: babesiosis, babesiosis bovina, garrapatas y transmisión de *Babesia* sp.

Duración de la investigación

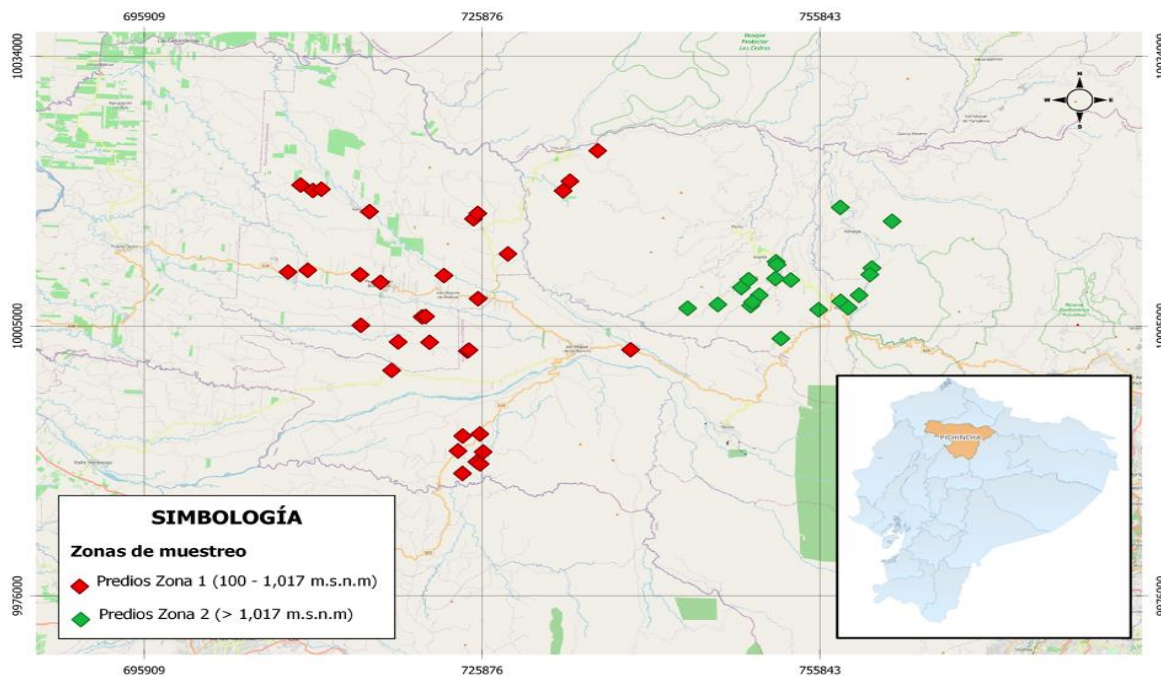
La presente investigación tuvo una duración de seis meses, con sus inicios en el mes de marzo del 2022 y con finalización en el mes de agosto del 2022.

Zona de estudio

La adquisición de información de predios y proceso de muestreo en bovinos, se llevó a cabo en la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha, Ecuador. Se recorrieron las localidades de Nanegalito, Nanegal, Gualea, Pedro Vicente Maldonado, Puerto Quito, San Miguel de los Bancos. La zona de estudios, tiene una superficie de 2168,4 km², ocupando el 22,91% de la provincia (GADPP, 2017), tiene un clima húmedo tropical debido a la precipitación media anual entre 1400 mm a 4200 mm con una temperatura que varía desde los 12°C hasta los 35°C y su altura es de 120 hasta 1100 m.s.n.m. (GADPP, 2018).

Figura 4

Zona de muestreo de las diferentes Unidades de Producción animal (UPA) de la zona nor-occidental de Pichincha



Nota. Mapa de ubicación de predios ganaderos muestreados para la investigación.

Procedimiento

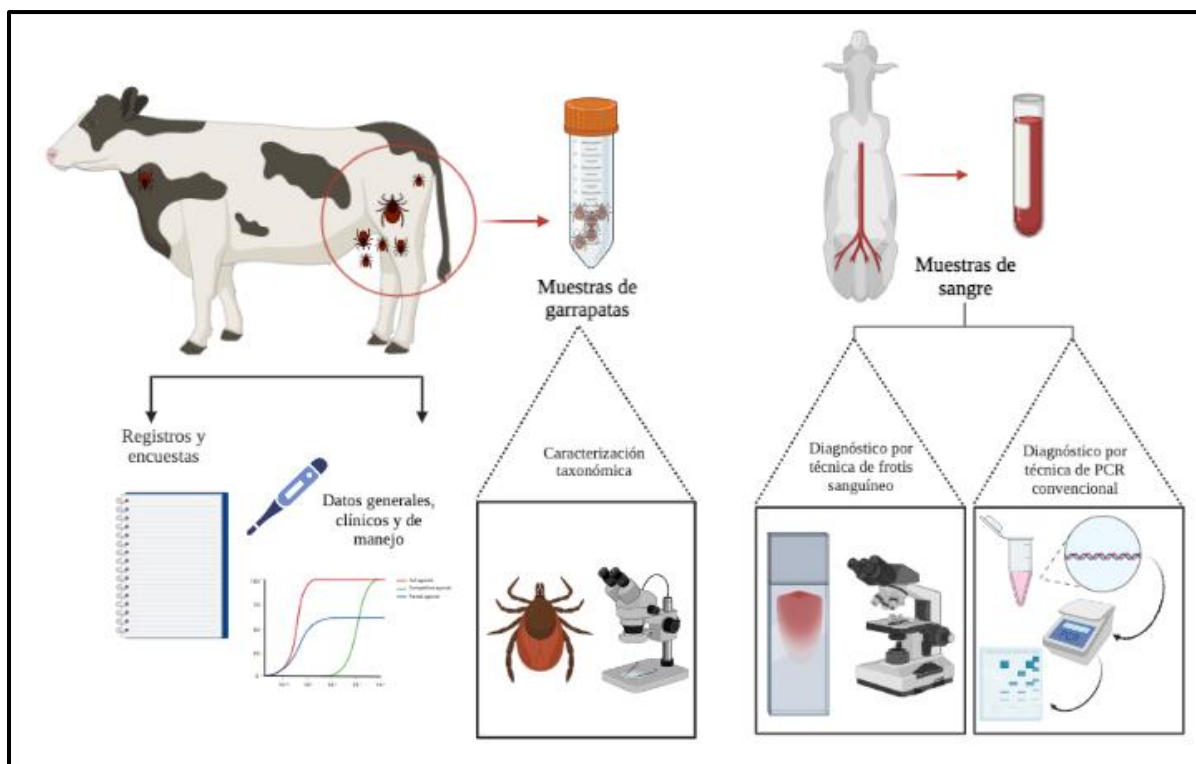
Fase de campo

Clasificación de predios

Se categorizaron los predios ganaderos en tres estratos: predios pequeños (menores a 20 animales), predios medianos (desde 21 a 70 animales) y predios grandes (mayores a 71 animales). Posteriormente los predios fueron categorizados de acuerdo a la altitud en dos zonas, Zona 1 (100 m.s.n.m. y 1,017 m.s.n.m.) y Zona 2 (altitudes superiores a 1,017 m.s.n.m.). Los predios muestreados fueron 53 con un total de 853 muestras de sangre y 130 muestras de garrapatas.

Figura 5

Diagrama representativo del proceso de muestreo y técnicas diagnósticas utilizadas



Nota. Representación de proceso de muestreo y metodologías aplicadas durante la investigación.

Tamaño de la muestra

Dentro del proyecto de vinculación “Establecimiento de una plataforma en apoyo a la formación y la sensibilización, al diagnóstico y al desarrollo de una estrategia de control de la brucelosis y de la tripanosomosis en Ecuador-BruTryp” se estableció previamente la siguiente (tabla 7), donde se detalla el porcentaje de bovinos a muestrear en campo sin excepción de raza, sexo o edad:

Tabla 7

Resumen de muestreo por tamaño de Unidad de Producción Agropecuaria (UPA)

Tamaño UPA	Número de animales por UPA	Porcentaje de muestreo	Número de animales a muestrear
	0 a 7	50	4
Pequeño	8 a 14	45	6
	15 a 20	40	8
	21 a 33	30	6 a 10
Mediano	34 a 47	30	10 a 14
	48 a 60	25	12 a 15
	61 a 70	25	15 a 18
	71 a 135	25	18 a 34
Grande	136 a 200	20	27 a 40
	> 200	20	40

Nota. Clasificación de tamaño de predio ganadero con su respectivo porcentaje de muestreo. UPA: Unidad de Producción Agropecuaria. Comunicación personal con (Ron-Román Jorge, 2022).

Encuesta y registro de animales

Dentro de cada predio se recibió información por parte de los propietarios sobre la situación sanitaria y manejo de la producción ganadera, en especial se hicieron preguntas relacionadas con la patogenicidad de babesiosis (anexo 1), así mismo, se llenó un registro de campo que se basa en datos generales, clínicos y manejo de cada animal muestreado (anexo 2).

Epicollect5

Se recopilaban datos técnicos y localización GPS de cada predio a través de la aplicación móvil Epicollect5, dichos datos se subieron al proyecto “Sanidad ESPE” donde luego fueron analizados y como resultado se obtuvieron mapas y tablas con la información.

Toma de temperatura en los animales

La toma de temperatura se realizó con un termómetro colocado en la pared del recto del animal, esperando aproximadamente diez segundos; el termómetro indicó la temperatura final para poder retirar y anotar el dato requerido dentro del registro de campo.

Extracción de sangre en animales adultos de la vena coccígea

Para mayor facilidad, los animales fueron ingresados en una manga, para extraer sangre periférica por punción de la vena coccígea, que está localizada en la zona ventral media de la cola a pocos centímetros del ano. Se procedió a sujetar la cola hacia arriba y limpiar con papel para poder ubicar la zona de punción e insertar la aguja vacutainer verde de calibre 21Gx15" con un capuchón previamente enroscado, posteriormente se insertó el tubo de tapa morada, con EDTA, etiquetado con la identificación del bovino, para de esta forma recolectar la sangre necesaria por efecto de vacío; por último, se agitó levemente para evitar la coagulación de la muestra.

Extracción de sangre en terneros de la vena yugular

Los terneros fueron controlados mediante la técnica de sujeción manual, tomando al ternero por una oreja y por la zona de la falda. Se realizó la hemostasis del canal yugular con una mano y con la otra se mojó la tabla del cuello del animal en la zona dorsal a la tráquea para una mejor palpación con los dedos y así ubicar la vena yugular para insertar la aguja vacutainer verde de calibre 21Gx15" con un capuchón previamente enroscado; posteriormente se insertó el tubo tapa morada con EDTA, etiquetado con la identificación del bovino, para de esta forma recolectar la sangre necesaria por efecto de vacío; por último se agitó levemente para evitar la coagulación de la muestra.

Recolección de garrapatas

Al momento de obtener las muestras de sangre, se procedió a la recolección de garrapatas hembras y machos adultos del cuerpo del bovino, en especial de lugares con mayor porcentaje de infestación como las áreas del tren posterior, región inguinal y glándula mamaria. Las muestras de garrapatas fueron colocadas en tubos falcon de 15 mL llenos con alcohol al 96% para su preservación; los tubos fueron etiquetados según el predio y fecha de recolección.

Fase de laboratorio

Frotis sanguíneo

Para realizar la extensión de sangre o también llamado frotis fino, se tomó 3 μ l de sangre del tubo con muestra y con ayuda de una micropipeta, la sangre fue colocada en un extremo del portaobjeto previamente etiquetado con el código único del tubo; con el portaobjeto extensor a 45° se tocó el borde de la gota para que esta se distribuyera horizontalmente por capilaridad, después se extendió la sangre hasta el otro extremo formando una estructura constituida por cabeza, cuerpo y cola.

Tinción Giemsa

Una vez realizado el frotis sanguíneo, este se fijó por inmersión en metanol durante 60 segundos, luego de esto se esperó hasta que finalice el secado. Con una bandeja como base, se colocaron varillas que sirvieron de soporte para poner los portaobjetos fijados y en cada uno de estos se añadió colorante Giemsa en una solución 1:10 hasta cubrir toda el área del frotis durante 20 minutos; tomando en cuenta que el tiempo de coloración depende de la casa comercial del reactivo. Una vez terminado el tiempo de tinción, se vertió el restante de colorante en la bandeja y con una piseta de agua destilada se lavaron los portaobjetos con cuidado, sobre papel se pusieron las placas paradas para que el agua cayera por gravedad hasta secarse.

Visualización en microscopio

En un microscopio se colocó el resultado final del frotis sanguíneo teñido para la detección del parásito, se enfocó con cada uno de los lentes hasta llegar al lente 100X donde se añadió una gota de aceite de inmersión. Dentro de los glóbulos rojos se buscaron todos los estadios *Babesia* sp, con formas anulares o piriformes, ya sea que estuvieran solos o en pares.

Caracterización taxonómica de la garrapata

Al azar se tomaron tres garrapatas por predio que fueron vertidas en una caja Petri para su posterior observación e identificación en estereomicroscopio a diferentes aumentos según las claves taxonómicas guía de Guerrero (1996) y Labruna (2020) para la identificación de los géneros de adultos de la familia Ixodidae o garrapatas duras.

Selección de muestras para diagnóstico PCR

Tabla 8

Característica predios seleccionados para diagnostico PCR

Predio	Zona	Tamaño UPA	Porcentaje		Porcentaje <i>Trypanosoma</i> sp	Porcentaje <i>Anaplasma</i> sp
			de garrapatas	Antecedentes		
P1	2	Grande	100	Presente	SPT	81,25
P11	2	Mediana	100	SA	SPT	70,58
P3	2	Pequeña	100	Presente	SPT	62,50
P16	1	Grande	65	Presente	SPT	74,19
P30	1	Mediana	100	Presente	6,66	86,66
P44	1	Pequeña	100	SA	11,11%	55,55

Nota. Se observan las posibles características indicativas para presencia de *Babesia* spp. de las fincas seleccionadas para PCR convencional. Zona 1: 100-1,017 m.s.n.m., Zona 2: >1,017 m.s.n.m., Grande: >70 animales, Mediana: 21 a 70 animales, Pequeña: 0 a 20 animales, SA: Sin antecedentes, SPT: Sin positivos a *Trypanosoma* sp..

De las 853 muestras de sangre entera, se seleccionaron 111 muestras de seis predios de las zonas de estudio, esta selección se hizo basada en predios con porcentajes altos de garrapatas encontradas en cada predio, antecedentes de babesiosis mencionados por los propietarios durante la encuesta epidemiológica, porcentajes altos de hemotrópicos de estudio como *Trypanosoma* sp. y *Anaplasma* sp. (tabla 8).

Extracción de ADN a partir de sangre total

La extracción de ADN se realizó con el Mini Kit de purificación de ADN genómico de sangre total GeneJET (Thermo Fisher), en el cual se utilizó 200 μ L de sangre, se agregaron 20 μ L de proteinasa K y se mezcló por vortex. Posteriormente se agregaron 400 μ L de la solución de lisis y se incubaron a 56°C por 10 minutos en un termo bloque, se añadieron 200 μ L de etanol para ser transferidos a una columna giratoria y centrifugar por un minuto a 6,000 g (~8,000 rpm) descartando la solución de flujo continuo. Se añadió 500 μ L de tampón de lavado I y se centrifugó nuevamente por un minuto a una de velocidad de 8,000 g (~10,000 rpm) descartando la solución de flujo continuo, del tampón de lavado II se añadieron 500 μ L a la columna y se centrifugo a 20,000 g (~4,000 rpm) por tres minutos, se desechó el tubo de recolección con la solución de flujo continuo y se transfirió la columna a un tubo estéril de 1,5 mL.

Se añadió 200 μ L del tampón de elución a la membrana que se encuentra en el centro de la columna para eluir el ADN genómico, finalmente se incubó durante dos minutos a temperatura ambiente y se centrifugo a 8,000 g (~10,000 rpm) durante un minuto para desechar la columna de purificación y almacenar a -20°C.

Diagnóstico molecular de *Babesia* spp. mediante PCR convencional

Los diagnósticos de *Babesia* bovina, se realizaron mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para lo cual en la tabla 9 se presentan las secuencias de los cebadores utilizados, el tamaño de la secuencia amplificada, los componentes y volúmenes de los reactivos utilizados, así como las condiciones de la PCR, a los cuales se realizaron ciertas modificaciones a lo establecido por (Medina et al., 2017).

Tabla 9

Cebadores y condiciones para la amplificación de Babesia spp.

Secuencia de cebadores	Fragmento amplificado (pb)	Componentes de la PCR (Volumen final 25 µL)	Condiciones de la PCR
PIRO A: 5´- AATACCCAATCCTGA CACAGGG- 3´	~ 400	Mix de reacción 1X: 12.50µL, Forward a 10µM: 0.63 µL, Reverse a 10µM: 0.63µL, DMSO a 100%: 1.25 µL H2O: 9 µL	1 ciclo: 94 °C por 5' 35 ciclos: 94°C por 1', 61 °C por 1' 72 °C por 30", 1 ciclo: 72°C por 5', 4°C: ∞
PIRO B: 5´- TTAAATACGAATGCC CCCAAC3´			

Nota. En la tabla se presentan las cantidades de unidades necesarias para la amplificación de fragmentos correspondientes a *Babesia* sp.. PB: Pares de bases, 1X: una reacción, µL: microlitros, ': minutos, ": segundos, PCR: reacción en cadena de polimerasa. Adaptado de (Medina et al., 2017).

Los diagnósticos de *Babesia* bovina, se realizaron mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para lo cual en la tabla 9 se presentan las secuencias de los cebadores utilizados, el tamaño de la secuencia amplificada, los componentes y volúmenes de los reactivos utilizados, así como las condiciones de la PCR, a los cuales se realizaron ciertas modificaciones a lo establecido por (Medina et al., 2017).

Los amplicones obtenidos fueron observados mediante electroforesis, en geles de agarosa al 1.5 % teñido con SYBR®Safe. Se cargaron 10 µL de los amplicones con 10 µL de buffer de carga 10x Blue Juice (Invitrogen) en cada pocillo, las corridas se realizaron a 120 V por 1 hora, los cuales fueron revelados en un transiluminador (ChemiDoc Imaging System, Bio Rad, USA).

Obtención de datos del registro zootécnico y encuesta

Para la determinación de factores de riesgo se obtuvieron variables del registro zootécnico, tales como: sexo, edad y raza; por otro lado, dentro de las encuestas las variables fueron: propósito de la finca, existencia de movilidad de los animales, uso de antiparasitario y situación de garrapatas o enfermedades parasitarias en los predios ganaderos.

Análisis estadístico

Diseño no experimental

Al no alterar el objeto de investigación, hablamos de una investigación no experimental al analizar la presencia de *Babesia* spp. en un tiempo determinado, evidenciándose mediante la observación microscópica de frotis sanguíneo y prueba PCR convencional, convirtiéndose en una variable cualitativa nominal.

Este estudio es de tipo transversal debido a que se centró en analizar el nivel de una variable en un momento determinado.

Variable de respuesta

La variable de respuesta en este estudio fue la prevalencia del agente patógeno que produce babesiosis en los bovinos.

Error aleatorio

En la investigación se generaron errores de origen ambiental y/o errores causados por el operador, los cuales fueron en su mayoría minimizados.

Análisis

El análisis en esta investigación fue realizado mediante bases de datos procesadas con apoyo del programa Microsoft Excel y el software estadístico Epi Info.

Estadística descriptiva

La base de datos obtenida a partir de los registros y encuestas, además de datos obtenidos en laboratorio por aplicación de la técnica de frotis sanguíneo, dio como resultado, distribuciones de frecuencias y medidas de tendencia central.

Datos de prevalencia

Siendo la prevalencia, una relación entre el número de resultados positivos y el número total de muestras obtenidas durante un periodo en particular determinado.

$$PP = \frac{C}{N}$$

Dónde:

PP: Prevalencia puntual

C: Número de bovinos positivos para babesiosis.

N: Número total de bovinos muestreados en la población.

Factor de riesgo (FR)

El Risk Ratio (RR) o riesgo relativo en español, es una comparación entre el riesgo de algún evento como una enfermedad entre un grupo con el riesgo entre otro que no lo tenga. Esto se logra obtener mediante la división del riesgo en el primer grupo para el riesgo del grupo dos.

Si el riesgo es de 1,0 indica que es el mismo para ambos grupos, >1 establece que existe un mayor riesgo para el grupo de interés principal o grupo uno y <1 disminuye el riesgo para dicho grupo (Cerdea et al., 2013).

Para este análisis se utilizó la medida RR, debido a que la prevalencia encontrada fue mayor al 10%, en función de los resultados de las técnicas de laboratorio, de registros y

encuestas realizadas, detallándose factores de riesgo que influyen en la presencia de babesiosis bovina.

Estadística inferencial

Una vez obtenidos los datos al aplicar la estadística descriptiva, se realizaron pruebas de Chi cuadrado para de esta forma comparar la prevalencia de babesiosis bovina con los parámetros zootécnicos, clínicos y hematológicos.

Georreferenciación

La georreferenciación aplicada en este estudio, asigna una referencia métrica en los mapas mediante un sistema de coordenadas terrestres y poder así, tener una visión espacial de la prevalencia de babesiosis bovina para constituir una herramienta para la vigilancia y control de la enfermedad.

Capítulo IV

Resultados y Discusión

Análisis de la muestra

Se obtuvieron un total de 853 muestras en 53 predios ganaderos de la zona 1 (33 predios) y zona 2 (20 predios) de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha, Ecuador. Las muestras representan el 27,28% de los 3,131 animales totales registrados en las fincas.

Distribución de animales por predio y zona de ubicación.

Tabla 10

Distribución de animales muestreados por predio y zona durante la investigación

Zona	UPA	n	%
1	P13	18	3,18
	P14	41	7,24
	P15	10	1,77
	P16	31	5,48
	P17	24	4,24
	P26	25	4,42
	P27	7	1,24
	P28	24	4,24
	P29	31	5,48
	P30	15	2,65
	P31	15	2,65
	P32	14	2,47
	P33	11	1,94
	P34	18	3,18
	P35	12	2,12
	P36	12	2,12
	P37	25	4,42
	P38	34	6,01
	P39	12	2,12
	P40	13	2,30
	P41	15	2,65
	P42	14	2,47
	P43	12	2,12
	P44	9	1,59
	P45	12	2,12
	P46	13	2,30

Zona	UPA	n	%
1	P47	9	1,59
	P48	7	1,24
	P49	7	1,24
	P50	19	3,36
	P51	13	2,30
	P52	14	2,47
	P53	30	5,30
TOTAL		566	100
Zona	UPA	n	%
2	P1	31	10,80
	P2	12	4,18
	P3	8	2,79
	P4	12	4,18
	P5	6	2,09
	P6	16	5,57
	P7	17	5,92
	P8	37	12,89
	P9	15	5,23
	P10	10	3,48
	P11	17	5,92
	P12	16	5,57
	P18	8	2,79
	P19	10	3,48
	P20	14	4,88
	P21	13	4,53
	P22	8	2,79
P23	8	2,79	
P24	21	7,32	
P25	8	2,79	
TOTAL		287	100

Nota. Cantidad de animales muestreados por predio ganadero y por zona altitudinal registrado durante la investigación. UPA: Unidad de producción agropecuaria, n: cantidad de animales, %: porcentaje, Zona 1: 100-1,017 m.s.n.m., Zona 2: >1,017 m.s.n.m.

Dentro de los animales muestreados por predio (n=853), se determinó que dentro de la zona 1, el valor más alto de distribución de muestras (7,24%) se encontraba en el predio P14, por otro lado, el valor más bajo de distribución de muestras (1,24%) se encontraba en el predio P27. En la zona 2, el valor más alto de distribución de muestras (12,89 %) se encontraba en el predio P8, por otro lado, el valor más bajo de distribución de muestras (2,09 %) se encontraba

en el predio P5. En la tabla 10 se presenta el detalle de la distribución de los animales muestreados, por cada una de las fincas que intervinieron en el estudio.

Distribución de animales muestreados según la zona de ubicación y tamaño de UPA

La distribución de animales muestreados (n= 853) según la zona de ubicación y tamaño de UPA se presenta en la tabla 11.

Tabla 11

Distribución de animales muestreados según la zona de ubicación y tamaño de UPA en el noroccidente de la provincia de Pichincha, Ecuador

Zona	Tamaño de UPA	Número de predios	Porcentaje de predios	Frecuencia de animales muestreados	Porcentaje animales muestreados
1	Pequeña	3	5,70	23	2,70
	Mediana	18	34	244	28,50
	Grande	12	22,60	399	35,20
Total Zona 1		33	62,30	566	66,40
2	Pequeña	5	9,40	38	4,50
	Mediana	11	20,80	144	16,90
	Grande	4	7,50	105	12,30
Total Zona 2		20	37,70	287	33,60
TOTAL		53	100	853	100

Nota. Cantidad y porcentaje de animales muestreados por tamaño de predio ganadero y por zona altitudinal registrado durante la investigación. UPA: Unidad de producción agropecuaria, Zona 1: 100-1,017 m.s.n.m., Zona 2: >1,017 m.s.n.m.

Hay que tomar en cuenta que, la baja cantidad de predios de la zona 2 de estudio se debe a que esta, se encuentra dentro de las estribaciones de los Andes, presentando un relieve escarpado o montañoso, con pendientes de 80 a 50% que limita al productor a extender su producción ganadera debido a la falta del mejoramiento de pasturas y geografía quebrada. Así

mismo, los predios con grandes extensiones se encuentran de forma minimizada en la zona con altitudes mayores a 1,017 m.s.n.m.

Distribución de animales muestreados según sexo, raza y edad en las dos zonas de estudio.

El sector lácteo en el Ecuador produce 6,152 litros/ día convirtiéndose en una actividad fundamental para los ganaderos (CIL Ecuador, 2021), más de tres cuartas partes de esta producción se concentra en la región Sierra, a diferencia de la producción de carne que se concentra en la región Costa, pero perdiendo terreno debido a una cuestionable competitividad y sostenibilidad.

Según cifras del ESPAE (2016) sobre la población bovina, en el 2013 se registró el 68,5% de hembras, de las cuales el 52% se distribuían en la Sierra ecuatoriana (sector lácteo) y 35% en la Costa. Esta información coincide con el 89,3% de hembras muestreadas en el presente estudio debido a que en su mayoría los predios pertenecían a predios productores de leche.

En la tabla 12 se puede observar que en la zona 1 aumenta la presencia de *Bos indicus* (10,80%) y cruces de *Bos indicus* x *Bos taurus* (33,90%) debido a que son tipos de animales comunes de zonas tropicales y subtropicales, a diferencia de la zona 2 donde dichos tipo de animales representan el 3,10% y 5,20% respectivamente. Ambas zonas tienen como tipo de animal predominante a *Bos taurus* con un total del 66,60% del total de animales muestreados.

Center for Food Security and Public Health (2008) indica que los signos clínicos de la babesiosis pueden presentarse en su mayoría en bovinos adultos y animales menores a 9 meses de edad, por esto, en la presente investigación se tomaron en cuenta animales de todas las edades que en su mayoría fueron adultos mayores a 36 meses de edad con el 51,20% y 42,50% de la zona 1 y zona 2 respectivamente.

Tabla 12

Distribución de animales muestreados según sexo, tipo de animal y edad en las dos zonas de estudio del noroccidente de la provincia de Pichincha, Ecuador

Total muestreados			
Zona	Variable	Frecuencia	Porcentaje
1	Sexo		
	Hembra	503	88,90
	Macho	63	11,10
	Tipo de animal		
	Bos taurus	305	53,90
	Bos Indicus	61	10,80
	Mestiza	192	33,90
	SI	8	1,40
	Edad		
	0 a 9 meses	90	15,90
	10 a 18 meses	50	8,80
19 a 36 meses	90	15,90	
> 36 meses	290	51,20	
SI	46	8,20	
2	Sexo		
	Hembra	259	90,20
	Macho	28	9,80
	Tipo de animal		
	Bos taurus	263	91,70
Bos Indicus	9	3,10	

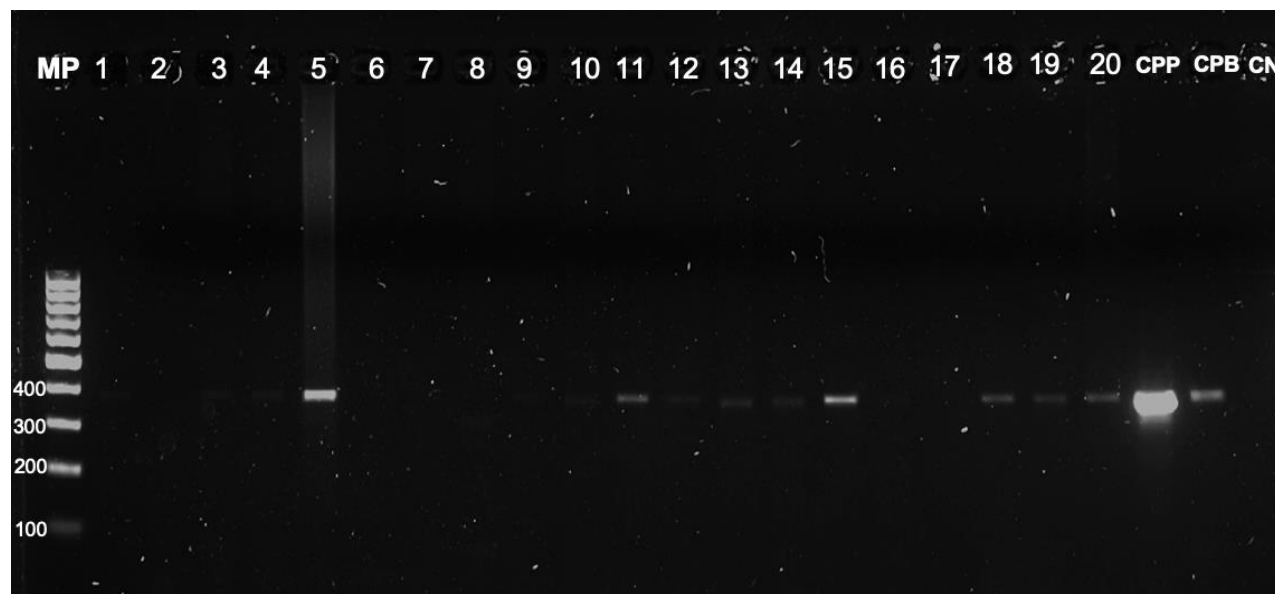
Zona	Variable	Frecuencia	Porcentaje
	Mestiza	15	5,20
	Edad		
	0 a 9 meses	26	9,10
2	10 a 18 meses	16	5,60
	19 a 36 meses	67	23,30
	>36 meses	122	42,50
	SI	56	19,50

Nota. Cantidad y porcentaje de animales muestreados por zona altitudinal y según la variable de estudio registrado durante la investigación. SI: Sin información, Mestiza: Bos Taurus x Bos indicus, Zona 1: 100-1,017 m.s.n.m., Zona 2: >1,017 m.s.n.m.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR convencional)

Figura 6

Amplificación del gen 18S rRNA Babesia sp.



Nota. Las bandas amplificadas presentaron un tamaño de: ~400 pares de bases aproximadamente (pb). MP: marcador de peso molecular, CPP: control positivo de plásmidos, CPB: control positivo de ADN bovino, CN: control negativo. De 1 a 9: muestra ADNBo-1257 a ADNBo-1265, 10 y 11: ADNBo-1268 y ADNBo-1269, 12 y 13: ADNBo-1274 y ADNBo-1275, 14 y 15: ADNBo-1285 y ADNBo-1286, 16 a 18: ADNBo-1427 a ADNBo-1429, 19: ADNBo-1434 y 20: ADNBo-1437.

Los amplicones obtenidos fueron observados mediante electroforesis, obteniendo como resultado amplicones de 400 pb en 26 muestras, lo cual representa el 23,40%.

En la figura 6 se detallan varias intensidades de las bandas por las diferentes concentraciones de ADN, pocillos 2,6,7,8 y 17 demuestran la ausencia de *Babesia* sp. en dichas muestras.

Prevalencia de babesiosis bovina

De las 853 muestras recolectadas y analizadas de 53 predios ganaderos, todas las muestras resultaron negativas para *Babesia* spp. por la técnica de frotis sanguíneo y coloración Giemsa, es por esto que, la prevalencia y factores de riesgo no se pudieron determinar para esta técnica.

Tabla 13

Resultados de frotis sanguíneo y PCR convencional para babesiosis bovina de muestras de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha, Ecuador

Resultado	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
	por frotis sanguíneo	por frotis sanguíneo	por PCR	por PCR
Positivo	0	0	26	23,40
Negativo	853	100	85	76,60
Total muestras	853	100	111	100

Nota. Casos positivos y negativos diagnosticados mediante técnica de PCR convencional y frotis sanguíneo. PCR: reacción en cadena de polimerasa.

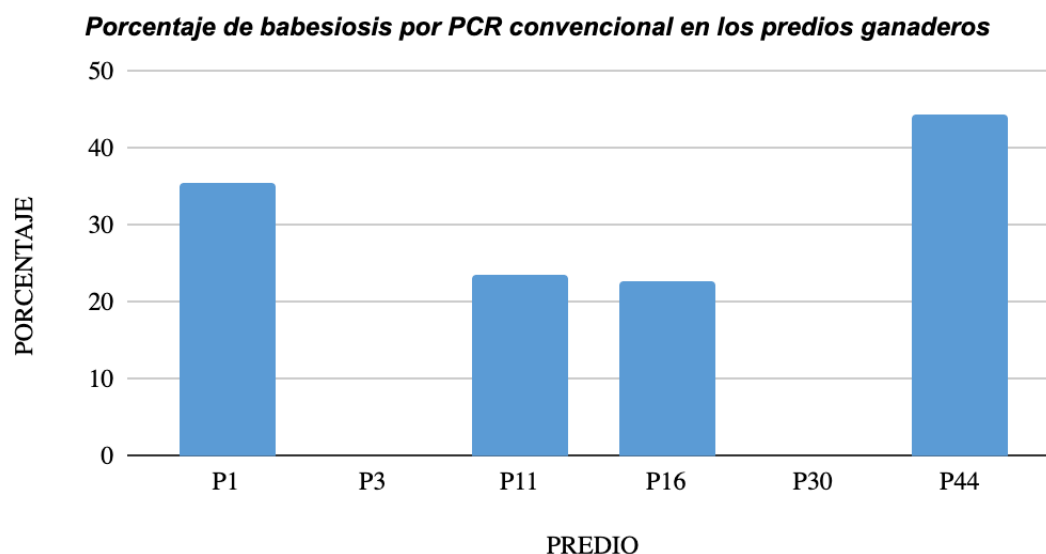
Con la aplicación de la Prueba en Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) convencional para la identificación de este hemotrópico, se encontraron 26 casos positivos de un total de 111 muestras de sangre analizadas, determinando una prevalencia de 23,42% de

babesiosis bovina en las seis fincas de las cuales procedieron los animales para el análisis por PCR.

A través de la prueba de PCR convencional se determinó la prevalencia por predio ganadero seleccionado, como se muestra en la figura 7, dentro de los cuales el que presentó mayor prevalencia (44,44%) fue el predio P44, al contrario de los predios ganaderos P3 y P30 que presentaron la menor prevalencia (0%).

Figura 7

Porcentaje de babesiosis bovinas por PCR convencional en los seis predios ganaderos previamente seleccionados de las diferentes zonas



Nota. Representación de los porcentajes de babesiosis bovina en los predios seleccionados de la zona 1 y 2, de los cuales se realizó PCR convencional. PCR: reacción en cadena de polimerasa.

Los resultados de alta prevalencia por PCR y baja prevalencia por frotis sanguíneo, mencionados anteriormente se podrían correlacionar con los resultados encontrados por Caroa (2020), donde el porcentaje de prevalencia más baja (18,8%) de *Babesia* spp. se detectó mediante frotis sanguíneo y el porcentaje más alto (65,45%) se encontró mediante la aplicación de nPCR, todo esto en muestras tomadas de fincas ganaderas de la provincia de Morona

Santiago. La diferencia de porcentajes entre ambas técnicas de diagnóstico se debe a la alta sensibilidad que tiene la técnica PCR para detectar la enfermedad en animales con baja parasitemia, por lo contrario, el frotis sanguíneo demuestra tener una baja sensibilidad para lo mencionado, pero una alta sensibilidad para casos clínicos de la enfermedad.

Análisis univariado

Prevalencia por zona de ubicación

El valor $p= 0,3986$ que se obtuvo al realizar el análisis estadístico, no demuestra una diferencia significativa en la distribución de los resultados positivos a PCR según la zona de estudio. Como se observa en la tabla 14, de un total de 111 muestras se tuvieron 26 animales positivos con un 20% de prevalencia en la zona 1 y un 26,8% en la zona 2.

Tabla 14

Prevalencia de babesiosis bovina por zona de ubicación

Zona Altitudinal	Muestras	Positivos	Porcentaje
1	55	11	20,0
2	56	15	26,8
Total	111	26	23,4

Nota. Cantidad de muestras diagnosticadas y positivas por PCR en ambas zonas altitudinales. Zona 1: 100-1,017 m.s.n.m., Zona 2: >1,017 m.s.n.m.

Prevalencia por sexo

Los análisis de los resultados en función del sexo permitieron evidenciar una diferencia significativa ($p= 0,0481$).

En la tabla 15 se puede observar que la mayor cantidad de animales positivos se encuentran en el grupo de hembras, esto se debe a que se muestrearon más hembras que machos debido al tipo de producción encontrada durante el estudio. Las hembras tienen más edad, teniendo más tiempo de permanencia en el hato y por ello mayor probabilidad de ser infectadas.

Tabla 15*Prevalencia de babesiosis bovina por sexo*

Sexo	Muestras	Positivos	Porcentaje
Hembra	106	23	21,7
Macho	5	3	60,0
Total	111	26	23,4

Nota. Cantidad de muestras diagnosticadas y positivas por PCR, dependiendo del sexo.

Prevalencia por tipo de animal

El valor $p=0,9815$ obtenido al realizar el análisis estadístico, no indica que los resultados obtenidos por PCR varíen en dependencia del tipo de animal.

Center for Food Security and Public Health (2008) indica que las razas de bovinos como *B. indicus* y el cruce entre de *B. indicus* y *B. taurus* son más resistentes a la enfermedad que *B. taurus*, coincidiendo con los resultados obtenidos en esta investigación.

Tabla 16*Prevalencia de babesiosis bovina por tipo de animal*

Tipo de animal	Muestras	Positivos	Porcentaje
Bos taurus	81	19	23,5
Bos Indicus	5	1	20,0
Mestiza	25	6	24,0
Total	111	26	23,4

Nota. Cantidad de muestras diagnosticadas y positivas por PCR, dependiendo del tipo de animal.

La mayor cantidad bovinos muestreados se encuentran en el grupo de animales *B. taurus*, los cuales representan la mayoría (53,90% en la zona 1 y 91,70% en la zona 2) de animales muestreados independientemente de la zona, teniendo una prevalencia del 23,5% con 19 animales positivos a babesiosis bovina observados en la tabla 16.

Prevalencia por edad

El análisis estadístico realizado durante la investigación establece que no existe una diferencia significativa entre la edad del animal y la prevalencia obtenida con un valor $p=0,2319$.

Con el 38,9% de prevalencia, los animales con un rango de edad entre los 0 a 9 meses tienen la mayor prevalencia, poniendo en consideración que el muestreo se realizó sin limitaciones de edad, además de que Center for Food Security and Public Health (2008) menciona que los signos clínicos de la babesiosis pueden presentarse en su mayoría en bovinos adultos y animales menores a 9 meses de edad.

Los animales mayores a 36 meses poseen la mayor cantidad de muestras obtenidas debido a que en los predios existían animales adultos en su mayoría, con una alta permanencia en el hato para la producción.

Tabla 17

Prevalencia de babesiosis bovina por edad

Edad	Muestras	Positivos	Porcentaje
0 a 9 meses	18	7	38,9
10 a 18 meses	2	0	0,0
19 a 36 meses	14	4	28,6
>36 meses	47	8	17,0
Total	81	19	23,5

Nota. Cantidad de muestras diagnosticadas y positivas por PCR, dependiendo de la edad.

Prevalencia en función de la temperatura

Los animales con temperatura menor o igual a 39,5 (hipotermia o normal) representan la mayor cantidad de muestras recolectadas, de las cuales se obtuvo una prevalencia del 22,1% y, por lo contrario, de los animales con una temperatura mayor a 39,6 (hipertermia) con una baja cantidad de muestras como se detalla en la tabla 18, se tuvo una prevalencia del

42,9%. El valor $p= 0,2097$ durante el estudio, estableció que no existe una diferencia significativa entre la temperatura que presentó el animal y la prevalencia.

Tabla 18

Prevalencia de babesiosis bovina en función de la temperatura

Temperatura	Muestras	Positivos	Porcentaje
≤ 39,5	104	23	22,1
>39,6	7	3	42,9
Total	111		23,4

Nota. Cantidad de muestras diagnosticadas y positivas por PCR, dependiendo de la temperatura.

Prevalencia en función de la presencia de garrapatas

De las muestras seleccionadas, 98 fueron de animales con presencia del vector principal como lo son las garrapatas. A pesar de la prevalencia del 23,5%, el valor $p= 0,9749$ indica que no existe una diferencia significativa entre la presencia de las garrapatas y la prevalencia de la enfermedad.

Tabla 19

Prevalencia de babesiosis bovina en función de la presencia de garrapatas

Presencia de garrapatas	Muestras	Positivos	Porcentaje
0	13	3	23,1
1	98	23	23,5
Total	111	26	23,4

Nota. Cantidad de muestras diagnosticadas y positivas por PCR, dependiendo de la presencia de garrapatas. 0: no presenta garrapatas, 1: presenta garrapatas.

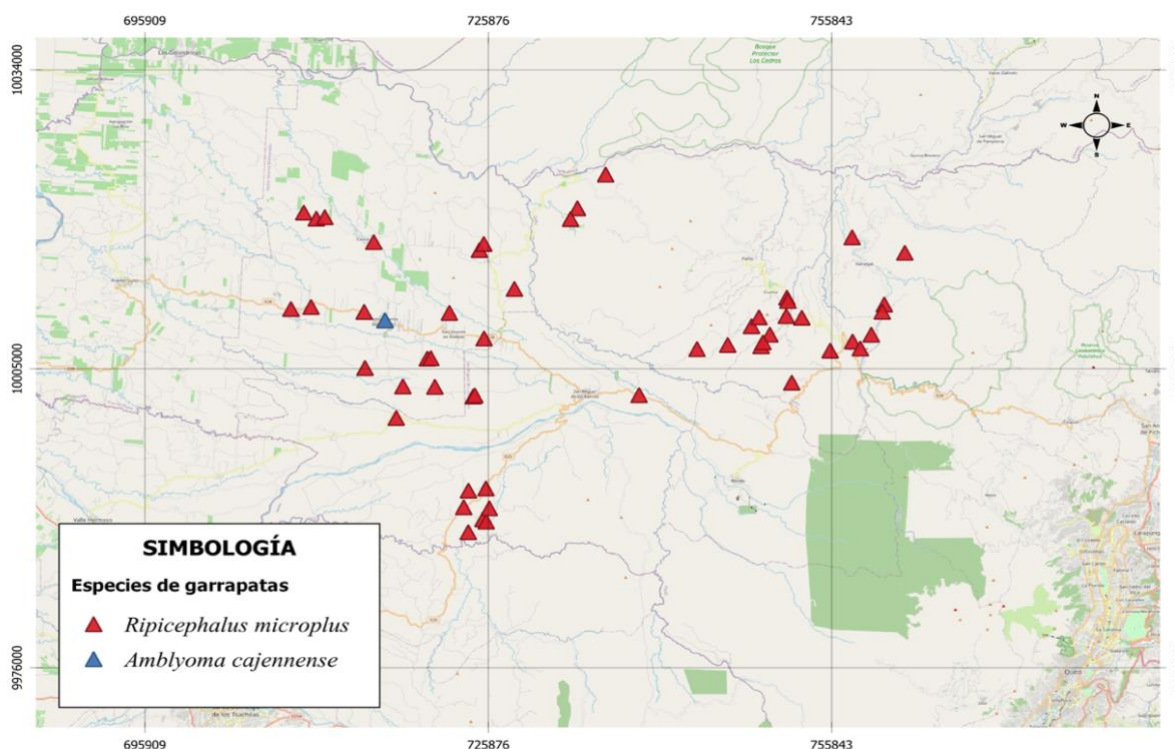
Caracterización taxonómica de las garrapatas

En la tabla 20 se detalla la identificación de dos especies de garrapatas: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (hembras y machos) y *Amblyoma mixtum* (macho) en las zonas de estudio, las cuales fueron caracterizadas en base a lo establecido por Guerrero (1996) y Labruna (2000).

Hay que tomar en cuenta que en ambas zonas prevalece *Ripicephalus microplus*, con un alto porcentaje de hembras recolectadas e identificadas (86,90% en la zona 1 y 84,44% en la zona 2), las cuales son de importancia económica para el ganadero, debido a su potencial acción de vector principal de babesiosis bovina.

Figura 8

Especies de garrapatas identificadas en las zonas de muestreo de las diferentes Unidades de Producción animal (UPA) de la zona nor-occidental de Pichincha



Nota. Mapa de ubicación de predios ganaderos muestreados para la investigación y la especie de garrapata presente en los mismos.

Nava et al. (2014) en un estudio donde se realizó la reevaluación taxonómica de *Amblyoma cajennense*, detalla que, en las zonas tropicales de Quevedo, Pasaje, Pedro Carbo, La Grecia y Puerto Quito se encontraron ejemplares de esta especie, coincidiendo con la zona de la presente investigación, donde se encontró la misma especie antes mencionada .

Tabla 20

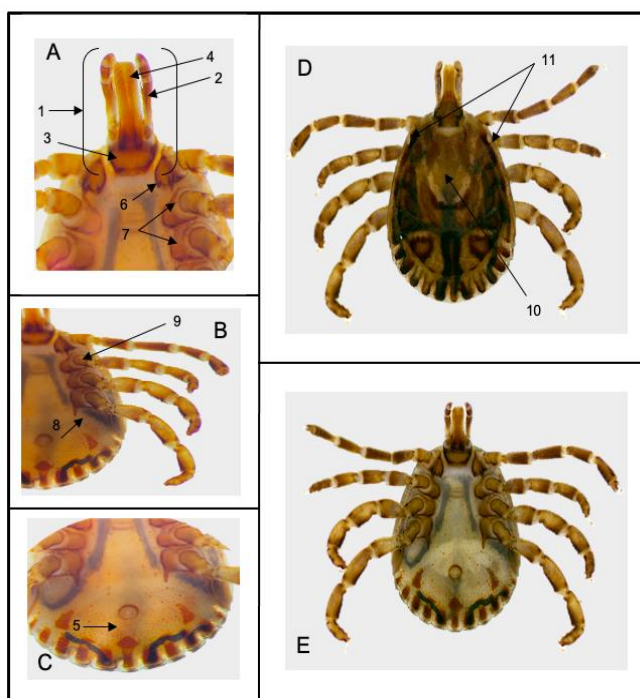
Garrapatas de la familia Ixodidae de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha, encontradas en bovinos muestreados para diagnóstico de babesiosis

Zona	Especie	Hembras		Machos		Total	
		N	%	N	%	N	%
1	<i>Ripicephalus microplus</i>	73	86,90	11	13,10	84	98,82
	<i>Amblyoma cajennense</i>	0	0	1	100%	1	1,17
2	<i>Ripicephalus microplus</i>	38	84,44	7	15,56	45	100
	<i>Amblyoma cajennense</i>	0	0,0	0	0,0	0	0,0

Nota. Se puede observar la cantidad de especies de garrapatas hembra y machos presentes en la investigación en diferentes zonas altitudinales. Zona 1: 100-1,017 m.s.n.m., Zona 2: >1,017 m.s.n.m, N: número, %: porcentaje.

Figura 9

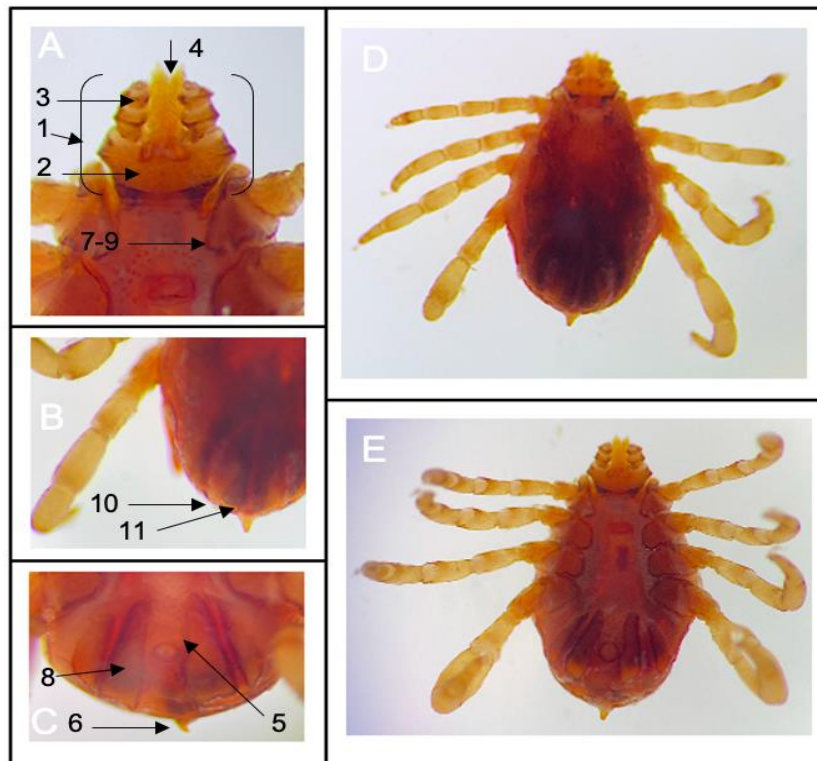
Amblyoma cajennense macho adulto en vista dorsal y ventral



Nota. Para la identificación de *Amblyoma cajennense* adulto macho de la familia Ixodidae se utilizaron de guía las siguientes características: 1) Poseen un gnathosoma largo, 2) Palpos largos, 3) Base del capítulo sub-rectangular, 4) Fórmula dental 3/3 en 4-5 filas, 5) Surco anal post anal, 6) Coxa I con dos espuelas distintas de longitud media (externa más larga), 7) Coxa II y III espolones redondeados cortos en forma de placa saliente 8), Coxa IV con espolón interno, largo y agudo, 9) Trocánteres sin espolón, 10) Escudo con ornamentación y 11) Ojos planos. A: cabeza, B: cuerpo, C: parte posterior, D: vista dorsal, E: vista ventral.

Figura 10

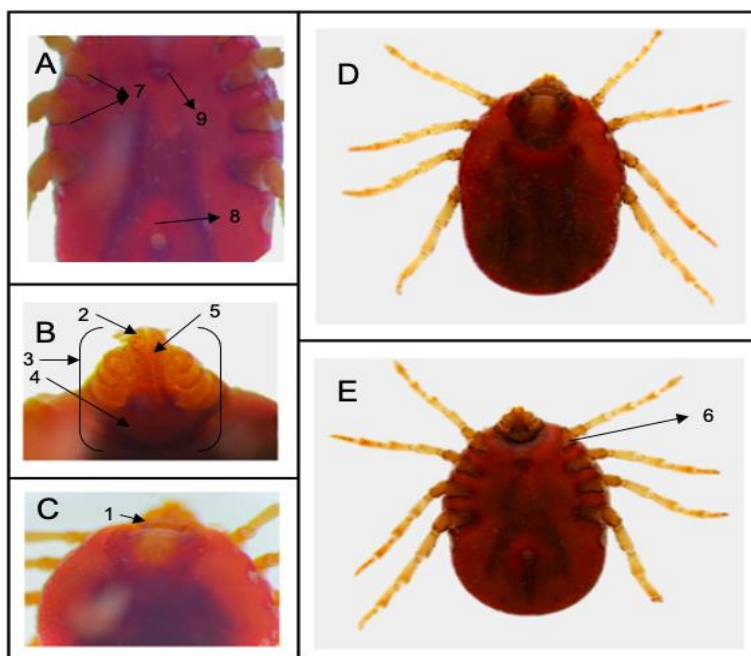
Rhipicephalus (Boophilus) microplus macho adulto en vista dorsal y ventral



Nota. La identificación de *Rhipicephalus microplus* adulto macho de la familia Ixodidae se realizó con la guía de las siguientes características: 1) Gnatossoma corto, 2) Capítulo hexagonal, 3) Palpos más cortos que el hipostoma, 4) Dientes del hipostoma están en 4+4 columnas, 5) Surco anal ausente, 6) Apéndice caudal presente y angosto, 7) Coxa I con dos espolones pequeños, 8) Posee 4 placas adanales, 9) Espolones de la coxa I son largos, 10) Los espolones de la placa ventral son indistintos en vista dorsal y 11) Ausencia de festones. A: cabeza, B: cuerpo y parte posterior, C: parte posterior, D: vista dorsal, E: vista ventral.

Figura 11

Rhipicephalus (Boophilus) microplus macho adulto en vista dorsal y ventral



Nota. *Rhipicephalus microplus* adulto hembra de la familia Ixodidae se realizó con la guía de las siguientes características: 1) Áreas porosas con forma ancha ovalada, 2) Palpos más cortos que el hipostoma, 3) Gnatossoma corto, 4) Capítulo hexagonal, 5) Dientes del hipostoma están en 4+4 columnas, 6) Espolones de la coxa I son distintivos, 7) Espolones en la coxa II y III están presentes, 8) Surco anal ausente y 9) Abertura genital con forma de U ancha. A: cuerpo, B: cabeza, C: cabeza y cuerpo, D: vista dorsal, E: vista ventral.

Factores de riesgo

Un sub grupo de las 53 fincas, 6 fincas fueron analizadas por PCR.

Mediante la utilización de la herramienta estadística epidemiológica EpiInfo 7,2, el análisis de la distribución de los resultados positivos a babesiosis bovina, mediante la prueba de PCR, no permitió identificar factores de riesgo asociados a la enfermedad. El análisis presentado en la tabla 21, demostró que en factores como: zona altitudinal movimiento de animales y presencia de garrapatas, el valor del Riesgo Relativo (RR) en el intervalo de confianza calculado, contenía el valor de 1, lo que no permitió considerar los factores como de riesgo.

Tabla 21

Factores de riesgo para babesiosis bovina en la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha, Ecuador

Factor	Riesgo relativo	Límite inferior	Límite superior	Valor p
Zona altitudinal	1,0000	0,1040	9,6139	1,0000
Movimiento de animales	1,0000	0,1040	9,6139	1,0000
Garrapatas	1,0196	0,3031	3,4300	0,9749

Nota. Posibles factores indicadores de la presencia de babesiosis bovina en el presente estudio, analizados mediante riesgo relativo (RR).

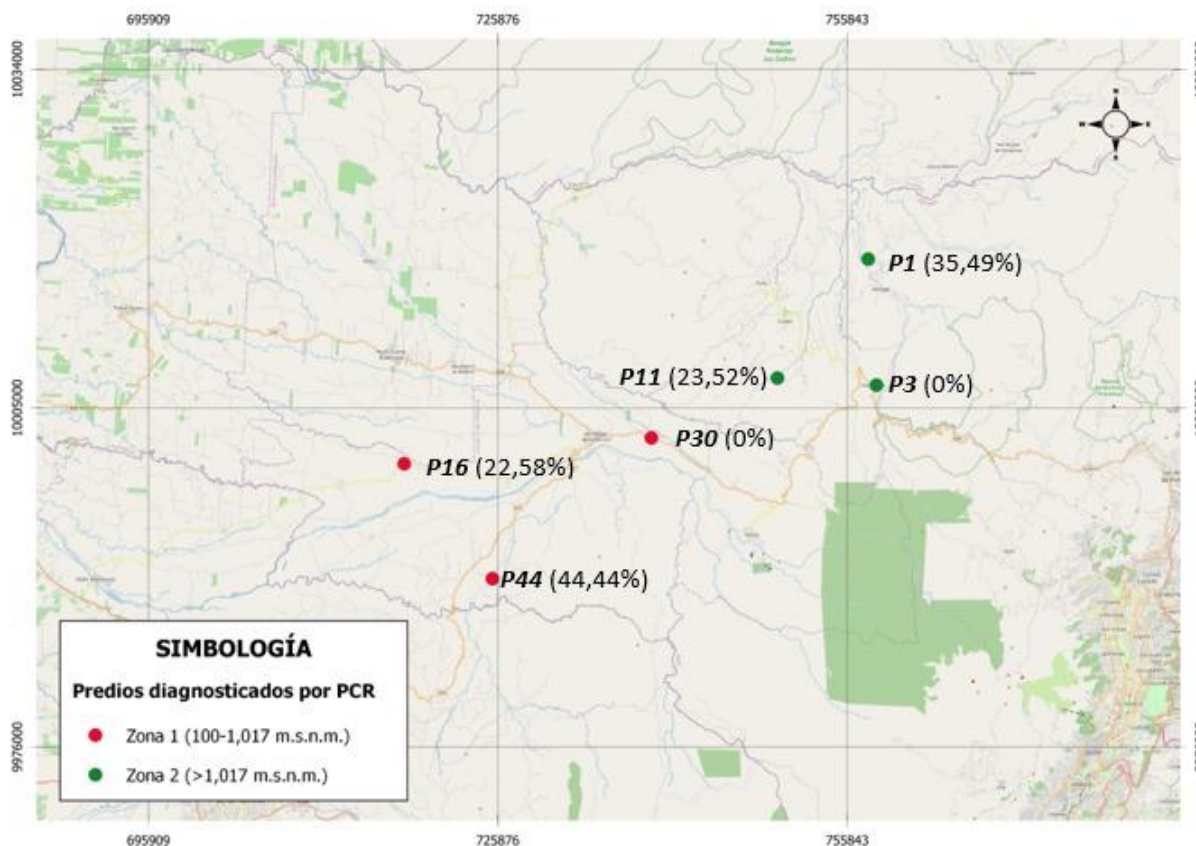
Hay que tomar en cuenta que los factores de riesgo no pudieron ser determinados, porque el diagnóstico por PCR fue realizado en un sub grupo del total de las fincas muestreadas, las cuales fueron seleccionadas porque presentaban antecedentes de babesiosis, altos porcentajes de anaplasmosis y casos positivos a tripanosomosis. Arboleda (2019) indica que al igual que en este estudio, la movilización de animales fuera de la finca y la presencia de garrapatas no son factores de riesgo con 1,0600 y 0,5264 de riesgo relativo (95% intervalo de confianza) respectivamente.

Georreferenciación

Los resultados de prevalencia de babesiosis bovina en los predios ganaderos seleccionados se utilizaron para la realizar la georreferenciación como se observa en la figura 12, teniendo una visión espacial de la enfermedad en la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha y obtener una herramienta para la vigilancia y control.

Figura 12

Georreferenciación de babesiosis bovina de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha



Nota. Mapa de ubicación y prevalencia de los predios ganaderos muestreados y diagnosticados mediante PCR convencional durante la presente la investigación en la zona 1 y zona 2.

Los predios ganaderos P3 (pequeña) y P30 (mediana) tuvieron el 0% de prevalencia de la enfermedad, los predios con mayor prevalencia fueron el P44 con el 44,4% en la zona 1 y el P1 con el 35,49%.

Además, no existe agrupación entre los casos positivos debido a que el subgrupo analizado por PCR solo era de 6 fincas, de las 53 totales muestreadas.

Capítulo V

Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

- Durante la presente investigación se determinó el 0% y 23,40% de prevalencia de *Babesia* spp., diagnosticada mediante la técnica de frotis sanguíneo y PCR convencional respectivamente, en predios de la zona nor-occidental de la provincia de Pichincha, Ecuador.
- Se identificaron dos especies de garrapatas: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (hembras y machos) y *Amblyoma mixtum* (macho) en las zonas de estudio pertenecientes a la provincia de Pichincha, Ecuador.
- No fueron determinados los factores de riesgo, debido a que no se evidencia diferencia significativa en la distribución de los resultados positivos a PCR en las fincas analizadas.
- Georreferenciar los resultados obtenidos por PCR convencional, permitió observar la distribución de *Babesia* spp. en las diferentes zonas de muestreo para la vigilancia y controla enfermedad, debido al tamaño mínimo del subgrupo analizado por PCR, no se evidenció el agrupamiento, de las fincas positivas.

Recomendaciones

- Estudiar a fondo en fincas pequeñas y medianas que fueron negativas a babesiosis por PCR, para la determinación de posible factor protector.
- Realizar un PCR RFLP, mediante la utilización de enzimas de restricción, para la visualización de diferentes fragmentos de ADN, con la finalidad de caracterizar molecularmente a las especies de *Babesia* existentes en la zona de estudios
- Realizar la caracterización molecular de las especies de garrapatas, con la finalidad de corroborar el hallazgo de *Rhipicephalus microplus* y *Amblyoma cajennense*.

Bibliografía

AGROCALIDAD. (2016). *Manual de procedimiento para la vigilancia y control de la inspección ante y post- mortem de animales de abasto en mataderos.*

<https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/fae3.pdf>

AGROCALIDAD. (2022). *Manual general de cuarentena.* <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2022/03/MANUAL-GENERAL-DE-CUARENTENA-WEB-10.03.2022.pdf>

Aguayo, G. (2018). *Seroprevalencia de Babesia bigemina en los cantones Río Verde, Quinindé y Eloy Alfaro de la provincia de Esmeraldas [USFQ].*

<http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/7284>

Araoz, V., Micheloud, J. F., Gaido, A. B., Salatin, A. O., & Aguirre, D. H. (2017). Brotes de babesiosis y anaplasmosis bovina diagnosticados en el INTA Salta, Argentina: período 2006-2016. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias*, 16(2), 101–105.

<https://doi.org/10.14409/favecv.v16i2.7038>

Arboleda, M. (2019). *DIAGNÓSTICO MOLECULAR Y PREVALENCIA DE Babesia spp. MEDIANTE PCR-RFLP EN GANADO BOVINO DE LA PROVINCIA DE MANABÍ – ECUADOR [Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE].*

<http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/21061>

Ayard, L. (2020). *Étude des connaissances, attitudes et pratiques des éleveurs de bovins en Polynésie Française sur la gestion de la babésiose et l'anaplasmosse [Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse].* <https://oatao.univ-toulouse.fr/27296/>

Bariani, M. (2018). *Diagnóstico serológico de Babesia bovis, Babesia bigemina y Anaplasma marginale en establecimientos del departamento de Tacuarembó [Universidad de la Republica].* <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/25105>

- Benavides, E., Romero, J., & Villamil, C. (2016). *Las garrapatas del ganado bovino y los agentes de enfermedad que transmiten en escenarios epidemiológicos de cambio climático: Guía para el manejo de garrapatas y adaptación al cambio climático* (pp. 20–31). <http://repositorio.iica.int/handle/11324/7231>
- Bobbi, P. (2015). Parasitology. En J. H. Jorgensen, K. C. Carroll, G. Funke, M. A. Pfaller, M. L. Landry, S. S. Richter, & D. W. Warnock (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (Vol. 2, pp. 2338–2357). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555817381>
- Bock, R., Jackson, L., de Vos, A., & Jorgensen, W. (2004). Babesiosis of cattle. *Parasitology*, 129(SUPPL.). <https://doi.org/10.1017/S0031182004005190>
- Bustillos, R. (2014). *Ecología parasitaria de la garrapata (Acari: Ixodidae) en bovinos en dos áreas geográficas del Ecuador* [Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6612>
- Caroa, D. (2020). *Identificación de hemoparásitos en sangre de bovinos y humanos, en dos áreas ganaderas de la provincia de Morona Santiago a través de microscopía y Npcr*. Universidad Central del Ecuador.
- Center for Food Security and Public Health. (2008). *Babesiosis bovina*. <https://dr.lib.iastate.edu/handle/20.500.12876/14200>
- Cerda, J., Vera, C., & Rada, G. (2013). Risk Ratio: aspectos teóricos y prácticos. *Revista Medica Chile*.
- Chávez-Larrea, M. A., Cholota-Iza, C., Medina-Naranjo, V., Yugcha-Díaz, M., Ron-Román, J., Martín-Solano, S., Gómez-Mendoza, G., Saegerman, C., & Reyna-Bello, A. (2021). Detection of *Babesia* spp. in high altitude cattle in Ecuador, possible evidence of the adaptation of vectors and diseases to new climatic conditions. *Pathogens*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/pathogens10121593>

- CIL Ecuador. (2021). *El sector lácteo ecuatoriano se reactiva con miras positivas para el 2022*.
<https://www.cil-ecuador.org/post/el-sector-l%C3%A1cteo-ecuadoriano-se-reactiva-con-miras-positivas-para-el-2022>
- ESPAC. (2021). *Destino de la Producción Lechera De La Provincia de Pichincha - 2021* .
<http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/cifras-agroproductivas>
- ESPAE. (2016). *Industria de ganadería de carne*. <http://www.espae.espol.edu.ec/publicaciones-de-espae/>
- Estrada-Peña, A. (2015). Orden Ixodida: Las garrapatas. *Revista IDE@-SEA, N° 13*, 1–15.
www.sea-entomologia.org/IDE@
- FAO. (2022). *Producción animal*. FAO. <https://www.fao.org/animal-production/es/>
- GADPP. (2017). *Agenda de desarrollo zonal noroccidente de Pichincha*.
http://sitp.pichincha.gob.ec/repositorio/disenio_paginas/archivos/Agenda%20Desarrollo%20Noroccidente%202015-2017.pdf
- GADPP. (2018). *Atlas climático de Pichincha*.
http://sitp.pichincha.gob.ec/repositorio/disenio_paginas/archivos/Atlas%20Climatico%20Pichincha.pdf
- González, H., & Catín, J. (2020). *Diagnóstico de la situación sanitaria y económica referente a hemoparásitos que afectan el hato bovino activamente productivo de la comarca el Alto, Municipio de Santo Tomás, Departamento de Chontales* [Universidad Nacional Agraria].
<https://repositorio.una.edu.ni/4259/>
- González, J., Echaide, I., Pabón, A., Piñeros, J. G., Blair, S., & Tobón-Castaño, A. (2018). Babesiosis prevalence in malaria-endemic regions of Colombia. *Journal of Vector Borne* , 55, 222–229. <https://doi.org/10.4103/0972-9062.249480>
- González, J., Holguín, A. F., & Tobón, A. (2020). Diagnóstico de *Babesia bovis* (Babesiidae) y *Babesia bigemina* (Babesiidae) en garrapatas recolectadas en los municipios Turbo y

- Necoclí (Antioquia) en 2014. *Actualidades Biológicas*, 41(111), 1–7.
<https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a05>
- Guamán-Quinche, F. S., Sarango-Guamán, D. E., & Guerrero-Pincay, Á. E. (2020). Prevalencia de hemoparásitos en bovino de carne en la Comunidad Cocha del Betano, Ecuador. *Revista Arbitrada Interdisciplinaria Koinonía*, 5(2), 131.
<https://doi.org/10.35381/r.k.v5i2.987>
- Guerrero, R. (1996). *Las garrapatas de Venezuela (Acarina: Ixodoidea). Listado de especies y claves para su identificación*. XXXVI, 1–14.
- Insuaste, E. (2021). *Identificación molecular de Babesia bovis y B. bigemina en garrapatas Rhipicephalus (Boophilus) microplus de la región norte amazónica del Ecuador*.
- Labruna, M. (2020). *Anatomía externa de las garrapatas, con énfasis en la familia Ixodidae* (1ª ed.). Universidade de São Paulo.
- Laha, R., Das, M., & Sen, A. (2015). Morphology, epidemiology, and phylogeny of Babesia: An overview. *Tropical Parasitology*, 5(2), 94–98. <https://doi.org/10.4103/2229-5070.162490>
- Martinez, I., Jacobo, R., Cipolini, F., Martinez, D., Storani, C., Ragazzi, A., Echaide, I., & Torioni De Echaide, S. (2014). Estudio prospectivo de las primo infecciones por Babesia bovis en terneros brahman y brangus de un área enzoótica de Corrientes, Argentina. *Revista FAVE-Ciencias Veterinarias*, 13(2).
- Medina, V., Reyna-Bello, A., Tavares-Marques, L., Campos, A. M., Ron-Román, J., Moyano, J. C., Jarrín, E., Sandoval, E., & Chávez, M. A. (2017). Diagnosis of hemotropics Anaplasma marginale, Trypanosoma spp. and Babesia spp. by ELISAI and PCR techniques in three livestock farms of Pastaza Province, Ecuador. *Revista Científica FCV LUZ*, 27.
<https://www.researchgate.net/publication/315829740>
- Morilla, A. (2009). *Inmunología de la babesiosis*. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias, S.A.R.H.

- Mtshali, M. S., & Mtshali, P. S. (2013). Molecular diagnosis and phylogenetic analysis of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* hemoparasites from cattle in South Africa. *BMC Veterinary Research*, 9. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-154>
- Nava, S., Beati, L., Labruna, M. B., Cáceres, A. G., Mangold, A. J., & Guglielmone, A. A. (2014). Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 5(3), 252–276. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.11.004>
- Nevils, M. A., Figueroa, J. v., Turk, J. R., Canto, G. J., Le, V., Ellersieck, M. R., & Carson, C. A. (2000). Cloned lines of *Babesia bovis* differ in their ability to induce cerebral babesiosis in cattle. *Parasitology Research*, 86(6), 437–443. <https://doi.org/10.1007/s004360050691>
- Niño, J. (2021). *Identificación de Babesia sp. por técnicas moleculares y serológicas en animales domésticos en zonas rurales priorizadas del departamento del Cauca* [Pontificia Universidad Javeriana]. <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/58379>
- OIE. (2018). Babesiosis bovina. En *Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres* (8ª ed., Vols. 1–3, pp. 1–9). <http://www.oie.int/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>
- Palacios, M. (2019). *Puesta a punto de una prueba serológica para estudios de seroprevalencia de babesiosis bovina utilizando proteínas recombinantes de Babesia bovis como antígenos* [Universidad Autónoma del Estado de México]. <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/105743>
- Polanco-Echeverry, D., & Alberto Ríos-Osorio, L. (2016). Aspectos biológicos y ecológicos de las garrapatas duras. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*, 17, 81–95.

- Rodriguez, R., Rosado, A., Basto, G., Sotero, Z., Rosario, R., & Fragoso, H. (2006). *Manual técnico para el control de garrapatas en el ganado bovino* (1ª ed., Vol. 1).
<https://www.researchgate.net/publication/268223833>
- Rodríguez, Y. (2020). *Evaluación de la transmisión transovárica de Anaplasma marginale y Babesia spp. en garrapatas teleoginas Rhipicephalus microplus de la Provincia de Santo Domingo de los* [Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE].
<http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/23155>
- Salamanca, A., Tamasaukas, R., Cesar-Giraldo, Quintero, A., & Hernandez-Rodríguez, M. (2018). Interacción entre factores ambientales y raciales sobre la prevalencia de hemotrópicos en hembras bovinas doble propósito en sabanas inundables araucanas, Colombia. *Revista Científica, FCV-LUZ*, XXVIII(1).
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95955168007>
- Saleh, M. A. (2009). Erythrocytic oxidative damage in crossbred cattle naturally infected with *Babesia bigemina*. *Research in Veterinary Science*, 86(1), 43–48.
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2008.05.005>
- Santamaria, E., Figueroa, J., Ajj, L., Mc, R., Mja, Á., & Saborio, J. (2019). Monitoreo clínico y serológico de bovinos esplectomizados e infectados experimentalmente con *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*. *Research Gate*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.34832.97280>
- Shebish, E., Vemulapalli, R., & Oseto, C. (2012). Prevalence and molecular detection of *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle from Puntarenas Province, Costa Rica. *Veterinary Parasitology*, 188(1–2), 164–167.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.03.009>
- Vasco, K. (2013). *Estandarización de la técnica de análisis de fusión de alta resolución para la detección de Babesia en garrapatas utilizando polimorfismos de nucleótidos* [Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/975>

Walker, A., Bouatour, A., J.-L. Camicas, Estrada-Peña, A., Horak, I., & Latif, A. (2014). *Ticks of domestic animals in Africa : a guide to identification of species*. Bioscience Reports.

Moreira Mendoza Lady Gema_TIC:

https://drive.google.com/drive/folders/15iz5PTt_GT6glafOlonMPHX-52gLR6DA?usp=sharing