



**Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de tripanosomiasis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona noroccidental de la provincia de Pichincha**

Osorio Añazco, Sebastián Andrés

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario

Dr. Ron Román, Jorge Washington Ph.D.

24 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 tripanosomiasis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona noroccidental de la provincia de Pichincha** fue realizado por el señor **Osorio Añazco, Sebastián Andrés**, el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizada en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 24 de agosto del 2022



Dr. Ron Román, Jorge Washington Ph.D.

C. C. 1709505125

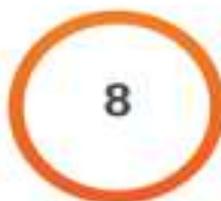
**Resultados de la herramienta para verificación y/o análisis de similitud de contenidos**

CL\_Osorio Añazco Sebastian Andres\_tic.docx

Scanned on: 15:19 August 24, 2022 UTC



Overall Similarity Score



Results Found



Total Words in Text

Identical Words	79
Words with Minor Changes	11
Paraphrased Words	140
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, **Osorio Añazco, Sebastián Andrés**, con cédula de ciudadanía n°1750309914, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de tripanosomiasis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona noroccidental 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, 24 de agosto de 2022

**Osorio Añazco, Sebastián Andrés**

C.C.: 1750309914



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera Agropecuaria**

**Autorización de Publicación**

Yo **Osorio Añazco, Sebastián Andrés**, con cédula de ciudadanía n°1750309914, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Determinación de la prevalencia y factores de riesgo de tripanosomiasis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona noroccidental de la provincia de Pichincha** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 24 de agosto de 2022

**Osorio Añazco, Sebastián Andrés**

C.C.: 1750309914

## **Dedicatoria**

A Dios, por darme vida y fortaleza para ser cada día un mejor ser humano.

A mis padres, Andrés y Yolanda por su incondicional amor y esfuerzo; a quienes admiro infinitamente por todos los sacrificios que realizan a diario por nuestra familia, sin duda son seres magníficos que han contribuido con grandes valores para mi formación profesional.

A mis hermanos por ser uno de los principales motivos para lograr mi superación personal.

A mi familia, tías, tíos, abuelitos, abuelitas, por su cariño, su apoyo y su ayuda en los momentos más difíciles.

## **Agradecimientos**

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE por otorgarme la oportunidad de formarme profesionalmente en sus aulas, por permitirme conocer grandes profesionales de diferentes áreas de las ciencias agropecuarias y por las enriquecedoras experiencias que me llevo de esta prestigiosa institución.

Al Doctor Jorge Ron Román PhD. por permitirme formar parte de un reconocido proyecto y grupo de investigación, por ser mi tutor y guía para el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. María Augusta Chávez y al Dr. Armando Reyna, por sus consejos y experiencias compartidas durante todo el proceso de trabajo en campo.

A mis compañeros y amigos del laboratorio de Sanidad Animal y Mejoramiento Genético que fueron parte importante de este trabajo.

A mi compañera y confidente, Pamela quien siempre me ayudó y me extendió su mano.

Al personal técnico del Laboratorio de Sanidad Animal y Mejoramiento Genético, quienes me han brindado las facilidades y los recursos necesarios para el desarrollo de este trabajo.

## Índice de contenidos

Carátula .....	1
Certificación .....	2
Resultados 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.....	13
Lista de abreviaturas.....	14
Resumen .....	15
Abstract.....	16
Capítulo I .....	17
Introducción .....	17
Antecedentes .....	17
Justificación.....	18
Objetivos .....	19
Objetivo general.....	19
Objetivos específicos .....	19
Hipótesis .....	19
Capítulo II .....	21
Revisión de literatura .....	21

Generalidades de la tripanosomiasis .....	21
Agente causal.....	22
Distribución y prevalencia de la enfermedad .....	22
Taxonomía .....	25
Morfología .....	27
Hospederos y reservorios.....	29
Ciclo evolutivo .....	30
Transmisión y vectores.....	32
Signos clínicos .....	33
Diagnóstico.....	36
Métodos directos .....	36
Prueba de Woo.....	36
Frotis de gota gruesa con Giemsa .....	37
Reacción en Cadena de la Polimerasa .....	37
Métodos indirectos .....	38
IFAT.....	38
iELISA.....	39
Factores de riesgo.....	39
Tratamiento y control.....	40
Capítulo III .....	42
Metodología .....	42
Ubicación geográfica y ecológica .....	42
Caracterización de los predios.....	43
Determinación del tamaño de muestra .....	43
Toma de muestras de sangre.....	45

Extracción de sangre.....	45
Aplicación de la encuesta epidemiológica .....	46
Georreferenciación de los predios.....	47
Captura de tábanos.....	47
Determinación de hematocrito y prueba de Woo .....	48
Determinación de proteínas totales séricas .....	48
Análisis estadístico.....	49
Diseño no experimental .....	49
Variable de respuesta .....	50
Análisis de las variables.....	50
Estadística descriptiva .....	50
Datos de prevalencia .....	50
Factores de riesgo .....	51
Estadística inferencial.....	52
Capítulo IV.....	53
Resultados y Discusión.....	53
Georreferenciación.....	53
Estadística descriptiva de la muestra.....	54
Distribución los animales muestreados por zona altitudinal, tamaño de UPA y sexo.....	55
Distribución de los animales muestreados por edad y sexo .....	56
Distribución de animales por raza .....	57
Prevalencia de tripanosomiasis .....	58
Prevalencia por tamaño de finca .....	59
Prevalencia a nivel de zona, tamaño de finca y sexo.....	60

Prevalencia por raza.....	62
Prevalencia por edad.....	64
Dependencia de variables .....	65
Prevalencia de anemia y mucosas pálidas .....	67
Prevalencia de anemia por fincas y zona altitudinal.....	68
Signos clínicos .....	68
Análisis de signos clínicos por zona .....	70
Presencia de Tábanos.....	71
Factores de riesgo.....	72
Capítulo V .....	76
Conclusiones y Recomendaciones .....	76
Conclusiones.....	76
Recomendaciones.....	78
Bibliografía.....	79

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b>	Prevalencia de tripanosomiasis a nivel de América Latina .....	24
<b>Tabla 2</b>	Interpretación de los resultados de hematocrito y proteínas totales .....	34
<b>Tabla 3</b>	Especificidad y sensibilidad de la prueba Woo de acuerdo al nivel de parasitemia .....	37
<b>Tabla 4</b>	Caracterización de fincas de la zona noroccidental de Pichincha .....	43
<b>Tabla 5</b>	Porcentaje de muestreo en fincas de acuerdo al número total de bovinos .....	44
<b>Tabla 6</b>	Distribución de las muestras en base al tamaño de UPA .....	54
<b>Tabla 7</b>	Distribución de las muestras por zona, tamaño de finca y sexo .....	55
<b>Tabla 8</b>	Distribución de las muestras por edad y sexo .....	56
<b>Tabla 9</b>	Distribución de las muestras por categorías de raza .....	57
<b>Tabla 10</b>	Prevalencia general de la tripanosomiasis por prueba diagnóstica .....	58
<b>Tabla 11</b>	Prevalencia de la tripanosomiasis por tamaño de UPA .....	59
<b>Tabla 12</b>	Prevalencia de la tripanosomiasis por tamaño de UPA, sexo y zona .....	61
<b>Tabla 13</b>	Prevalencia de la tripanosomiasis por categorías de raza.....	63
<b>Tabla 14</b>	Prevalencia de la tripanosomiasis por edad .....	64
<b>Tabla 15</b>	Análisis de Chi-Cuadrado para las variables de estudio.....	65
<b>Tabla 16</b>	Análisis de Chi-Cuadrado para las variables de estudio dentro de la zona 1 .....	66
<b>Tabla 17</b>	Prevalencia de anemia y mucosas pálidas en la muestra .....	67
<b>Tabla 18</b>	Prevalencia de anemia por fincas y zona altitudinal .....	68
<b>Tabla 19</b>	Comparación de medias de los signos clínicos entre zonas.....	70
<b>Tabla 20</b>	Factores de riesgo asociados a la presencia de tripanosomiasis a nivel de fincas ....	72

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> Distribución mundial de <i>Trypanosoma vivax</i> .....	23
<b>Figura 2</b> <i>Trypanosoma evansi</i> en su forma kinetoplástica .....	27
<b>Figura 3</b> <i>Trypanosoma evansi</i> en su forma no kinetoplástica .....	28
<b>Figura 4</b> Principales organelos de <i>Trypanosoma vivax</i> .....	28
<b>Figura 5</b> Principales organelos de <i>Trypanosoma vivax</i> .....	31
<b>Figura 6</b> Transmisión mecánica de <i>Trypanosoma sp</i> , mediante <i>Tabanidae</i> .....	32
<b>Figura 7</b> Mapa de la zona de muestreo la zona noroccidental de Pichincha.....	42
<b>Figura 8</b> Extracción de sangre bovina de la vena coccígea .....	46
<b>Figura 9</b> Trampa Nzi para la captura de Tábanos .....	47
<b>Figura 10</b> Centrifugación del hematocrito y observación al microscopio.....	48
<b>Figura 11</b> Medición del hematocrito y proteínas totales .....	49
<b>Figura 12</b> Mapa de las fincas positivas para tripanosomiasis .....	53
<b>Figura 13</b> Prevalencia de tripanosomiasis por tamaño de finca .....	60
<b>Figura 14</b> Prevalencia de tripanosomiasis por tamaño de finca, zona altitudinal y sexo .....	62
<b>Figura 15</b> Prevalencia de tripanosomiasis por grupo de razas bovinas y equinos .....	63
<b>Figura 16</b> Muestras de Tábanos obtenidas con trampas Nzi .....	71
<b>Figura 17</b> Socialización de los resultados en la zona noroccidental de Pichincha .....	75

### Lista de abreviaturas

$\bar{x}$ : Media	<b>kg</b> : Kilogramo
<b>°C</b> : Grados Celsius	<b>Li</b> : Límite inferior
<b>µL</b> : Microlitro	<b>Ls</b> : Límite superior
<b>µm</b> : Micrómetro	<b>m.s.n.m.</b> : Metros sobre el nivel del mar
<b>ADN</b> : Ácido desoxirribonucleico	<b>M</b> : Bovino macho
<b>dNTPS</b> : Desoxirribonucleótidos trifosfato	<b>ml</b> : Mililitro
<b>E</b> : Error máximo admisible	<b>mm</b> : Milímetro
<b>EDTA</b> : Ácido etilendiaminotetraacético	<b>n.d.</b> : No definido
<b>ELISA</b> : Ensayo de Inmunoadsorción ligado a enzimas	<b>n</b> : Tamaño de la muestra
<b>g</b> : Gramo	<b>ND</b> : Datos no definidos
<b>H</b> : Bovino hembra	<b>OIE</b> : Organización Mundial de Sanidad Animal
<b>HC</b> : Hematocrito	<b>OR</b> : Odds Ratio
<b>HCT</b> : Técnica de centrifugación hematocrito	<b>P</b> : Prevalencia calculada
<b>I.C.</b> : Intervalo de Confianza	<b>p</b> : Prevalencia esperada
<b>iELISA</b> : Ensayo de Inmunoadsorción ligado a enzimas indirecto	<b>PBS</b> : Tampón de fosfato salino
<b>IFAT</b> : Prueba de inmunofluorescencia indirecta	<b>PCR</b> : Prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa
<b>IgG</b> : Inmunoglobulina G	<b>p-valor</b> : Probabilidad
<b>ITS</b> : Espaciador transcrito interno	<b>rpm</b> : Revoluciones por minuto
<b>K-ADN</b> : Ácido desoxirribonucleico del kinetoplasto	<b>SNC</b> : Sistema nervioso central
	<b>UPA</b> : Unidad de producción agropecuaria
	<b>Z</b> : Estadístico de la distribución Z 95%
	$\chi^2$ : Chi-Cuadrado

## Resumen

Los protozoarios del género *Trypanosoma* se han convertido en uno de los hemoparásitos de mayor interés en la ganadería a nivel mundial. La tripanosomiasis bovina es la enfermedad provocada por la infección natural o experimental de estos parásitos; esta afección es una de las principales barreras para el desarrollo de la ganadería en muchas zonas del mundo. En América Latina varios estudios explican la presencia de estos hemoparásitos. La escasez de reportes acerca de la prevalencia de esta enfermedad en Ecuador resulta preocupante, puesto que varios estudios previos indican la presencia de *Trypanosoma* sp en varias provincias de la zona del Litoral. Por estas razones la presente investigación se enfoca en la determinación de la prevalencia de tripanosomiasis a nivel de hato y de fincas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona noroccidental de Pichincha mediante pruebas de diagnóstico parasitológicas. Para este fin se realizó la recolección de 853 muestras de sangre de bovino durante dos salidas de campo realizadas entre marzo y abril del 2022 en diferentes estratos altitudinales. Las muestras fueron procesadas para el diagnóstico de los parásitos y los signos clínicos asociados a su presencia mediante las pruebas de Woo, hematocrito y proteínas totales. Adicionalmente se determinaron factores de riesgo con la información obtenida en una encuesta epidemiológica. Los resultados de esta investigación indican que, a nivel de finca, las propiedades pequeñas poseen una prevalencia alta del 20%, mientras que a nivel de hato la prevalencia fue inferior al 1%; sin embargo, al considerar factores como la edad, sexo, y raza se obtuvieron altas prevalencias en bovinos hembras mayores a 37 meses de edad, pertenecientes a razas derivadas del género *Bos taurus*. Los factores que mayor riesgo implican para la presencia de tripanosomiasis en las fincas están asociados al desconocimiento de la enfermedad en la zona, así como a las prácticas de manejo sanitario y/o control de vectores, sobre todo en épocas de mayor incidencia.

**Palabras clave:** Ganado vacuno, *Trypanosoma* sp, prevalencia de tripanosomiasis, prueba Woo.

## Abstract

The protozoa of the genus *Trypanosoma* have become one of the most interesting hemoparasites in livestock worldwide. Bovine trypanosomiasis is the disease caused by natural or experimental infection of these parasites; this condition is one of the main barriers to the development of livestock in many areas of the world. In Latin America several studies explain the presence of these blood parasites. The scarcity of reports about the prevalence of this disease in Ecuador is worrying, since several previous studies indicate the presence of *Trypanosoma* sp in several provinces of the coastal zone. For these reasons, this research focuses on determining the prevalence of trypanosomiasis at the herd and farm level (large, medium and small) in the northwestern area of Pichincha through parasitological diagnostic tests. For this purpose, 853 bovine blood samples were collected during two field sampling carried out between March and April 2022 in different altitude strata. The samples were processed for the diagnosis of the parasites and the clinical signs associated with their presence through the Woo, hematocrit and total protein tests. Additionally, risk factors were determined with the information obtained in an epidemiological survey. The results of this research indicate that, at the farm level, small properties have a high prevalence of 20%, while at the herd level the prevalence was less than 1%; however, when considering factors such as age, sex, and breed, high prevalences were obtained in female cattle older than 37 months of age, belonging to breeds derived from the *Bos taurus* genus. The factors that imply the greatest risk for the presence of trypanosomiasis on farms are associated with ignorance of the disease in the area, as well as practices of sanitary management and/or vector control, especially in times of higher incidence.

**Keywords:** Livestock, *Trypanosoma* sp, prevalence of trypanosomiasis, Woo test.

## Capítulo I

### Introducción

#### Antecedentes

La tripanosomiasis bovina es una enfermedad originada por microorganismos protozoarios del género *Trypanosoma*, parásitos que presentan tropismo por la sangre de los bovinos (García et al., 2014) *Trypanosoma* sp, es uno de los protozoarios hemotrópicos de mayor interés en África y Latinoamérica, debido a su amplia distribución y número de especie. Los orígenes de esta enfermedad se remontan a África, donde su principal vector es la mosca Tse-Tsé. En Sudamérica la ausencia de este vector ha provocado que *Trypanosoma* sp., desarrolle una nueva vía de transmisión mediante moscas del género *Tabanus* como vectores mecánicos (Desquesnes, 2004).

En países vecinos como Colombia y Perú se han reportado altas prevalencias de tripanosomiasis. En Colombia la prevalencia obtenida fue de 23% mediante análisis moleculares (García et al., 2014), mientras que en Perú se obtuvo un 22% de prevalencia mediante la prueba Woo (Patricia Quispe et al., 2003). En Ecuador los primeros reportes para tripanosomiasis realizados por (Wells et al., 1977), indican una seroprevalencia de 22,5% mediante inmunofluorescencia (IFAT). Cuarenta años más tarde los estudios realizados por (Chávez-Larrea et al., 2021) encontraron una prevalencia del 15% de *Trypanosoma vivax* en la provincia de Manabí mediante la Prueba de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

En Ecuador, la tripanosomiasis bovina ha sido poco estudiada, los primeros reportes indican altas prevalencias en zonas bajas del litoral, mientras que no existen estudios acerca de su prevalencia en las zonas tropicales de mayor altitud correspondientes a las estribaciones occidentales de la cordillera de los Andes que incluyen a la zona noroccidental de Pichincha.

En Ecuador (Chávez-Larrea et al., 2021) demostraron la presencia de este tipo de hemoparásitos en la provincia de Manabí identificándolo como *Trypanosoma vivax*, esta especie en particular es de gran interés en el ámbito ganadero por ser mayormente patogénica que otras. Los signos clínicos más frecuentes asociados a la infección causada por estos parásitos son fiebre y anemia, razón por la cual es usual su confusión con la comúnmente llamada “fiebre de garrapata” provocada por *Anaplasma* sp. *Trypanosoma* sp, además puede incidir en otras afecciones que provocan la pérdida de peso, problemas reproductivos, lesiones cardíacas, diarreas, signos hemorrágicos, signos neurológicos y consecuentemente la disminución en la producción del ganado (Desquesnes, 2004); (Gonzatti et al., 2014).

### **Justificación**

La ganadería es actualmente la actividad agropecuaria y productiva que más territorio ocupa en la zona noroccidental de Pichincha. Aunque la productividad es relativamente baja en comparación con las zonas de la sierra norte, esta misma constituye un eje de la economía local y un modo de vida para muchas familias (Cabezas et al., 2017). Lamentablemente no existen reportes previos acerca de la tripanosomiasis en esta zona por lo cual muchos productores desconocen acerca de la enfermedad y sus consecuencias en la producción ganadera. Estos hechos son observables en la confusión que existe dentro de los propietarios al referirse a la enfermedad, en la disminución de la producción de leche y carne, en la pérdida de animales por muerte súbita y en los elevados costos para el tratamiento que generalmente está mal enfocado.

Los problemas económicos causados por la tripanosomiasis en la ganadería son bastante importantes. (Wells et al., 1977) reportaron pérdidas de cerca de 203.565,60 peso colombianos, debido a muertes directas, descarte de ganado, abortos, natimortos, reducción de la producción de leche y servicios veterinarios. Es por estas razones que conocer la presencia

y prevalencia de la tripanosomiasis en la zona noroccidental de Pichincha resulta necesario para garantizar y planificar controles de la enfermedad, tratamientos enfocados al agente causal y medidas para el control de los principales hospederos y vectores de *Trypanosoma* sp.

## **Objetivos**

### ***Objetivo general***

Determinar la prevalencia y factores de riesgo de tripanosomiasis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona noroccidental de la provincia de Pichincha.

### ***Objetivos específicos***

Determinar la prevalencia de tripanosomiasis y anemia a nivel de hato e individual en fincas ganaderas (grandes, mediana y pequeñas), mediante la aplicación de las pruebas de micro hematocrito, proteínas séricas totales y Woo.

Definir los factores de riesgo asociados a la introducción y/o mantenimiento de la tripanosomiasis bovina en las fincas, mediante una encuesta epidemiológica.

Georreferenciar las fincas con resultados positivos para tripanosomiasis bovina mediante el uso de Sistemas de Información Geográfica.

Socializar los resultados y las posibles medidas de prevención y/o control de la tripanosomiasis, a ganaderos de la zona de estudio.

## **Hipótesis**

### ***Prevalencia***

H0: La prevalencia de tripanosomiasis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona noroccidental de la provincia de Pichincha es nula.

Hi: La prevalencia de tripanosomiasis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona noroccidental de la provincia de Pichincha es moderada o elevada

***Factores de riesgo***

H0: No se pueden identificar y cuantificar los factores de riesgo asociados a la introducción y/o mantenimiento de tripanosomiasis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona noroccidental de la provincia de Pichincha.

Hi: Se pueden identificar y cuantificar los factores de riesgo asociados a la introducción y/o mantenimiento de tripanosomiasis en explotaciones ganaderas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona noroccidental de la provincia de Pichincha.

## Capítulo II

### Revisión de literatura

#### Generalidades de la tripanosomiasis

La tripanosomiasis bovina es una enfermedad parasitaria que afecta al torrente sanguíneo y es causada por protozoarios del género *Trypanosoma*, estos parásitos se denominan hemotrópicos debido a que se hospedan y reproducen en el sistema circulatorio (Chávez-Larrea et al., 2021). Los primeros casos reportados de esta enfermedad históricamente se remontan al continente africano donde el principal vector de los parásitos es la ampliamente conocida mosca hematófaga Tse-Tsé (*Glossina sp.*). En África la tripanosomiasis es denominada Nagana, es una enfermedad muy conocida puesto que en dicho continente su distribución es muy amplia, afecta principalmente al ganado vacuno, aunque también puede resultar patógeno en otros mamíferos domésticos, estas razones apoyan el hecho de que esta enfermedad se constituye como una de las principales barreras para el desarrollo de la ganadería en dicho continente (Desquesnes, 2004).

En América, se han reportado casos nuevos de tripanosomiasis, enfermedad que fue introducida debido a la importación de ganado cuyo origen parte del continente africano. Actualmente esta enfermedad se ha extendido por la mayor parte de países de clima tropical de la región (Jumbo-Valencia, 2021). La ausencia de *Glossina sp.*, en el continente americano ha provocado que las diferentes especies de tripanosomas encuentren formas alternativas de transmisión por medios biológicos, mecánicos y venéreos, donde el principal vector son moscas hematófagas del género *Tabanus* (Desquesnes, 2004).

Algunas especies de tripanosomas pueden considerarse más patogénicas y agresivas que otras. Por ejemplo, en África *Trypanosoma vivax* es una de las especies más virulentas

caracterizándose porque sus principales signos son la presencia de fiebre y anemia (Gonzatti et al., 2014). Otras especies como *T. theileri* resultan menos agresivas, aunque su presencia en el organismo puede provocar efectos oportunistas por parte de otros parásitos, afectando negativamente la salud y la producción bovina (Caiza-Mena, 2021). Por estas razones, es necesario considerar que el alcance de estos parásitos es profundo en términos de los niveles de morbilidad que pueden infligir y amplio en términos geográficos a los cuales se pueden adaptar (Gonzatti et al., 2014).

### **Agente causal**

La tripanosomiasis bovina es una enfermedad que afecta al ganado vacuno causada por la infección provocada por protozoarios hemoflagelados *Trypanosoma* sp. Los antecedentes de la presencia de *Trypanosoma* sp, en el continente americano indican que a partir de 1830 estos parásitos fueron introducidos mediante la importación de ganado *Bos indicus* proveniente de África occidental (Gonzatti et al., 2014). En Ecuador los reportes realizados por (Chávez-Larrea et al., 2021) identificaron la presencia de *T. vivax* en la provincia de Manabí. Mientras que en los estudios de diagnóstico de (Medina-Naranjo et al., 2017) se planteó la posible presencia de *T. evansi* y *T. theileri* en la zona oriental de Ecuador. De estos dos últimos *T. theileri* es la especie menos estudiada, debido probablemente a su naturaleza no patógena (Villa et al., 2008).

### **Distribución y prevalencia de la enfermedad**

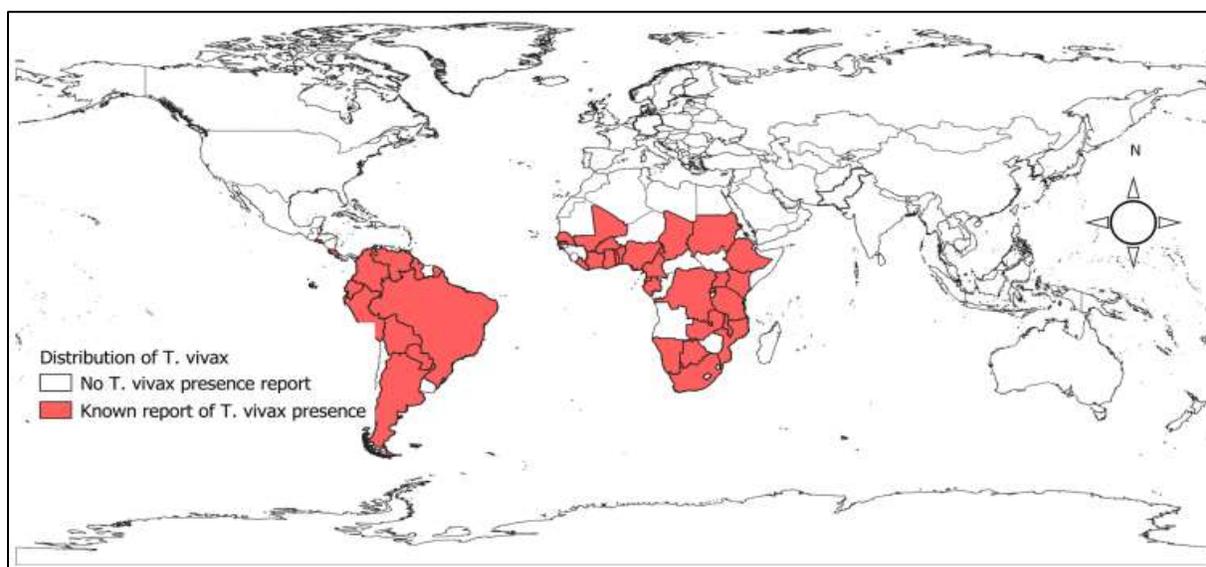
*Trypanosoma* sp, es un género de parásitos cosmopolitas que según varios reportes se ha encontrado en muchos países de Europa, América, Asia y África, con una prevalencia a nivel mundial de 14,8% (Desquesnes, 2004).; (Fetene et al., 2021). En África subsahariana, la presencia de la mosca Tse-Tsé es uno de los principales factores que influye en la alta

prevalencia de esta enfermedad en el ganado, lo que ha consolidado a la tripanosomiasis como la enfermedad bovina de mayor interés en dicho continente (Desquesnes, 2004).

En América Latina, los reportes indican la presencia de *Trypanosoma* sp en la mayoría de países ubicados en la zona tropical (Desquesnes, 1999). Aunque la prevalencia depende de la especie, de forma general es posible mencionar que en países como Colombia, Brasil, Guyana, Guayana, Panamá, Surinam y Venezuela la prevalencia de animales infectados naturalmente por *T. vivax* es superior al 30%, mientras que, en Argentina, Bolivia, Ecuador y Perú, la prevalencia es inferior al 30% (Desquesnes, 1999).

### Figura 1

*Distribución mundial de Trypanosoma vivax*



Nota. Mapa de la distribución a nivel mundial de la tripanosomiasis bovina causada por *T. vivax*. Recuperado de (Fetene et al., 2021)

**Tabla 1***Prevalencia de tripanosomiasis a nivel de América Latina*

<b>Año</b>	<b>País</b>	<b>Especie</b>	<b>n total</b>	<b>n (+)</b>	<b>Método</b>	<b>P (%)</b>	<b>Autor</b>
2018	Argentina	<i>T. vivax</i>	186	16	PCR	8,6	(Paoletta et al., 2018)
2007; 2009; 1998	Bolivia	<i>T. vivax</i>	1520	311	PCR, Woo	20,5	(Gonzales et al., 2007); (Mekata et al., 2009); (Silva et al., 1998).
2016, 2017.	Brasil	<i>T. vivax</i>	487	263	PCR, Woo, Frotis, IFAT, iELISA	54,0	(Pereira et al., 2018); (Alves et al., 2017); (Batista et al., 2017).
2019	Colombia	<i>T. vivax</i>	710	50	iELISA	7,0	(Jaimes-Dueñez et al., 2019) (Wells et al., 1977).
2009; 1977	Costa Rica	<i>T. vivax</i>	642	53	Frotis, IFAT	8,3	(Oliveira et al., 2009); (Wells et al., 1977).
1977	Paraguay	<i>T. vivax</i>	15	6	IFAT	40,0	(Wells et al., 1977)
2002; 2009; 2003; 1977.	Perú	<i>T. vivax</i>	985	119	Frotis, Woo, IFAT, PCR	12,1	(Manuel Tafur et al., 2002); (Mekata et al., 2009)(Patricia Quispe et al., 2003); (Wells et al., 1977).
2007	Venezuela	<i>T. vivax</i>	447	172	iELISA, Woo, PCR	16,1	(González & Meléndez, 2007; Ramírez-Iglesias et al., 2017)

*Nota.* PCR: Reacción en cadena de la polimerasa; Woo: prueba microhematocrito Woo; IFAT: inmunofluorescencia indirecta. P: prevalencia; n: número total; +: positivos %: porcentaje. Recuperado de (Fetene et al., 2021).

En Ecuador los reportes realizados por (Wells et al., 1977) indican una seroprevalencia de 23% mediante IFAT para *Trypanosoma vivax*. Mientras que los estudios realizados por (Chávez-Larrea et al., 2021; Medina-Naranjo et al., 2017)(Caiza-Mena, 2021) indican la presencia de esta enfermedad en las provincias de Manabí, Santo Domingo, Pastaza y Napo con prevalencias inferiores al 20% mediante técnicas moleculares, serológicas y parasitológicas respectivamente.

### **Taxonomía**

Los parásitos hemoflagelados *Trypanosoma* sp, pertenecen a la familia Trypanosomatidae. En base a su modo de transmisión (Hoare, 1965) y (Losos, 1980) definieron dos clasificaciones para el género *Trypanosoma*. La primera sección se denomina “Salivaría” donde se encuentran los hemoflagelados que se transmiten mediante las glándulas salivales del aparato bucal de vectores hematófagos. La segunda sección corresponde a “Stercoraria” que agrupa tripanosomas que se transmiten a través de las heces de insectos vectores (Aguilar Machado et al., 2002).

La sección Salivaría es la de mayor interés en el diagnóstico de tripanosomiasis bovina por las especies que contiene, esta se divide en cuatro subgéneros (*Duttonella*, *Pycnomonas*, *Nannomonas* y *Trypanozoon*); mientras que la sección Stercoraria se subdivide en (*Herpetosoma*, *Megatrypanum* e *Schizotrypanum*) (Aguilar Machado et al., 2002). En base a esta subdivisión (Losos, 1980) sugiere la siguiente clasificación para los tripanosomas Salivaría:

**Phylum:** Sarcomastigophora

**Subphylum:** Mastigophora

**Clase:** Zoomastigophorea

**Orden:** Kinetoplastida

**Familia:** Trypanosomatidae

**Género:** *Trypanosoma*

**Subgénero:** *Duttonella*

**Especie:** *Trypanosoma vivax*.

**Subgénero:** *Trypanozoon*

**Especies:** *Trypanosoma brucei*, *T.*

*rhodesiense*, *T. gambiense*, *T. evansi*.

Para los tripanosomas Stercoraria la clasificación propuesta por (Losos, 1980) es la siguiente:

**Phylum:** Sarcomastigophora

**Subphylum:** Mastigophora

**Clase:** Zoomastigophorea

**Orden:** Kinetoplastida

**Familia:** Trypanosomatidae

**Género:** *Trypanosoma*

**Subgénero:** *Schizotrypanum*

**Especie:** *Trypanosoma cruzi*.

**Subgénero:** *Megatrypanum*

**Especie:** *Trypanosoma theileri*.

## Morfología

La estructura morfológica de *Trypanosoma* sp es variable de acuerdo a la especie. Para la tripanosomiasis bovina en Latinoamérica, algunas de las especies de mayor interés son *T. vivax*, *T. evansi* y *T. theileri* (Desquesnes, 2004).

*Trypanosoma vivax* se caracteriza por tener un tamaño entre 18 a 30  $\mu\text{m}$ , posee un flagelo libre con una longitud de 7  $\mu\text{m}$  aproximadamente, esta estructura facilita su movilidad dentro del sistema vascular (Osório et al., 2008). Consta de una membrana ondulada y su principal característica es la presencia de un kinetoplasto de forma redondeada y grande de 1  $\mu\text{m}$  de longitud. Posee un núcleo que se ubica en la zona media y generalmente es circular o elongado (Gonzatti et al., 2014).

*Trypanosoma evansi* tiene un tamaño que varía desde 15  $\mu\text{m}$  hasta 34  $\mu\text{m}$ , se lo considera como un tripanosoma de tamaño medio (Desquesnes, 2004). Posee un flagelo libre de corta longitud que varía de 3 a 5  $\mu\text{m}$ . A diferencia de *T. vivax*, el kinetoplasto no es muy prominente teniendo una medida de 0,6  $\mu\text{m}$ . Al ser observado al microscopio su membrana ondulante está bien desarrollada lo que permite formar "bolsillos de luz" cuando se observa en una muestra fresca bajo un contraste (Jumbo-Moreira, 2018).

## Figura 2

*Trypanosoma evansi* en su forma kinetoplástica



*Nota.* Imagen referencial recuperada de (Desquesnes, 2004).

### Figura 3

*Trypanosoma evansi* en su forma no kinetoplástica

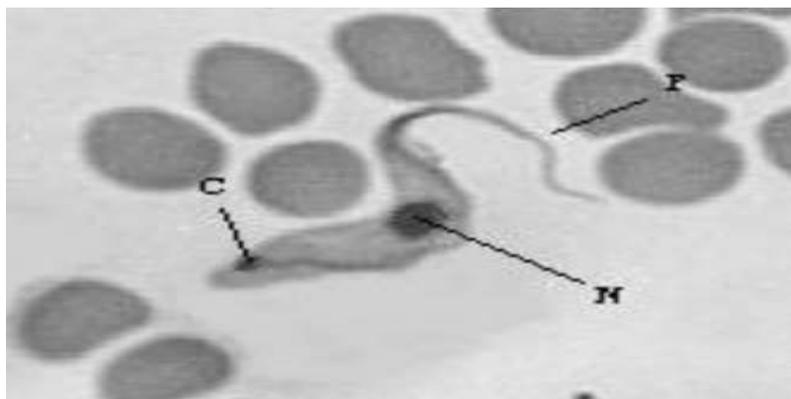


*Nota.* Imagen referencial recuperada de (Desquesnes, 2004).

*Trypanosoma theileri* se caracteriza por tener uno de los tamaños más grandes entre los protozoarios hemoflagelados, llegando a medir entre 69-109  $\mu\text{m}$ . Posee un flagelo libre de longitud variable entre 4 a 26  $\mu\text{m}$  (Desquesnes, 2004). El kinetoplasto es pequeño y se encuentra muy cerca del núcleo (Villa et al., 2008). Por su tamaño y su particular forma cónica es posible identificarlo con frecuencia mediante la prueba Woo (Desquesnes, 2004).

### Figura 4

Principales organelos de *Trypanosoma vivax*



*Nota.* C: Kinetoplasto; N: Núcleo; F: Flagelo. Recuperado de (Aguilar Machado et al., 2002).

## Hospederos y reservorios

En Sudamérica, los principales hospederos de *T. vivax* son mamíferos ungulados, de los cuales han sido regularmente reportados en ganado *Bos indicus*, *Bos taurus*, cruces entre ambas especies, ovejas (*Ovis aries*) y cabras domésticas (*Capra hircus*) (Shaw & Lainson, 1972). Pocos reportes mencionan animales silvestres como portadores de este parásito, el más común es el ciervo de cola blanca (*Odocoileus gymnotis*) en Venezuela y Brasil donde es considerado como el principal animal silvestre reservorio (Desquesnes, 2004). También existe evidencia de infecciones causadas por *T. vivax* sobre equinos, aunque se han reportado bajos niveles de parasitemia, en estos hospederos es importante la temprana detección del parásito debido a que los equinos podrían funcionar como excelentes reservorios (Johnson, 1941).

En el caso de *T. evansi* dentro de las especies domésticas, es posible asociarlo al ganado bovino, aunque es más común encontrarlo con mayor virulencia en caballos (*Equus caballus*), asnos, burros (*Equus asinus*), gatos (*Felis domesticus*) y perros (*Canis familiaris*) (Desquesnes, 2004). Las especies silvestres de murciélagos (*Desmodus rotundus*) también funcionan como hospederos y simultáneamente pueden ser reservorios y vectores. Adicionalmente en varios países de la región, otras especies silvestres se han encontrado infectadas tales como, capibaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), ocelotes (*Felis pardalis*), ciervos (*Odocoileus virginianus chiriquensis* y *Mazama satori*) (Desquesnes, 2004).

En cuanto a *T. theileri*, este parásito es cosmopolita, siendo identificado principalmente en ganado bovino y especies de búfalos de Latino América (Desquesnes, 2004). Esta limitante se debe a que los tripanosomas del subgénero *Megatrypanum* están sujetos a una restricción de hospedante dada por su morfología, esto ha permitido llegar a la suposición de que las especies de este subgénero son específicas para un huésped mamífero, o al menos resultan infecciosos para especies estrechamente relacionadas (Villa et al., 2008).

## Ciclo evolutivo

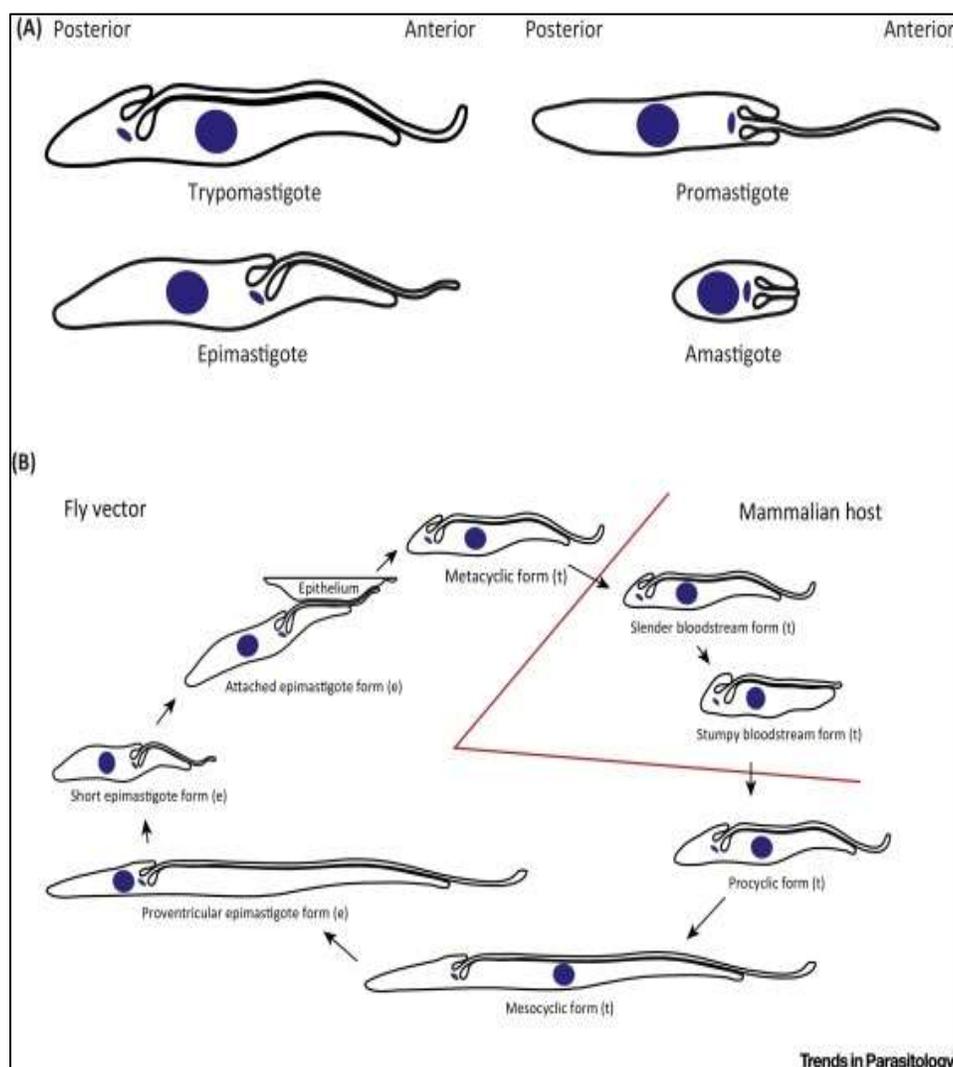
Los parásitos del género *Trypanosoma* son digenéticos, en otros términos, requieren de dos huéspedes para completar su ciclo vital. Esencialmente el huésped intermediario es un animal invertebrado hematófago mientras que el hospedador definitivo corresponde a un animal vertebrado. La característica principal que permite diferenciar las etapas evolutivas de los *Trypanosomatidae* es la disposición del flagelo. Esta estructura es caracterizada en base a su ubicación, su curso y su punto de emergencia (Aguilar Machado et al., 2002). De este modo (Hoare, 1965), citado por (Aguilar Machado et al., 2002), definió las siguientes etapas de los parásitos.

- a) Amastigoto. Se caracteriza porque los parásitos son de forma redondeada o alargada y no poseen flagelo libre.
- b) Promastigote. Se caracteriza por la presencia de formas alargadas con kinetoplasto ubicado antes del núcleo. El flagelo se ubica cerca del kinetoplasto y emerge al final del extremo anterior del cuerpo.
- c) Epimastigoto. Esta etapa se caracteriza por su forma alargada con kinetoplasto yuxtannuclear. El flagelo se ubica próximo al kinetoplasto y recorre por la superficie del cuerpo a lo largo de la membrana ondulante.
- d) Tripomastigoto. Se considera como la etapa verdadera de "tripanosoma", está caracterizada por parásitos alargados con kinetoplasto posnuclear. El flagelo inicia próximo al kinetoplasto y emerge a lo largo del cuerpo recorriendo la membrana ondulante. Esta fase corresponde a las formas sanguíneas de *Trypanosoma sp.* Los parásitos de la sección Salivaria durante esta fase, se reproducen en el torrente sanguíneo del huésped y son capaces de invadir los tejidos, regulando la aparición de amastigotes y otras etapas.

- e) Metacíclicos. Etapa que se caracteriza por parásitos alargados con kinetoplasto posnuclear. El flagelo inicia en el kinetoplasto y recorre la membrana ondulante. Esta fase es conocida como la forma infectante en medios de transmisión cíclica, en la cual el parásito es inoculado activamente a través de una picadura.

**Figura 5**

*Principales organelos de Trypanosoma vivax*



*Nota.* A: fases de vida de *Trypanosoma* sp; B: Fases dentro de la transmisión cíclica. Recuperado de: (Sunter & Gull, 2016).

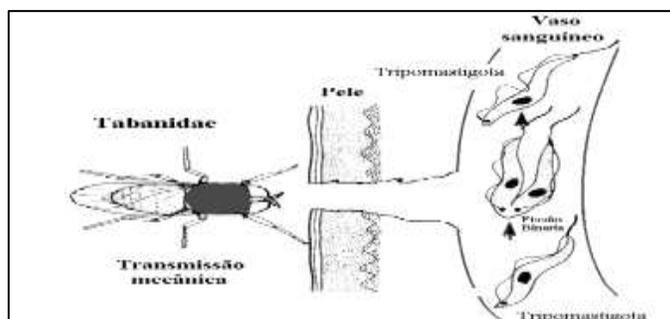
## Transmisión y vectores

En África *Trypanosoma* sp, naturalmente se transmite de manera cíclica debido a la alta prevalencia de moscas del género *Glossina*. En América la ausencia de este insecto obligó a que los parásitos se adapten a nuevas vías de transmisión mecánica, mediadas por moscas hematófagas como vectores.

*T. vivax* posee un medio dual de transmisión biológica o cíclica y mecánica. La transmisión cíclica solamente ocurre en presencia de vectores del género *Glossina*, dentro de los cuales el parásito se desarrolla pasando desde la etapa de Tripomastigoto hasta Tripanosomas metacíclicos (Gonzatti et al., 2014). En América el medio de transmisión de *T. vivax*, *T. evansi* y *T. theileri* es mecánico (Desquesnes, 2004).

### Figura 6

*Transmisión mecánica de Trypanosoma sp, mediante Tabanidae*



*Nota.* Imagen referencial al sistema de transmisión mecánica recuperada de (Aguilar Machado et al., 2002).

La transmisión mecánica tiene como principal característica que los procesos de diferenciación y multiplicación ocurren dentro del hospedador vertebrado (Gonzatti et al., 2014). Otro hecho importante es que durante la transmisión mecánica las formas sanguíneas de los tripanosomas (tripomastigotos) se transfieren directamente de un mamífero a otro mediante

insectos chupadores de sangre, por ejemplo, especies de la familia Tabanidae y Stomoxyidae, mismas que son consideradas como vectores potenciales en América (Aguilar Machado et al., 2002); (Jumbo-Valencia, 2021). La transmisión también puede ser artificial mediante agujas contaminadas con sangre infectada consecuencia de las malas prácticas de manejo, en este caso se denomina transmisión mecánica iatrogénica (Jumbo-Valencia, 2021). En el caso de transmisión mecánica por agujas contaminadas, también se puede decir que es una infección con la acción de un vehículo (Aguilar Machado et al., 2002).

La diferencia entre la transmisión cíclica y la mecánica se fundamenta en el tiempo que pueden durar. En el caso de la transmisión cíclica esta puede ser tan larga y durar tanto como la vida del vector lo permita. Por el contrario, la transmisión mecánica es de poca duración y esta influenciada por el tiempo de supervivencia de los parásitos en las piezas bucales del insecto (Aguilar Machado et al., 2002).

### **Signos clínicos**

Todas las infecciones causadas por cualquier especie de *Trypanosoma* se caracterizan porque su primer signo es la presencia de hinchamiento en la zona donde fueron inoculados. Este hinchamiento es seguido por la presencia de fiebre que concuerda con el momento de la parasitemia y funciona como un mecanismo de defensa para la eliminación de los parásitos (Habla et al., 2012).

La anemia provocada por *Trypanosoma* sp, es una característica común de la tripanosomiasis en estado crónico (Tabel et al., 1978). Esta afección se da por una disminución en el número y volumen de glóbulos rojos, así como el descenso de los niveles de hemoglobina (Goossens et al., 1998). Durante una infección por *Trypanosoma* sp, varios mecanismos intervienen en la aparición de anemia, uno de ellos se debe a la acción hemolítica de las enzimas fosfolipasas y sialidasas producidas por los parásitos, que hidrolizan la membrana

plasmática y escinden los ácidos siálicos de la superficie de los eritrocitos, esto provoca la exposición de los residuos de galactosilo que conducen a los macrófagos hacia la eritrofagocitosis (Sallau et al., 2008). Otros mecanismos están asociados al metabolismo de la glucosa por parte de los parásitos, en el cual se liberan radicales libres que producen estrés oxidativo, esto a su vez provoca la peroxidación lipídica de la membrana de los eritrocitos y la formación de metahemoglobina que contribuyen a la destrucción eritrocítica y la progresión de la anemia (Habla et al., 2012).

La importancia de las pruebas de hematocrito y proteínas totales radica en que el diagnóstico de anemia se puede realizar con la conjugación de ambas pruebas diagnósticas como se indica en la Tabla 2. El hematocrito hace referencia a la cantidad de eritrocitos presentes en la sangre y sus valores normales oscilan entre 25 y 40%. Las proteínas séricas totales sirven para el diagnóstico de patologías hepáticas, alteraciones del consumo de alimento, agua y otras afecciones; aunque no están directamente relacionadas con la anemia su combinación con el hematocrito puede dar resultados a esta afección. El nivel normal de proteínas totales está en un rango comprendido entre 5,7 y 8,1 g/100 ml (Cebrián Yagüe, L. M., Pastor Meseguer, J., Ramos Antón, J. J., & Ferrer Mayayo, 2005).

**Tabla 2**

*Interpretación de los resultados de hematocrito y proteínas totales*

<b>Hematocrito</b>	<b>Proteínas séricas totales</b>	<b>Interpretación</b>
Bajo	Hipoproteinemia	Anemia y otras patologías asociadas a la disminución proteica en sangre
	Hiperproteinemia	Anemia y deshidratación
Poco bajo	Hiperproteinemia	Anemia con deshidratación
Normal	Hiperproteinemia	Deshidratación o procesos autoinmunes
Alto	Hiperproteinemia	Deshidratación

*Nota.* Tabla de referencia recuperada de (Cebrián Yagüe, L. M., Pastor Meseguer, J., Ramos Antón, J. J., & Ferrer Mayayo, 2005)

La infección producida por *T. vivax* es comúnmente conocida como Nagana en África, mientras que en algunos lugares de Sudamérica es llamada cachera o cacho hueco (Gonzatti et al., 2014). *T. vivax* se aloja e infecta el sistema vascular del ganado pudiendo causar enfermedades que van desde leves hasta graves con signos marcados por la presencia de anemia y fiebre crónica (Taylor & Authie, 2009). Algunos estudios mencionan que este parásito también provoca signos neurológicos en bovinos debido a que ha sido encontrado en tejido nervioso, líquido cefalorraquídeo y humor acuoso (Batista et al., 2007).

En América el ganado vacuno infectado por *T. evansi* a menudo no presenta síntomas iniciales de la enfermedad. Cuando la infección se encuentra en estadios más avanzados, los principales signos son fiebre y anemia. A lo largo del curso de la enfermedad la anemia puede tornarse persistente, pero varía con la presencia o ausencia de los parásitos (Habla et al., 2012). *T. evansi* al ser capaz de multiplicarse en la sangre y dentro del Sistema Nervioso Central (SNC) puede causar signos neurológicos al igual que *T. vivax*.

En cuanto a *T. theileri*, generalmente se asocia a signos leves o inexistentes, por lo que se cree que su patogenicidad es muy baja. Aun así, este parásito se puede asociar a signos de anemia en los animales infectados (Villa et al., 2008). En un estudio realizado en Irlanda por (Doherty et al., 1993) se describen los signos de una infección causada por *T. theileri* en un ternero, estos signos incluían pirexia, anemia, pérdida de peso y alteración del comportamiento, además presentó linfocitosis con inflamación de ganglios linfáticos preescapulares y prefemorales.

## **Diagnóstico**

Para diagnóstico de la tripanosomiasis existe gran variedad de pruebas que varían de acuerdo a la sensibilidad y la especificidad, el costo y la facilidad de aplicación, las necesidades de diagnóstico y el personal capacitado. Estos métodos de diagnóstico pueden clasificarse según su aplicación en directos e indirectos (OIE, 2021).

### **Métodos directos**

Los métodos directos se basan en la detección del agente causal mediante su visualización al microscopio o la presencia de su material genético. Las pruebas parasitológicas tienen una buena especificidad, no obstante, su sensibilidad es muy variable. La sensibilidad de las pruebas parasitológicas depende de las fases de la infección: (1) durante la fase inicial la sensibilidad es alta debido a la multiplicación masiva que proporciona un buen número de parásitos dentro de un volumen determinado; (2) durante una fase crónica la sensibilidad es baja debido a la respuesta inmunitaria que ejerce el hospedador, lo que provoca la disminución progresiva del número de parásitos; (3) finalmente, cuando el hospedero se ha sanado la sensibilidad es nula debido a la ausencia de unidades infectantes. La especificidad y sensibilidad también dependen del volumen de sangre analizado, no es lo mismo analizar muestras de 100  $\mu$ L versus muestras que requieren apenas 5  $\mu$ L; otro factor que influye en la sensibilidad y especificidad de una prueba es la experiencia del microscopista o analizador (OIE, 2021).

### ***Prueba de Woo***

La técnica de centrifugación del hematocrito (HCT), micro hematocrito o Woo, es una técnica de concentración de parásitos ampliamente utilizada en el diagnóstico de la tripanosomiasis animal. Se basa en la separación de los componentes de la sangre fresca de acuerdo a su forma y su densidad específica. La prueba consiste en tomar 70  $\mu$ L de sangre en

tubos capilares, centrifugar durante 5 minutos a 9.000 revoluciones por minuto (rpm) y observar al microscopio la presencia de los parásitos en la interfase plasmática - leucocitaria con un aumento de 40 X (OIE, 2021). La especificidad y sensibilidad de esta prueba depende de la parasitemia como se indica en la Tabla 3.

**Tabla 3**

*Especificidad y sensibilidad de la prueba Woo de acuerdo al nivel de parasitemia*

<b>Parasitemia</b>	<b>Especificidad y sensibilidad</b>
> 700 parásitos/ml	100%
60 – 300 parásitos/ml	50%
< 60 parásitos/ml	Difícilmente detectable

*Nota.* ml: mililitros; %: porcentaje equivalente. Recuperado del *Manual terrestre de la* (OIE, 2021).

### ***Frotis de gota gruesa con Giemsa***

La prueba de extensión sanguínea o frotis, se basa en la observación directa del parásito con la ayuda de un colorante. Se realiza colocando de 5 – 10 µL de sangre en un portaobjetos, luego se realiza una extensión con la ayuda de otro portaobjetos y se fija con metanol. La tinción se realiza con Giemsa y el tiempo depende de los protocolos establecidos por cada fabricante. Al final se visualiza la placa al microscopio con un aumento de 100 X. Generalmente las técnicas de extensión son específicas, pero poseen una baja sensibilidad cuando el nivel de parasitemia no es alto (OIE, 2021).

### ***Reacción en Cadena de la Polimerasa***

La reacción en cadena de la polimerasa o comúnmente conocida como PCR, es una técnica que permite la amplificación de segmentos de ADN de interés formados por secuencias conocidas o parcialmente conocidas (Desquesnes, 2004). Esta técnica molecular se basa en el

uso de una mezcla de cebadores, desoxinucleótidos (dNTPS), ADN y la enzima polimerasa termoestable, incubada en un termociclador. Las fases de la PCR dentro del termociclador son:

- i. Desnaturalización, en la cual se separan las dos hebras que forman el ADN.
- ii. Hibridación, fase en la que los cebadores se unen a los segmentos específicos de ADN.
- iii. Extensión, punto en el cual los dNTPS se unen en las regiones delimitadas por los cebadores para formar una nueva molécula de ADN. Cada ciclo se puede repetir varias veces para obtener un número considerable de segmentos de ADN amplificados (Desquesnes & Dávila, 2002).

Para el diagnóstico de la tripanosomiasis causada por *T. vivax* es posible amplificar secuencias específicas altamente repetitivas o satélites de ADN nuclear. El diagnóstico de otras especies como *T. evansi* se puede realizar con el uso de cebadores específicos para el subgénero *Trypanozoon* (OIE, 2021). También se han desarrollado amplificaciones de ITS1 de ADN ribosómico con las cuales es posible la identificación de todas las especies de *Trypanosoma* sp (Desquesnes & Dávila, 2002).

### **Métodos indirectos**

Los métodos indirectos se fundamentan en el uso de pruebas serológicas que permiten identificar anticuerpos para el diagnóstico de la tripanosomiasis animal. Estas pruebas tienen sensibilidad y especificidad variable; las más utilizadas son la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFAT) y el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas indirecto (iELISA) (OIE, 2021).

#### ***IFAT***

La técnica de inmunofluorescencia indirecta consiste en la preparación de antígenos fijados con acetona a partir de un frotis sanguíneo. Luego se marcan círculos en las placas para la adición de un “suero problema” con una posterior incubación a 37 °C por 30 minutos.

Como siguiente paso se realizan lavados con tampón fosfato salino (PBS) para la adición de anticuerpo anti IgG bovino conjugado con isotiocianato de fluoresceína. Se incuban las muestras y se lavan, para luego ser montados sobre PBS o glicerol tamponado que permiten la visualización de fluorescencia (OIE, 2021).

### ***iELISA***

Los ensayos de inmunoabsorción ligado a enzimas se basan en la capacidad que posee un anticuerpo ligado a una enzima de oxidación, para identificar un antígeno fijado a la base superficial de la placa de ensayo. Cuando el anticuerpo existe se forma el complejo antígeno-anticuerpo, las enzimas no se lavan y producen una reacción con un cromógeno que produce el viraje de color el cual se mide en un lector para ELISA (Jumbo-Moreira, 2018).

La prueba de *iELISA* (ELISA indirecto), es una variante que utiliza el complejo anticuerpo-enzima sujeto al anticuerpo presente en el suero de la muestra, el mismo que está ligado al antígeno fijado en la placa (Jumbo-Moreira, 2018). En el ensayo de inmunoabsorción indirecto para *Trypanosoma* sp, se hace uso de un extracto purificado y concentrado de un antígeno obtenido de ratones infectados con *T. evansi*. Como complemento se utiliza un complejo anti-bovino conjugado a una peroxidasa alcalina. Finalmente se pueden detectar anticuerpos IgG contra *Trypanosoma* sp (Jumbo-Moreira, 2018).

### **Factores de riesgo**

En epidemiología un factor de riesgo para la presencia de una enfermedad es todo factor, característica o hecho que produce el aumento de la probabilidad o riesgo de que dicha enfermedad ocurra. La identificación de los factores de riesgo se da cuando existe una asociación estadística que puede ser causal o no de la presencia de una enfermedad (Plaut, 1984).

Para la tripanosomiasis varios son los factores de riesgo que pueden aumentar la probabilidad de la existencia de esta enfermedad en ganado. Muchos factores de riesgo están asociados a las prácticas de manejo, la raza del ganado, la distribución geográfica, el desconocimiento de la enfermedad y la presencia de vectores (Benaissa et al., 2020).

### **Tratamiento y control**

En varios países de América Latina, las altas prevalencias, la endemidad y los brotes esporádicos de tripanosomiasis, han obligado a las ganaderías de alta producción a implementar medidas de control constantes, que implican la supresión de la enfermedad, así como tratamientos preventivos. Los fármacos de mayor uso para el tratamiento y prevención de la tripanosomiasis son el aceturato de diminazeno (Babeni®, Diminazene-A) y el cloruro de isometamidio (Trypamidium®) (Gonzatti et al., 2014).

El Aceturato de diminazeno o diaceturato de 4,4'-diazaminodibenzamidina, es un potente hemoparasitocida recomendado para infecciones causadas por *Trypanosoma vivax* y *Trypanosoma evansi*; también es efectivo para *Babesia* sp. Se administra vía intramuscular en dosis que varían entre 3,3 a 7 mg/kg de peso vivo. Su modo de acción aún no está del todo claro, pero se cree que tiene un efecto en la supresión de la replicación de K-ADN y en la síntesis de poliaminas (Gonzatti et al., 2014).

El cloruro de isometamidio es un medicamento utilizado en el tratamiento curativo y preventivo de la tripanosomiasis. Su uso se ha extendido de forma preferencial en zonas epizooticas con altas prevalencias. Se administra vía intramuscular en dosis de 1 mg/kg de peso vivo; el tratamiento preventivo confiere hasta 5 meses de protección. El compuesto activo de este fármaco se acumula en el kinetoplasto de los parásitos, produciendo la ruptura del complejo K-DNA-topoisomerasa que es necesario para la replicación del K-DNA (Gonzatti et al., 2014).

Además del uso de fármacos, otra alternativa para disminuir el riesgo de la presencia de tripanosomiasis en las ganaderías del trópico es el control de los principales vectores. Para el control de insectos hematófagos se pueden utilizar métodos de captura mediante trampas Nzi, trampas vavoua y tetra-trampas que se ubican en los corrales donde se concentran los animales. Otros métodos son el uso de insecticidas para el control de los estados adultos y larvarios de los insectos hematófagos (Desquesnes, 2004).

## Capítulo III

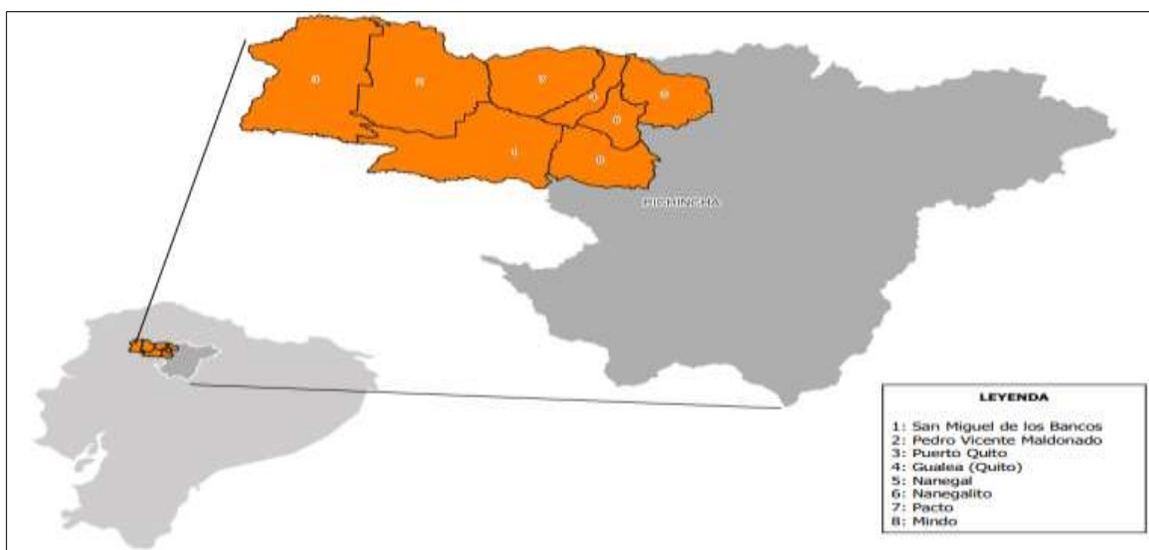
### Metodología

#### Ubicación geográfica y ecológica

El presente estudio se realizó en la zona noroccidental de la provincia de Pichincha, comprendida por los cantones Quito, San Miguel de los Bancos, Pedro Vicente Maldonado y Puerto Quito. La zona de trabajo se encuentra comprendida entre las latitudes  $0^{\circ} 10' 0''$  N y  $0^{\circ} 1' 10''$  S; la cual presenta altitudes que van desde los 130 m.s.n.m. hasta los 1.800 m.s.n.m., con temperaturas medias que oscilan entre los  $17^{\circ}\text{C}$  y  $25^{\circ}\text{C}$ , además de altas tasas medias de pluviometría que llegan a los 215 mm por mes. Esta zona, se encuentra en la región del Chocó Andino, misma que se caracteriza por su clima Neotropical, conformado por selvas lluviosas y gran biodiversidad faunística y florística.

#### Figura 7

*Mapa de la zona de muestreo la zona noroccidental de Pichincha*



*Nota.* Mapa que detalla la división política de las parroquias muestreadas de la zona noroccidental de Pichincha.

## Caracterización de los predios

La información sobre el número y tamaño de los predios fue obtenida mediante una base de datos proporcionada por Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario (Agrocalidad) y mediante el contacto directo con los productores de la zona de estudio. Los predios fueron caracterizados en grandes, medianos y pequeños de acuerdo al número de bovinos que poseían durante la entrevista. Las propiedades grandes fueron definidas de acuerdo a si contenían más de 71 bovinos, los predios medianos entre 21 y 70 bovinos y los predios pequeños entre 1 y 20 bovinos. Para el posterior análisis los predios fueron divididos en dos grupos, aquellos ubicados a altitudes superiores a los 1.071 m.s.n.m. y aquellos ubicados entre los 100 m.s.n.m. y 1.071 m.s.n.m.

**Tabla 4**

*Caracterización de fincas de la zona noroccidental de Pichincha*

<b>Tamaño</b>	<b>Número de Bovinos</b>	<b>Altitud (m.s.n.m.)</b>
Pequeño	1 – 20	
Mediano	21 – 70	>1.071
Grande	> 71	
Pequeño	1 – 20	
Mediano	21 – 70	100 – 1.071
Grande	>71	

*Nota.* m.s.n.m: metros sobre el nivel del mar. Fuente: Ron- Román J., 2022 Con. Pers.; basado en (Paucar et al., 2021).

## Determinación del tamaño de muestra

Para calcular el número de bovinos a muestrear se utilizó la fórmula del cálculo de muestras que estima una proporción de poblaciones desconocidas. Los parámetros utilizados corresponden a un nivel de confianza del 95% y un error del 5%; además se utilizó como referencia lo reportado por Caiza-Mena (2021) donde la prevalencia de tripanosomiasis en bovinos por prueba Woo fue 19.57% en una provincia del Ecuador.

$$n = \frac{Z^2 \times p \times (1 - p)}{E^2}$$

En donde:

$n$ : tamaño de la muestra

$Z$ : nivel de confianza, para 95%  $Z = 1,96$

$p$ : prevalencia de la enfermedad

$E$ : error máximo admisible.

Para la estimación del número de bovinos a muestrear por Unidad de Producción Agropecuaria (UPA) en base a su caracterización y al número de bovinos totales, se utilizaron los porcentajes de muestreo presentados en la Tabla 5.

**Tabla 5**

*Porcentaje de muestreo en fincas de acuerdo al número total de bovinos*

<b>Tamaño UPA</b>	<b>Número de Bovinos</b>	<b>Porcentaje de muestreo</b>	<b>Número de muestras</b>
	0 – 7	50%	4
<b>Pequeña</b>	8 – 15	45%	6
	15 – 20	40%	8
	21 – 33	30%	6 – 10
	34 – 47	30%	10 – 14
<b>Mediana</b>	47 – 60	25%	12 – 15
	61 – 70	25%	15 – 18
	71 – 135	20%	18 – 34
	136 – 200	20%	27 – 40
<b>Grande</b>	>200	20%	40

*Nota.* %: porcentaje; UPA: Unidad de producción agropecuaria. Fuente: Ron- Román J., 2022 Con. Pers.; basado en (Paucar et al., 2021).

### **Toma de muestras de sangre**

Se tomaron 854 muestras de sangre venosa en bovinos pertenecientes a predios grandes, medianos y pequeños de la zona noroccidental en dos salidas de campo diferentes. En la primera salida de campo realizada entre el 21 y 25 de marzo de 2022 se tomaron 321 muestras de sangre en 17 fincas ubicadas sobre los 1.071 m.s.n.m. correspondientes a las zonas más cercadas a la cordillera de los Andes.

Durante el segundo muestreo realizado entre el 18 al 21 de abril de 2022, se tomaron 443 muestras de sangre en 28 fincas ubicadas entre los 100 m.s.n.m. y 1.071 m.s.n.m. correspondiente a las zonas más cercanas a la costa ecuatoriana, lo que corresponde a los cantones Pedro Vicente Maldonado y Puerto Quito.

Las muestras sanguíneas fueron etiquetadas y transportadas al Laboratorio de Mejoramiento Genético y Sanidad Animal de la Universidad de las Fuerzas Armadas sede IASA 1 para su procesamiento, no obstante, las pruebas que requerían de un procesamiento rápido fueron realizadas en laboratorios *in situ instalados* en un punto central a las zonas de muestreo.

### **Extracción de sangre**

La extracción de sangre venosa en animales adultos se llevó a cabo por venopunción coccígea, se realizó después de inmovilizar al animal manteniéndolo en pie. Luego se procedió a limpiar la zona perianal de la cola para posteriormente ubicar la vena coccígea en la zona ventral y media de la base de la cola y de manera subsiguiente realizar una punción entre las vértebras coxígeas 6 y 7 con una aguja calibre 21 instalada en un capuchón para tubos vacutainer (Agencia de regulación y control Fito y Zoosanitario, 2018).

En animales jóvenes, la extracción sanguínea se realizó por venopunción yugular. El proceso consistió en inmovilizar al animal manteniéndolo de pie e identificando la vena yugular ubicada en la parte ventral de la tabla del cuello dorsal a la tráquea. Una vez identificada la

vena, la punción se realizó con el complejo aguja-capuchón vacutainer de frente y hacia arriba en un ángulo de 45° con respecto al cuello (Agencia de regulación y control Fito y Zoosanitario, 2018).

### **Figura 8**

*Extracción de sangre bovina de la vena coccígea*



*Nota.* Fotografías tomadas durante la primera salida de campo

Después de cada extracción de sangre se tomó la temperatura rectal de cada individuo muestreado. Los valores obtenidos fueron anotados en un registro de campo (Anexo 2) junto con otros parámetros asociados a la presencia de hemoparásitos como son presencia de mucosas pálidas, temperatura alta, falta de apetito, condición corporal, renguera, hematuria y presencia de ectoparásitos (garrapatas).

### **Aplicación de la encuesta epidemiológica**

Al finalizar el muestreo se aplicó una encuesta epidemiológica (Anexo 3) proporcionada por el 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 tripanosomiasis en Ecuador – BruTryp” a los encargados, administradores o propietarios de

cada predio. Se realizó mayor énfasis en el manejo de la finca y sobre el conocimiento acerca de hemoparásitos del ganado.

### **Georreferenciación de los predios.**

Mediante el uso de la aplicación Epicollect 5 se obtuvieron coordenadas para la georreferenciación de los predios muestreados, así como información adicional que incluye la fecha de muestreo, nombre del encuestador, propietario, nombre de la propiedad, número de animales en el predio y el número de animales muestreados. Con la ayuda del software de Sistemas de Información Geográfica “Qgis” se realizaron mapas de ubicación de las fincas que resultaron positivas.

### **Captura de tábanos**

Para identificar la presencia de posibles vectores mecánicos de la tripanosomiasis en la zona de estudio se instaló una trampa Nzi desarrollada por Steeve Mihok (Anexo 4) en varios predios ubicados en la parroquia de Nanegalito. Las trampas permanecieron instaladas durante un día completo y fueron revisadas cada 4 horas. Una vez colectadas las moscas fueron traspasadas a tubos Falcon que contenían alcohol (metanol) al 70% para ser conservadas.

### **Figura 9**

*Trampa Nzi para la captura de Tábanos*



*Nota.* Imagen referencial obtenida de (Desquesnes, 2004).

### **Determinación de hematocrito y prueba de Woo**

En los laboratorios instalados *in situ*, se realizó la prueba de Woo a partir de las muestras sanguíneas obtenidas en tubos con EDTA, se procedió a llenar capilares sin heparina en un 70% de su capacidad. Los capilares fueron sellados en la base con plastilina y llevados a centrifugación a 10.000 rpm durante 5 minutos en una centrífuga con rotor angular marca Triac, modelo: 420200. Posteriormente con una carta de hematocrito se determinaron los porcentajes de eritrocitos en cada muestra de sangre de bovino.

### **Figura 10**

*Centrifugación del hematocrito y observación al microscopio*



La prueba de Woo para diagnosticar la presencia de *Trypanosoma* sp, se realizó inmediatamente después de la lectura del hematocrito. Cada capilar correspondiente a una muestra sanguínea fue visualizado al microscopio con un aumento de 40 X. La observación se realizó en la interfase del plasma y la capa leucocitaria del capilar tratando de observar el movimiento ondulatorio de los parásitos.

### **Determinación de proteínas totales séricas**

A partir de las muestras obtenidas en tubos sin anticoagulante se extrajo suero sanguíneo mediante centrifugación a 5.000 rpm durante 5 minutos. La lectura de los niveles de

proteínas totales se realizó colocando 30  $\mu$ L del suero sobre el prisma principal de un refractómetro para proteínas serológicas RHC-300 ATC. Los valores de proteínas totales obtenidos se expresaron en g/100 ml de suero.

### **Figura 11**

*Medición del hematocrito y proteínas totales*



### **Análisis estadístico**

#### **Diseño no experimental**

Para este estudio se aplicó un diseño no experimental transeccional exploratorio. Según (Hernández Sampieri et al., 2013) los diseños no experimentales se definen como investigaciones que se realizan sin la manipulación deliberada de las variables. La investigación no experimental se centra en observar fenómenos que ocurren en su contexto natural. Los diseños transaccionales exploratorios estudian una variable o su conjunto en un momento específico; al ser exploratorios aplican problemas de investigación nuevos o poco conocidos para comenzar a conocer una variable.

### **Variable de respuesta**

Es también conocida como variable dependiente, está correlacionada o influenciada por otros factores. Surge del resultado obtenido de proceso de muestreo. En este proyecto de investigación, las variables de respuesta analizadas fueron: temperatura rectal, hematocrito, proteínas totales y presencia de *Trypanosoma* sp en la prueba Woo asociados a la prevalencia de tripanosomiasis y los factores de riesgo en fincas (grandes, medianas y pequeñas) del noroccidente de Pichincha durante marzo y abril del 2022.

### **Análisis de las variables**

El análisis de las variables obtenidas mediante las pruebas de laboratorio y los registros de campo fue realizado en el software Epi Info 7.2.5.0 y Microsoft Excel. Para su efecto, los datos se dividieron en dos grupos; el primero perteneciente al muestreo realizado en fincas ubicadas sobre los 1.071 m.s.n.m. y el segundo grupo correspondiente a fincas localizadas bajos los 1.071 m.s.n.m.

### **Estadística descriptiva**

Se realizó con los datos generados mediante las pruebas de laboratorio y la información contenida en los registros de muestreo. Este tipo de estadística permitió ordenar y describir los datos obtenidos para cada variable. A partir de este análisis se obtuvieron tablas, gráficos, medidas de tendencia central, tablas de frecuencias en cada conjunto de muestreo.

### **Datos de prevalencia**

La prevalencia es una medida porcentual determinada por el número de casos positivos a una enfermedad o afección dada en un tiempo específico y su relación con el número total de individuos muestreados. La prevalencia de tripanosomiasis en la zona de estudio, se determinó utilizando los resultados positivos de la prueba Woo en relación con el número total de muestras tomadas en las dos salidas de campo.

$$P = \frac{n \text{ positivas}}{n \text{ totales}} \times 100$$

Donde:

$P$ : prevalencia

$n$ : número de muestras

### Factores de riesgo

Los factores de riesgo asociados a la presencia de tripanosomiasis fueron identificados a partir de la información obtenida mediante una encuesta epidemiológica y la base de datos obtenida en los registros de campo. Los datos fueron analizados mediante la medida epidemiológica Odds Ratio (OR). Esta medida otorga una probabilidad de ocurrencia de un evento en base a su asociación con otro evento posible. El OR se calcula basándose en la relación entre los Odds de los casos positivos versus los Odds de los casos negativos. Adicionalmente se calculó un intervalo de confianza (95%) para estimar el rango dentro del cual se encuentra la media poblacional.

	Casos positivos	Casos negativos
Casos expuestos	A	B
Casos no expuestos	C	D

$$OR = \frac{A/C}{B/D} = \frac{AD}{BC}$$

$$Ls \ 95\% \ I.C. = e^{[\ln(OR) + 1.96\sqrt{(1/A + 1/B + 1/C + 1/D)}]}$$

$$Li \ 95\% \ I.C. = e^{[\ln(OR) - 1.96\sqrt{(1/A + 1/B + 1/C + 1/D)}]}$$

Donde:

*OR*: Odds ratio

*A*: casos positivos expuestos a la variable de interés.

*B*: casos negativos expuestos a la variable de interés.

*C*: casos positivos no expuestos a la variable de interés.

*D*: casos negativos no expuestos a la variable de interés.

*I. C.*: intervalo de confianza al 95%

*Ls*: límite superior

*Li*: límite inferior

Las variables consideradas para la identificación de los factores de riesgo y la probabilidad de ocurrencia de tripanosomiasis en fincas se definieron en base a lo siguiente:

1. Dinámica del hato: se analizaron datos sobre la movilización de animales fuera de la finca y el origen de los animales nuevos o reemplazos.
2. Conocimiento: se evaluó si el encuestado conoce sobre la tripanosomiasis y la forma de transmisión.
3. Vectores: se analizó si dentro de la finca se ha evidenciado la presencia de tábanos y las épocas en las que son más frecuentes.
4. Manejo: se evaluaron aspectos del manejo sanitario como cambio de agujas, tratamientos contra hemotrópicos y tratamientos contra vectores.

### **Estadística inferencial**

Permite estimar parámetros poblacionales a partir de estadígrafos muestrales, con el objetivo de contrastar o probar una hipótesis. A partir de los datos generados en el muestreo y el diagnóstico de laboratorio, se procedió a realizar la prueba de Chi-Cuadrado con la finalidad determinar asociación de dependencia entre variables o factores y evitar errores de tipo I y tipo II en la estadística.

## Capítulo IV

### Resultados y Discusión

#### Georreferenciación

Con los datos obtenidos de Epicollect 5 se generó el siguiente mapa de georreferenciación (Figura 9 y Anexo 1) de las fincas que resultaron positivas para tripanosomiasis con la prueba Woo. Estas fincas se encontraban ubicadas entre las latitudes (0,022081 a 0,215582) y longitudes (-78,969839 a -78,852364). La altitud media a las cuales se sitúan los predios es de 907,33 m.s.n.m. En cuanto a su distribución política, se encuentran en los cantones Quito, Pedro Vicente Maldonado y San Miguel de los Bancos.

#### Figura 12

*Mapa de las fincas positivas para tripanosomiasis*



*Nota.* NOP: código único de la finca; FP: finca pequeña; FM: finca mediana; FG; finca grande.

## Estadística descriptiva de la muestra

### *Distribución de los animales muestreados en base al tamaño de UPA*

En el presente estudio epidemiológico, se obtuvieron 853 muestras de bovinos correspondientes a cuatro cantones, Quito, Pedro Vicente Maldonado, San Miguel de los Bancos y Puerto Quito de la zona noroccidental de la provincia de Pichincha. El número total de muestras se encuentran distribuidas en 7,15% de fincas pequeñas; 45,49% fincas medianas y 47,36% fincas grandes.

**Tabla 6**

*Distribución de las muestras en base al tamaño de UPA*

<b>Tamaño UPA</b>	<b>n propiedades</b>	<b>n muestras</b>	<b>% muestras</b>
Pequeñas	8	61	7,15
Medianas	29	388	45,49
Grandes	16	404	47,36
<b>Total</b>	<b>53</b>	<b>853</b>	<b>100</b>

*Nota.* UPA: unidad de producción agropecuaria; %: porcentaje. n: número.

Según lo que señala (Cabezas et al., 2017), sobre la ganadería en la zona noroccidental de la provincia de Pichincha, la mayor parte de los predios se dedican a la producción de leche bajo un sistema doble propósito, con lo cual se infiere que el uso de tierra a nivel de noroccidente ha ido incrementando en los estratos más bajos, la necesidad de requerir mayor espacio para mantener un gran número de animales, influye en el predominio de los predios de tamaño medio y grande. Mientras que, en las zonas de mayor altura, la difícil topografía repercute en la disminución de la actividad ganadera en la zona, por lo cual la tendencia en los

últimos años ha sido cambiar hacia sistemas de producción turísticos de ámbito agroecológico (Cabezas et al., 2017).

### ***Distribución los animales muestreados por zona altitudinal, tamaño de UPA y sexo***

La sectorización de las fincas se obtuvo en base a la altitud a la que se encontraban ubicadas. Se obtuvieron el 66,4% de las muestras pertenecientes a fincas ubicadas sobre los 1017 m.s.n.m. Complementariamente se recolectaron el 33,6% de las muestras obtenidas en fincas ubicadas bajo los 1017 m.s.n.m. En base al sexo, fueron recolectadas un 89,33% de hembras y 10,67% de machos del total de las muestras.

**Tabla 7**

*Distribución de las muestras por zona, tamaño de finca y sexo*

Parámetro	n UPAs	n	%	Sexo		% Sexo	
				H	M	H	M
<b>Zona 1</b>	33	566	66,4	503	63	58,9	7,4
Fincas Pequeñas	3	23	2,7	18	5	2,1	0,6
Fincas medianas	18	244	28,6	211	33	24,7	3,9
Fincas grandes	12	299	35,1	274	25	32,1	2,9
<b>Zona 2</b>	20	287	33,6	259	28	30,3	3,3
Fincas pequeñas	5	38	4,4	35	3	4,1	0,4
Fincas medianas	11	144	16,9	125	19	14,7	2,2
Fincas grandes	4	105	12,3	99	6	11,6	0,7
<b>Total</b>	53	853	100	762	91	89,3	10,7

*Nota.* n UPAs: número de unidades de producción agropecuarias; n: número de muestras; %: porcentaje equivalente; M: machos; H: hembras; m.s.n.m.: metros sobre el nivel del mar, Zona 1: > 1071 m.s.n.m; Zona 2 < 1071 m.s.n.m.

En la zona noroccidental de Pichincha, se encuentra un mayor predominio de fincas medianas y grandes en las zonas de menor altura, esto debido a que la topografía es más favorable para la actividad ganadera, así lo mencionan (Cabezas et al., 2017).

### ***Distribución de los animales muestreados por edad y sexo***

En el estudio epidemiológico se obtuvieron 369 muestras de hembras adultas; 134 muestras de hembras correspondientes a vaconas vientre; 60 muestras de vaconas fierro, y 75 muestras de terneras. En cuanto a los machos se recolectaron con los mismos rangos de edad, 41 muestras de terneros; 6 muestras de toretes, 23 muestras de toros jóvenes y 16 muestras de toros adultos.

**Tabla 8**

*Distribución de las muestras por edad y sexo*

<b>Edad (meses)</b>	<b>M</b>	<b>H</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
1-9	41	75	116	13,6
10-18	6	60	66	7,7
19-36	23	134	157	18,4
37-180	16	396	412	48,3
ND	5	97	102	12
<b>Total</b>	91	762	853	100

*Nota.* n: número de muestras; %: porcentaje equivalente; M: machos; H: hembras; ND: número de animales sin registros.

El noroccidente de Pichincha, al ser una zona cuya principal actividad es la producción doble propósito, las fincas requieren de una mayor proporción de hembras que de machos; sin embargo, la presencia de machos es de interés a nivel comercial para la venta de carne. En cuanto a la edad, es de interés contar con un mayor porcentaje de animales adultos mayores a 18 meses capaces de reproducirse y producir leche y carne según lo indicado por (Cabezas et al., 2017).

### ***Distribución de animales por raza***

En la zona noroccidental de Pichincha se pueden encontrar animales de diferentes razas que van desde Holstein, Jersey, Brown Swiss, Gyr, Brahaman y mestizas. Para que las razas puedan ser categorizadas con mayor facilidad se incluyeron en grupos formados en base a su tipo: Bos taurus y Bos indicus, así como los cruces entre ambas. En el estudio epidemiológico se recolectaron 568 muestras de ganado perteneciente al tipo Bos taurus, lo que corresponde al 66,6% del muestreo; 70 muestras sanguíneas de animales pertenecientes a Bos indicus correspondientes al 8,2% y 207 animales cruza Taurus x Indicus, lo que corresponde al 24,3% de la muestra.

**Tabla 9**

*Distribución de las muestras por categorías de raza*

<b>Raza</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Bos taurus	568	66,6
Bos indicus	70	8,2
Taurus x Indicus	207	24,3
ND	8	0,9
<b>Total</b>	<b>853</b>	<b>100</b>

*Nota.* n: número de muestras; %: porcentaje equivalente; ND: número de animales sin registros.

El hecho de que la zona noroccidental de Pichincha, se dedique en su mayoría a la producción lechera y doble propósito, repercute en que el mayor número de animales sea de razas pertenecientes a Bos taurus. Sin embargo, una de las principales estrategias para el mejoramiento genético y de la producción de leche en zonas de clima cálido es mediante la cruce con animales Bos indicus, específicamente de la raza Gyr; lo que se observa en el considerable número de bovinos Indicus x Taurus (Cabezas et al., 2017).

### Prevalencia de tripanosomiasis

Los resultados de las pruebas parasitológicas permitieron identificar la presencia de *Trypanosoma* sp y los niveles de parasitemia asociados a la tripanosomiasis. Por la prueba Woo fue posible observar 3 muestras positivas de 763 muestras analizadas, lo que permitió estimar una prevalencia general a nivel de hato de 0,39 %. Por otro lado, la prueba de frotis sanguíneo no obtuvo resultados positivos. Se consideró a una muestra como positiva cuando se evidenció la presencia de al menos un parásito bajo el microscopio.

**Tabla 10**

*Prevalencia general de la tripanosomiasis por prueba diagnóstica*

<b>Prueba</b>	<b>n</b>	<b>positivos</b>	<b>Prevalencia (%)</b>
<b>Por animales</b>			
Woo	763	3	0,39
Frotis sanguíneo	853	0	0
<b>Por fincas</b>			
Woo	45	3	6,66
Frotis sanguíneo	53	0	0

*Nota.* n: número de muestras; %: porcentaje equivalente.

Los resultados obtenidos por las pruebas parasitológicas se ven influenciados por la sensibilidad y especificidad de cada una. La prueba Woo en comparación con la prueba de frotis sanguíneo son más sensible y específica puesto que analiza un mayor volumen de sangre ((OIE), 2021). La sensibilidad del test Woo es el principal factor que influye en la veracidad de los resultados; esta misma depende del nivel de parasitemia. Así lo mencionan (Desquesnes & Tresse, 1996); cuando la parasitemia está elevada sobre los 700 parásitos/ml la sensibilidad puede llegar al 100%; a menor cantidad de parásitos por volumen de sangre la sensibilidad de la prueba disminuye hasta el punto de volverse ilegible a un nivel inferior a 60 parásitos/ml.

### Prevalencia por tamaño de finca

La prueba Woo permitió obtener la prevalencia de la tripanosomiasis en base al tamaño de finca y al número de animales. En fincas categorizadas como grandes se encontró un caso positivo para *Trypanosoma* sp, esto permitió obtener una prevalencia de 6,7% (1/15) y 0,26% (1/383) por finca y hato respectivamente. En fincas de tamaño mediano, un caso resultó positivo del total, obteniendo una prevalencia de 4% a nivel de fincas y 0,29% a nivel de hato. Mientras que, en fincas pequeñas, igualmente se observó un solo caso, lo que permitió estimar una prevalencia de 20% a nivel de predio y 2,7% (1/37) a nivel de hato. Se consideró a una finca como positiva cuando al menos una muestra obtenida resultó positiva para una de las pruebas diagnósticas aplicadas.

**Tabla 11**

*Prevalencia de la tripanosomiasis por tamaño de UPA*

<b>Tamaño UPA</b>	<b>n propiedades</b>	<b>n muestras</b>	<b>n positivos</b>	<b>Prevalencia por fincas (%)</b>	<b>Prevalencia por hato (%)</b>
Pequeñas	5	37	1	20	2,70
Medianas	25	343	1	4	0,29
Grandes	15	383	1	6,7	0,26
<b>Total</b>	45	763	3	6,66	0,39

*Nota.* UPA: Unidad de producción agropecuaria; n: número de muestras; %: porcentaje equivalente.

### Figura 13

#### Prevalencia de tripanosomiasis por tamaño de finca



*Nota.* %: porcentaje equivalente

La alta prevalencia obtenida a nivel de fincas pequeñas, puede ser atribuible a los factores de riesgo identificados por (Batista et al., 2018), en su estudio, el autor menciona una alta prevalencia obtenida en ganaderías de leche de la zona tropical, donde el sistema de producción lechero tiene un mayor riesgo de presencia de esta enfermedad. Considerando que la ganadería en la zona noroccidental del Pichincha se centra en este tipo de producción, las fincas pequeñas son predominantemente lecheras, lo que influye en el mayor porcentaje de prevalencia. Además, es de considerar que las fincas grandes y medianas, al tener una mayor extensión de terreno son menos susceptibles a enfermedades transmitidas por vectores al existir una menor concentración de animales por espacio.

#### Prevalencia a nivel de zona, tamaño de finca y sexo

El análisis realizado por zona altitudinal permitió identificar una prevalencia para tripanosomiasis del 0% para las fincas ubicadas sobre los 1071 m.s.n.m. Mientras que, la prevalencia fue del 9,1% (3/33) para las fincas que se encontraron bajo los 1071 m.s.n.m. Adicionalmente, se obtuvieron prevalencias de 33,33%, 5,55% y 8,33% a nivel de fincas pequeñas, medianas y grandes respectivamente. Mientras que a nivel de hato las prevalencias fueron de 4,35%, 0,41% y 0,33% para pequeños, medianos y grandes, respectivamente.

**Tabla 12**

*Prevalencia de la tripanosomiasis por tamaño de UPA, sexo y zona*

Tamaño de Finca	n de UPAs	Sexo		n	%	+		P fincas (%)	P hato (%)	P sexo (%)	
		H	M			H	M			H	M
<b>Zona 1</b>	<b>33</b>	<b>503</b>	<b>63</b>	<b>566</b>	<b>74,2</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>9,1</b>	<b>0,53</b>	<b>0,56</b>	<b>0</b>
Pequeñas	3	18	5	23	3	1	0	33,33	4,35	5,55	0
Medianas	18	211	33	244	32	1	0	5,55	0,41	0,47	0
Grandes	12	274	25	299	39,2	1	0	8,33	0,33	0,36	0
<b>Zona 2</b>	<b>20</b>	<b>176</b>	<b>21</b>	<b>197</b>	<b>25,8</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Pequeñas	2	13	1	14	1,83	0	0	0	0	0	0
Medianas	7	82	17	99	13	0	0	0	0	0	0
Grandes	3	81	3	84	10,6	0	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>53</b>	<b>679</b>	<b>84</b>	<b>763</b>	<b>100</b>	<b>3</b>	<b>0</b>	<b>5,6</b>	<b>0,39</b>	<b>0,44</b>	<b>0</b>

*Nota.* # UPAs: número de unidades de producción agropecuarias; n: número de muestras; %: porcentaje equivalente; P: prevalencia; M: machos; H: hembras; m.s.n.m.: metros sobre el nivel del mar; +: positivos; Zona 1: > 1071 m.s.n.m; Zona 2 < 1071 m.s.n.m.

La alta prevalencia de fincas positivas obtenidas en la zona 1 de la presente investigación, puede compararse con el estudio realizado por (Majekodunmi et al., 2013) en el cual se describe una alta prevalencia en zonas de baja altitud, además se menciona a la altitud como un factor de riesgo que aumenta en 0,91 veces la probabilidad de presencia de tripanosomiasis en fincas bajos los 800 m.s.n.m.

Otro aspecto que puede influenciar en la prevalencia obtenida, puede estar ligado a la presencia de vectores. En el estudio realizado por (Buestan et al., 2007) en Ecuador se describe una gran cantidad de tábanos en zonas de baja altitud. Este tipo de moscas hematófagas, principales vectores de la tripanosomiasis, son reportadas con frecuencia en zonas de clima tropical y su mayor presencia es observable en épocas lluviosas, lo que coincide con los meses de marzo y abril (Batista et al., 2007; Gonzatti et al., 2014). Estos datos

se corroboran con la información obtenida mediante la encuesta epidemiológica del presente estudio, aplicada a los propietarios de las fincas ubicadas en la zona 1, donde la mayoría señaló la presencia de Tábanos dentro de sus predios.

### Figura 14

*Prevalencia de tripanosomiasis por tamaño de finca, zona altitudinal y sexo*



*Nota.* Z1: zona uno. Datos obtenidos solamente de la zona 1 puesto que es la única que presentó casos positivos.

En cuanto a la prevalencia obtenida por sexo a pesar de ser baja, esta se presenta solamente en bovinos hembra, esto se puede explicar según lo definido por (Batista et al., 2018) donde los animales de leche son más susceptibles a infecciones por *Trypanosoma* sp, considerando que en ganaderías lecheras se crían en mayor porcentaje hembras, al igual que en los sistemas de doble propósito.

### Prevalencia por raza

El análisis de los resultados obtenidos permitió identificar 2 muestras positivas que corresponden a bovinos de razas pertenecientes al tipo *Bos taurus*, obteniendo una prevalencia de 0,42%. En el caso de las muestras pertenecientes a bovinos cruzados *Taurus x Indicus*, una muestra resultó positiva permitiendo estimar una prevalencia de 0,49%. Adicionalmente, de 12

muestras extraídas de equino, se pudo identificar una muestra con resultado positivo; para este caso la prevalencia de tripanosomiasis equina fue 8,83%.

**Tabla 13**

*Prevalencia de la tripanosomiasis por categorías de raza*

Raza	n	Positivos	Prevalencia (%)
Bos taurus	480	2	0,42
Bos indicus	70	0	0
Indicus x Taurus	205	1	0,49
ND	98	0	0
*Equino	12	1	8,83
<b>Total, bovinos</b>	<b>853</b>	<b>3</b>	<b>0,35</b>

*Nota.* n: número de muestras; %: porcentaje equivalente; ND: número de animales sin registros. \*muestreo complementario en la zona, donde se tomaron muestras de equinos para identificar tripanosomiasis equina y potenciales hospederos reservorios.

**Figura 15**

*Prevalencia de tripanosomiasis por grupo de razas bovinas y equinos*



*Nota.* \*muestreo complementario en la zona, donde se tomaron muestras de equinos para identificar tripanosomiasis equina y potenciales hospederos reservorios.

Los resultados positivos obtenidos a nivel de raza, posiblemente estén relacionados a la susceptibilidad de las razas lecheras o derivadas del tipo Bos taurus. (Batista et al., 2018) mencionan que las razas lecheras europeas, son más susceptibles a las infecciones por

*Trypanosoma* spp que las razas derivadas del cebú. En el mismo estudio la raza implica un factor de riesgo para la tripanosomiasis, sin embargo, en el presente trabajo no se encontró tal relación. Por otro lado, los equinos son la principal fuente de movilización de los vaqueros dentro de las fincas. El obtener casos positivos de tripanosomiasis equina resulta de interés para el control de la enfermedad puesto que según (Desquesnes, 2004; Johnson, 1941) esta especie en particular, funciona como un excelente reservorio de *Trypanosoma vivax* y *Trypanosoma evansi*. La detección temprana de estos parásitos en equinos infectados, puede disminuir el riesgo de presentar tripanosomiasis bovina.

### Prevalencia por edad

Los 3 resultados positivos para tripanosomiasis bovina mediante prueba Woo, se evidenciaron en bovinos mayores a 3 años de edad. Esto permitió calcular una prevalencia de 0,81% (3/370) para bovinos mayores o iguales a 37 meses de edad.

**Tabla 14**

*Prevalencia de la tripanosomiasis por edad*

Edad (meses)	n	% de muestreo	Positivos	Prevalencia (%)
1-9	111	14,5	0	0
10-18	58	7,6	0	0
19-36	128	16,8	0	0
37-180	370	48,5	3	0,81
ND	96	12,6	0	0
<b>Total</b>	763	100	3	0,39

*Nota.* n: número de muestras; %: porcentaje equivalente; ND: número de animales sin registros.

En esta investigación, solamente bovinos adultos fueron positivos para la tripanosomiasis. Los animales adultos están mayormente expuestos a condiciones ambientales desfavorables (Majekodunmi et al., 2013). Al encontrarse bajo pastoreo en zonas lejanas al

punto central de las fincas o al ser movilizados, pueden estar cerca de lugares donde habiten reservorios de la enfermedad, así como de sitios preferidos por los vectores. (Batista et al., 2018) definen como un factor de riesgo al pastoreo cercano a zonas húmedas, como ríos o vertientes, en los cuales se obtuvieron altas prevalencias de animales infectados. Al considerar que la zona de noroccidente de Pichincha, goza de muchas fuentes de agua y zonas de alta humedad, este factor posiblemente puede representar un riesgo para la infección de animales adultos.

### Dependencia de variables

El análisis de Chi-Cuadrado permitió estimar las variables que están directamente asociadas a la presencia de tripanosomiasis a nivel de hato y a nivel de finca. El análisis indica que a nivel de hato solamente el tamaño de finca tiene dependencia con la presencia de la enfermedad ( $\chi^2 = 10,68$ ;  $p = 0,0048$ ); mientras que, a nivel de fincas, la zona altitudinal es la única variable que presenta dependencia con la enfermedad ( $\chi^2 = 14,56$ ;  $p = 0,0007$ ).

**Tabla 15**

*Análisis de Chi-Cuadrado para las variables de estudio*

V. exposición	V. respuesta	$\chi^2$	p-valor	Odds Ratio
<b>Por animales</b>				
Tamaño de finca	Woo (+)	10,68	0,0048	n.d.
Zona altitudinal	Woo (+)	1,048	0,3059	0
Edad	Woo (+)	4,03	0,2585	n.d.
Raza	Woo (+)	5,05	0,1682	n.d.
<b>Por fincas</b>				
Tamaño de finca	Woo (+)	5,49	0,2406	n.d.
Zona altitudinal	Woo (+)	14,56	0,0007	n.d.

*Nota.* V: variable; (+): positivo;  $\chi^2$ : Chi-Cuadrado;  $p$ : probabilidad asociada; n.d.: parámetro no calculado o indeterminado.

La dependencia obtenida entre la presencia de la enfermedad y la zona de muestreo, permite tener una idea de la influencia que ejerce la altitud en la presencia de la enfermedad, a pesar de que no se define a este parámetro como un factor de riesgo, la presencia de casos positivos en la zona 1 son comparables con el estudio realizado por (Majekodunmi et al., 2013) donde se reporta que el riesgo de que un animal adquiera una infección por *Trypanosoma* spp, es 0,91 veces mayor por cada 50 metros bajo una altura de referencia de 800 m.s.n.m.

Con los datos obtenidos anteriormente, se decidió realizar un análisis independiente para los resultados obtenidos en la zona 1, con el fin de encontrar dependencia a nivel de hato.

**Tabla 16**

*Analisis de Chi-Cuadrado para las variables de estudio dentro de la zona 1*

V. exposición	V. respuesta	$\chi^2$	$p$ -valor	Odds Ratio
<b>Por animales</b>				
Tamaño de finca	Woo (+)	6,64	0,0361	n.d.
Edad	Woo (+)	2,39	0,4949	n.d.
Raza	Woo (+)	0,45	0,9277	n.d.
Sexo	Woo (+)	0,37	0,5388	0

*Nota.* V: variable; (+): positivo;  $\chi^2$ : Chi-Cuadrado;  $p$ : probabilidad asociada; n.d.: parámetro no calculado.

Los resultados obtenidos en la zona 1, indican que solamente el tamaño de finca es una variable que tiene dependencia con la presencia de la tripanosomiasis ( $\chi^2 = 6,64$ ;  $p = 0,0361$ ), esto puede ser explicado por la prevalencia obtenida a nivel de fincas; donde las fincas más pequeñas son mayormente propensas a presentar la enfermedad, ya sea por el manejo, la densidad animal por área, desconocimiento y otros factores.

### Prevalencia de anemia y mucosas pálidas

La prevalencia de anemia fue obtenida en base a los resultados del hematocrito. La media general corresponde a un valor de  $28,40 \pm 4,88\%$ . La prevalencia de animales con hematocrito inferior a 24% (anemia) fue de 19,15% (145/757) con una media de  $22,10 \pm 2,07\%$ . La prevalencia de mucosas pálidas observadas a nivel de campo fue de 6,03% (46/763). El porcentaje de animales con hematocrito bajo y mucosas pálidas fue de 11,72% (17/757). De los animales que presentaron anemia, solamente un caso fue positivo para tripanosomiasis.

**Tabla 17**

*Prevalencia de anemia y mucosas pálidas en la muestra*

Parámetro	n	$\bar{x}$	C.V.	Prevalencia	n mucosa pálida	n mucosas normal
HC < 24	145	21,4 ± 1,9	9.2%	19,5 %	17	128
HC > 24	612	29,8 ± 4,1	13,7%	80,8 %	29	589
ND	6				0	0
<b>Total</b>	<b>757</b>			<b>100%</b>	<b>46</b>	<b>717</b>

*Nota.* HC: hematocrito; n: número de muestras;  $\bar{x}$ : media o promedio; C.V.: coeficiente de variación; %: porcentaje equivalente.

Al no existir asociación entre la presencia de anemia y mucosas pálidas con la presencia de tripanosomiasis ( $\chi^2 = 0,9971$ ;  $p = 0,3180$ ) se puede inferir que la alta prevalencia de esta afección podría estar relacionada posiblemente a factores nutricionales, debido a que los pastos de las zonas cálidas son deficientes nutricionalmente en cuanto a digestibilidad. Otro factor que posiblemente influya en gran medida, es la alta prevalencia de *Anaplasma marginale* (93.3%) diagnosticada mediante pruebas de frotis sanguíneo en la zona de Pedro Vicente Maldonado por (Oñate-Bravo, 2015), así como por lo reportado por Obando E., con pers., quien obtuvo una prevalencia del 70,21%.

### Prevalencia de anemia por fincas y zona altitudinal

En la zona 1, la prevalencia general de anemia a nivel de finca fue del 87,9%; donde las fincas de tamaño grande, medianas y pequeñas presentaron altas prevalencias superiores al 30%. En el caso específico de la zona 2, la prevalencia de anemia a nivel de fincas fue del 40%; solamente las fincas pequeñas no presentaron casos positivos para anemia, mientras que las fincas grandes y medianas obtuvieron altas prevalencias.

**Tabla 18**

*Prevalencia de anemia por fincas y zona altitudinal*

Tamaño Finca	n UPAs	n	Anemia muestras (+)	Anemia fincas (+)	P finca (%)	P hato (%)
<b>Zona 1</b>	33	562	124	29	87,9	22,1
Pequeña	3	23	2	1	33,3	8,7
Mediana	18	244	61	16	88,9	25
Grande	12	295	61	12	100	20,7
<b>Zona 2</b>	20	195	21	8	40	2,64
Pequeña	5	13	0	0	0	0
Mediana	11	98	8	5	45,5	8,2
Grande	4	84	13	3	75	15,5
<b>Total</b>	53	757	145	37	69,81	4,8

*Nota.* UPAs: Unidades de producción agropecuaria; n: número de muestras; (+): positivas; P: prevalencia; %: porcentaje equivalente; m.s.n.m.: metros sobre el nivel del mar; Zona 1: > 1071 m.s.n.m; Zona 2 < 1071 m.s.n.m

### Signos clínicos

El promedio de los test de hematocrito (HC) analizados de los casos positivos para tripanosomiasis es de  $26,33 \pm 3,05$  %, de los cuales solamente una muestra (HC = 23%) fue inferior al rango normal considerándose como anemia. Esto nos permite observar uno de los principales signos de la tripanosomiasis, así como suponer que un hematocrito promedio cercano al límite inferior es una prueba de la influencia de la infección sobre los niveles de

eritrocitos. Aun así, en la presente investigación, la anemia no está asociada a la presencia de *Trypanosoma* spp.

Los niveles de proteínas séricas totales para animales positivos a la prueba Woo, fueron de  $8,63 \pm 0,12$  g/100 g de suero. Esto indica que dentro de los animales infectados no existen variaciones de los niveles proteicos dentro del suero sanguíneo, por lo cual la infección natural provocada por *Trypanosoma* spp, no influye en la presencia de niveles anormales de proteínas totales. Los altos niveles de proteínas totales pueden estar asociados a la deshidratación causada por la exposición prolongada del ganado a las condiciones de calor, o por la ausencia de bebederos en las zonas de pastoreo. Mientras que niveles bajos de proteínas séricas, se pueden relacionar al consumo de agua de bebida que provocan la dilución proteínica en la sangre.

Además, todos los casos positivos para tripanosomiasis presentaron temperaturas dentro del rango normal para bovinos con un promedio de  $37,66 \pm 0,45$  °C. Estos resultados nos indican que los bovinos infectados con *Trypanosoma* spp, no presentan alteraciones de esta constante fisiológica, por lo cual no se evidencia a la fiebre como un signo de infección.

El análisis de los signos clínicos, junto con la observación de los parásitos de gran tamaño (69-109  $\mu$ m) en las pruebas Woo (Desquesnes, 2004), permiten suponer la presencia de Tripanosomas del subgénero *Megatrypanum*. Lo que a su vez permite inferir que la especie asociada a las infecciones observadas es *Trypanosoma theileri*, puesto que no se evidenciaron signos clínicos en los animales infectados, siendo esta una de las principales características de esta especie considerada poco patogénica (Villa et al., 2008).

### Análisis de signos clínicos por zona

El análisis realizado por zona altitudinal, permitió conocer los valores promedio para hematocrito, proteínas totales y temperatura, en base a la dependencia que ejerce la zona altitudinal con la presencia de la enfermedad. Se lograron identificar diferencias significativas entre las medias obtenidas de hematocrito y proteínas totales para la zona 1 y zona 2, siendo la zona 1 la que presenta los promedios más bajos.

**Tabla 19**

*Comparación de medias de los signos clínicos entre zonas*

<b>Parámetro</b>	<b>n</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>	<b>p-valor</b>	
<b>Hematocrito</b>	845	28,59 ± 4,78		
Zona 1	561	28,12 ± 5,05	A	<0,0001
Zona 2	284	29,52 ± 4,07	B	<0,0001
<b>Proteínas totales</b>	851	7,93 ± 0,71		
Zona 1	564	7,87 ± 0,68	A	0,0003
Zona 2	287	8,05 ± 0,68	B	0,0003
<b>Temperatura</b>	853	38,51 ± 0,89		
Zona 1	566	38,48 ± 0,85	A	0,1210
Zona 2	287	38,57 ± 0,72	A	0,1210

*Nota.* n: número de observaciones;  $\bar{x}$ : media general; p: probabilidad asociada; A y

B: diferentes letras significan diferencias estadísticas a un nivel  $p < 0,05$ .

Los valores bajos obtenidos del hematocrito y proteínas totales en la zona 1, pueden asociarse a la anemia provocada por la infección de hemoparásitos, en este caso *Anaplasma marginale*, al ser el hemoparásito más prevalente en la zona según (Oñate-Bravo, 2015) y Obando E. con pers.

## Presencia de Tábanos

Con la ayuda de trampas Nzi, se lograron recolectar 3 muestras de tábanos obtenidas de diferentes fincas de la zona noroccidental de la provincia de Pichincha. Estos insectos permitieron corroborar la presencia de vectores en la zona de estudio tal como lo reportaron (Buestan et al., 2007), con lo cual se puede mencionar que la existencia de tripanosomiasis es posible dentro de la zona, aunque la prevalencia de los vectores es baja, por lo cual se esperaría que la prevalencia de la enfermedad a nivel de hato también sea baja.

### Figura 16

*Muestras de Tábanos obtenidas con trampas Nzi*



*Nota.* Muestras de tábanos obtenidas en la zona de estudio conservadas en metanol.

(Buestan et al., 2007) en su estudio en Ecuador, realizaron la descripción de moscas del género *Tabanus* en varios lugares de la zona noroccidental de Pichincha. La descripción incluye zonas de San Miguel de los Bancos y los límites de Pedro Vicente Maldonado con la

presencia de *Fidena castanea*, *Fidena basilaris*, *Fidena rhinophora* y zonas de Nanegal y Nanegalito con la presencia de *Esenbeckia testaceiventris*.

### Factores de riesgo

Fue posible realizar el análisis estadístico de los factores de riesgo con la información de las fincas de la zona 1, puesto que solamente en este grupo se encontraron casos positivos a la enfermedad. Los resultados obtenidos, indican que los principales factores de riesgo son el escaso conocimiento de la enfermedad y la época del año con mayor presencia de tábanos (vectores) de *Trypanosoma* spp.

Se pudieron identificar además que los factores de menor riesgo son el manejo con respecto al cambio de agujas y la ausencia de tratamiento antiparasitario contra hemotrópicos. No fueron considerados factores de riesgo los parámetros de dinámica del hato, ubicación altitudinal del predio, ni la presencia y el tratamiento de vectores. No fue posible conocer si el tipo de producción es un factor de riesgo en las fincas de la zona noroccidental debido a que el OR no está definido para este parámetro.

### Tabla 20

*Factores de riesgo asociados a la presencia de tripanosomiasis a nivel de fincas*

Parámetro	Odds ratio	95% I.C.
<b>Característica del predio</b>		
Ubicación en zona altitudinal	0	Indefinido
Tipo de producción	Indefinido	Indefinido
<b>Dinámica del hato</b>		
Movilización de animales fuera de la finca	0	Indefinido
Origen de los animales nuevos	0	Indefinido
<b>Conocimiento</b>		
Conoce la tripanosomiasis	2,4000	0,1807 - 31,8846

<b>Parámetro</b>	<b>Odds ratio</b>	<b>95% I.C.</b>
<b>Vectores</b>		
Presencia de tábanos	0	Indefinido
Época con mayor presencia de tábanos	5,2500	0,4162 - 66,2272
<b>Manejo</b>		
Cambio de agujas	0,2250	0,0180 - 2,8136
Tratamientos contra hemotrópicos	0,3529	0,0286 - 4,3502
Tratamientos contra vectores	0	Indefinido

*Nota.* 95% I.C.: intervalo de confianza al 95%.

En el presente estudio, la presencia o ausencia de vectores dada a conocer por los encuestados, no resulta ser un factor de riesgo para la presencia de tripanosomiasis; sin embargo, la época que coincide con la mayor presencia de estos insectos es en invierno considerándose como un factor de riesgo que provoca un aumento de 5,25 veces más el riesgo o la probabilidad de existencia de tripanosomiasis. Estos resultados son comparables a los mencionados por (Batista et al., 2007) quienes coinciden que la mayor presencia de tripanosomiasis en zonas tropicales ocurre en los meses de mayor pluviosidad junto con la mayor población de vectores que es observable durante estas épocas. Otro factor que influye en los resultados relacionados a la presencia de vectores, es debido a que muchos productores de la zona desconocen la diferencia entre las moscas del género *Tabanus* y las moscas del género *Dermatobia*, asociando la presencia de nuche con los tábanos.

El desconocimiento de la enfermedad que se ve reflejado en la escasa identificación de vectores, tratamientos erróneos y la confusión con otras enfermedades, resultan ser factores de riesgo que duplica la probabilidad de la existencia de la enfermedad. Además, desconocer los medios de transmisión, lo que incluye los principales vectores y sus ciclos de vida es el factor

de riesgo que aumenta en mayor medida (6 veces) la probabilidad de ocurrencia de la infección por *Trypanosoma* spp, en la zona de estudio.

Las malas prácticas como el uso de una sola aguja para varios animales durante algún tratamiento, es un factor de poco riesgo que aumenta 0,22 veces la probabilidad de ocurrencia de la enfermedad, esto se explica debido a que *Trypanosoma* spp, en América latina tiene un medio de transmisión mecánica o iatrogénica (pocas veces) que se ve limitado por la vida de los parásitos (Jumbo-Valencia, 2021). Así mismo la ausencia de tratamientos contra parásitos hemotrópicos, resulta ser un factor de poco riesgo puesto que no aumenta en mayor medida la probabilidad de ocurrencia de la enfermedad. Estos resultados contrastan con lo mencionado por (De Andrade Neto et al., 2019) quienes indican que los principales factores de riesgo para la propagación y el rebrote de tripanosomiasis son, el uso indiscriminado de Oxitocina sin cambio de agujas y la movilización de animales nuevos, provenientes de propiedades externas.

### **Socialización de resultados**

Los resultados obtenidos fueron socializados con los productores y las asociaciones de Ganaderos de la zona noroccidental de la provincia de Pichincha, mediante conferencias y charlas acerca de los aspectos que engloban la enfermedad y su tratamiento adecuado, así como las medidas de prevención para disminuir el riesgo de un brote futuro de tripanosomiasis. También se impartieron conferencias sobre otras enfermedades de interés ganadero para la zona, tales como la anaplasmosis bovina, babesiosis bovina, brucelosis bovina, brucelosis humana y mastitis.

**Figura 17**

*Socialización de los resultados en la zona noroccidental de Pichincha*



*Nota.* Fotografías de la socialización, entrega de resultados y capacitación sobre la prevención de enfermedades del ganado bovino.

## Capítulo V

### Conclusiones y Recomendaciones

#### Conclusiones

- En el presente estudio fue posible determinar la prevalencia de tripanosomiasis a nivel de hato e individual en fincas (grandes, medianas y pequeñas) de la zona noroccidental de la provincia de Pichincha, con altitudes inferiores a los 1.071 m.s.n.m. Además, se pudieron identificar los factores de riesgo que aumentan la probabilidad de ocurrencia de la enfermedad a nivel de fincas ubicadas en la zona altitudinal baja.
- Mediante la aplicación de pruebas de diagnóstico parasitológicas directas (Woo y frotis sanguíneo) se evidenció que la prevalencia de tripanosomiasis a nivel individual en las fincas grandes, medianas y pequeñas fue alta, obteniendo porcentajes de 6,7%; 4% y 20% respectivamente. A nivel de hato, la prevalencia disminuyó considerablemente, puesto que el número de animales infectados (3/763) es pequeño en relación al tamaño de la muestra.
- Fue posible determinar la prevalencia de la enfermedad a nivel de hato en base al sexo, la edad y la raza de los animales muestreados; llegando a la conclusión de que los bovinos hembra, mayores a 37 meses de edad y pertenecientes en su mayoría a razas del tipo *Bos taurus* son más susceptibles a desarrollar tripanosomiasis debido a la infección por *Trypanosoma* spp.
- La ausencia de signos clínicos asociados a los casos positivos de la enfermedad y el gran tamaño de los parásitos observados permitieron suponer que la especie identificada en las pruebas Woo analizadas fue *Trypanosoma theileri*, debido a sus características poco o escasamente patógenas.

- Mediante el análisis de los datos obtenidos en la encuesta epidemiológica, fue posible definir que los principales factores de riesgo para la presencia y/o mantenimiento de la tripanosomiasis en la zona noroccidental de la provincia de Pichincha, están asociados al desconocimiento de la enfermedad (OR= 2,4), su forma de transmisión (OR= 6,7), así como a la época del año (por encuesta) en la que se evidencia una mayor población de vectores dentro de las fincas (OR= 5,2).

## Recomendaciones

- En base a los factores de riesgo identificados en el presente estudio se recomienda capacitar a los productores de la zona noroccidental de Pichincha acerca de la tripanosomiasis, su forma de transmisión, la identificación de signos clínicos y los tratamientos adecuados. Esto resulta necesario para ayudar a los productores a conocer más y disminuir el riesgo de presencia de esta enfermedad. Para lo cual es recomendable realizar charlas, conferencias y un seguimiento constante de la presencia de parásitos hemotrópicos en la zona noroccidental de la provincia de Pichincha.
- Se recomienda el uso de pruebas moleculares para la identificación de las especies de *Trypanosoma* sp halladas en las pruebas Woo obtenidas de las fincas positivas. Con lo cual se podrá corroborar la posible presencia de *Trypanosoma theileri*.
- Se recomienda realizar una colecta de un mayor número de tábanos y otras moscas hematófagas, además de realizar análisis moleculares a los insectos colectados, para identificar la posible presencia de *Trypanosoma* spp. en los aparatos bucales, lo que confirmaría al género *Tabanus* como un potencial vector de la tripanosomiasis en la zona noroccidental de la provincia de Pichincha.
- Se recomienda realizar un seguimiento de las fincas y las zonas aledañas que presentaron casos positivos para tripanosomiasis en el presente estudio, con el fin de identificar posibles brotes.

## Bibliografía

- Agencia de regulación y control fito y Zoonosanitario. (2018). Toma Y Envío De Muestras En Animales Domésticos. *AGROCALIDAD Instructivo INT/DA/019*, 6–9.
- Aguilar Machado, R., Seidl, A., Ramirez, L., & Rivera Dávila, A. M. (2002). Trypanosoma evansi e Trypanosoma vivax: biología, diagnóstico e controle. *Trypanosoma Evansi e Trypanosoma Vivax: Biología, Diagnóstico e Controle*.
- Alves, W. P., Cuglovici, D. A., Furtado, L. F. V., Da Silveira, J. A. G., Facury-Filho, E. J., Ribeiro, M. F. B., & Rabelo, É. M. L. (2017). Comparison of three methods for diagnosis of trypanosoma (Duttonella) vivax in cattle. *Genetics and Molecular Research*, 16(4).  
<https://doi.org/10.4238/gmr16039811>
- Batista, J. S., Freitas, C. I. A., Da Silva, J. B., Cavalcante, T. V., De Paiva, K. A. R., Lopes, F. C., & Lira, R. (2017). Clinical evaluation and reproductive indices of dairy cows naturally infected with Trypanosoma vivax. *Semina: Ciências Agrárias*, 38(5).  
<https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n5p3031>
- Batista, J. S., Moura, G. H. F., Lopes, F. C., Paiva, K. A. R. de, Araújo Júnior, H. N. de, Góis, R. C. de S., Costa, K. M. de F. M., Coelho, W. A. C., & Freitas, C. I. A. (2018). Risk factors for trypanosomiasis by Trypanosoma vivax in cattle raised in Rio Grande do Norte state. *Arquivos Do Instituto Biológico*, 85(0). <https://doi.org/10.1590/1808-1657000232016>
- Batista, J. S., Riet-Correa, F., Teixeira, M. M. G., Madruga, C. R., Simões, S. D. V., & Maia, T. F. (2007). Trypanosomiasis by Trypanosoma vivax in cattle in the Brazilian semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. *Veterinary Parasitology*, 143(2). <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.017>

Benaissa, M. H., Mimoune, N., Bentría, Y., Kernif, T., Boukhelkhal, A., Youngs, C. R., Kaidi, R., Faye, B., & Halis, Y. (2020). Seroprevalence and risk factors for trypanosoma evansi, the causative agent of surra, in the dromedary camel (*Camelus dromedarius*) population in southeastern algeria. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 87(1).

<https://doi.org/10.4102/ojvr.v87i1.1891>

Buestan, J., Navarrete, R., & Mejía, M. (2007). Lista Actualizada de Tabanos (Diptera: Tabanidae) del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Higiene y Medicina Tropical*, 44(1).

Cabezas, J. C., Benítez, C., Odio, A., Proaño, R., & Maldonado, G. (2017). *Guía de prácticas para el Noroccidente de Pichincha*.

Caiza-Mena, K. (2021). *Prevalencia del Trypanosoma vivax en bovinos provenientes de zonas de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas y Manabí, con previos reportes de enfermedades hemotrópicas*. 70.

Cebrián Yagüe, L. M., Pastor Meseguer, J., Ramos Antón, J. J., & Ferrer Mayayo, L. M. (2005). *La exploración clínica del ganado vacuno*.

Chávez-Larrea, M. A., Medina-Pozo, M. L., Cholota-Iza, C. E., Jumbo-Moreira, J. R., Saegerman, C., Proaño-Pérez, F., Ron-Román, J., & Reyna-Bello, A. (2021). First report and molecular identification of Trypanosoma (*Duttonella*) vivax outbreak in cattle population from Ecuador. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(4).

<https://doi.org/10.1111/tbed.13906>

De Andrade Neto, A. Q., De Mendonça, C. L., Souto, R. J. C., Sampaio, P. H., Fidelis, O. L., André, M. R., MacHado, R. Z., & Afonso, J. A. B. (2019). Diagnostic, clinical and epidemiological aspects of dairy cows naturally infected by trypanosoma vivax in the states

of pernambuco and alagoas, Brazil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinaria*, 41.

<https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm094319>

Desquesnes, M. (1999). Origin and distribution of New World livestock trypanosomes and their affinity for some mammalian host . In : Proceedings of first symposium on new world trypanosomes = [ Actes du 1er symposium sur les trypanosomes d ' Amérique ]. Vokaty S . ( ed .), Desq. *Proc First Symp New World Tryp*, 5–11.

Desquesnes, M. (2004). Livestock Trypanosomoses and their Vectors in Latin America.

*Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 174.

Desquesnes, M., & Dávila, A. M. R. (2002). Applications of PCR-based tools for detection and identification of animal trypanosomes: A review and perspectives. *Veterinary Parasitology*, 109(3–4). [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(02\)00270-4](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00270-4)

Desquesnes, M., & Tresse, L. (1996). Evaluation of the sensitivity of the Woo test for the detection of *Trypanosoma vivax*. *Revue d'élevage et de Médecine Vétérinaire Des Pays Tropicaux*, 49(4).

Doherty, M. L., Windle, H., Voorheis, H. P., Larkin, H., Casey, M., Clery, D., & Murray, M. (1993). Clinical disease associated with *Trypanosoma theileri* infection in a calf in Ireland. *The Veterinary Record*, 132(26). <https://doi.org/10.1136/vr.132.26.653>

Fetene, E., Leta, S., Regassa, F., & Büscher, P. (2021). Global distribution, host range and prevalence of *Trypanosoma vivax*: a systematic review and meta-analysis. *Parasites and Vectors*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04584-x>

García, L. T., Ardila, Y. A., Rincón, D., Durán, C., & Aguilar, J. R. (2014). A new PCR-RFLP for species-specific diagnosis of south American animal trypanosomiasis. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 9(2). <https://doi.org/10.3844/ajavssp.2014.128.136>

- Gonzales, J. L., Chacon, E., Miranda, M., Loza, A., & Siles, L. M. (2007). Bovine trypanosomosis in the Bolivian Pantanal. *Veterinary Parasitology*, 146(1–2).  
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.02.010>
- González, J. R., & Meléndez, R. D. (2007). Seroprevalence of bovine trypanosomosis and anaplasmosis by Elisa at Juan Jose Mora County, Carabobo State, Venezuela. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 17(5).
- Gonzatti, M. I., González-Baradat, B., Aso, P. M., & Reyna-Bello, A. (2014). Trypanosoma (duttonella) vivax and typanosomosis in latin America: Secadera/Huequera/Cacho Hueco. In *Trypanosomes and Trypanosomiasis*. [https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1556-5\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1556-5_11)
- Goossens, B., Osaer, S., Kora, S., & Ndao, M. (1998). Haematological changes and antibody response in trypanotolerant sheep and goats following experimental Trypanosoma congolense infection. *Veterinary Parasitology*, 79(4). [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00171-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00171-X)
- Habila, N., Inuwa, M. H., Aimola, I. A., Udeh, M. U., & Haruna, E. (2012). Pathogenic mechanisms of Trypanosoma evansi infections. In *Research in Veterinary Science* (Vol. 93, Issue 1). <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.08.011>
- Hernandez Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, M. del P. (2013). Metodología de la Investigacion Hernandez Sampieri 6a Edicion. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).
- Hoare, C. A. (1965). Vampire bats as vectors and hosts of equine and bovine trypanosomes. *Acta Tropica*, 22(3).
- Jaimes-Dueñez, J., Zapata-Zapata, C., Triana-Chávez, O., & Mejía-Jaramillo, A. M. (2019). Evaluation of an alternative indirect-ELISA test using in vitro-propagated Trypanosoma

brucei brucei whole cell lysate as antigen for the detection of anti-Trypanosoma evansi IgG in Colombian livestock. *Preventive Veterinary Medicine*, 169.

<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104712>

Johnson, C. M. (1941). *Bovine Trypanosomiasis in Panama* (pp. 289–297).

Jumbo-Moreira, J. (2018). *Diagnóstico de Anaplasma marginale, Trypanosoma spp. y Babesia spp. en 19 fincas ganaderas bovinas de la Isla Santa Cruz de la provincia de Galápagos, mediante las técnicas de ELISA y PCR*. 93.

Jumbo-Valencia, J. (2021). Prevalencia de trypanosoma vivax en moscas hematófagas recolectadas en distintas zonas del Ecuador con previos reportes de enfermedades hemotrópicas. *Universidad de Las Fuerzas Armadas*, 1–57.

Losos, G. J. (1980). *Veterinary Research Communications*, 4 (1980) 165--181. *Veterinary Research Communications*, 4.

Majekodunmi, A. O., Fajinmi, A., Dongkum, C., Picozzi, K., Thrusfield, M. V., & Welburn, S. C. (2013). A longitudinal survey of African animal trypanosomiasis in domestic cattle on the Jos Plateau, Nigeria: Prevalence, distribution and risk factors. *Parasites and Vectors*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-239>

Manuel Tafur, T., Amanda Chávez, V., Eva Casas, A., & Enrique Serrano, M. (2002). Prevalence of Trypanosoma vivax in cattle in high forest of the province of Chachapoyas, Amazonas. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 13(2).

Medina-Naranjo, V. L., Reyna-Bello, A., Tavares-Marques, L. M., Campos, A. M., Ron-Román, J. W., Moyano, J. C., Jarrín-Porras, E. C., Sandoval-Morejón, E. D., & Chávez-Larrea, M. A. (2017). Diagnóstico de los hemotrópicos Anaplasma marginale, Trypanosoma spp. y Babesia spp. mediante las técnicas de elisai y PCR en tres fincas ganaderas de la

Provincia de Pastaza, Ecuador. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 27(3).

Mekata, H., Konnai, S., Witola, W. H., Inoue, N., Onuma, M., & Ohashi, K. (2009). Molecular detection of trypanosomes in cattle in South America and genetic diversity of *Trypanosoma evansi* based on expression-site-associated gene 6. *Infection, Genetics and Evolution*, 9(6). <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.07.009>

(OIE), O. M. de S. A. (2021). Nagana: infecciones por tripanosomosis salivarianas (Excepto *Trypanosoma evansi* y *T. equiperdum*). *Manual Terrestre de La OIE*, 1–18.

Oliveira, J. B., Hernández-Gamboa, J., Jiménez-Alfaro, C., Zeledón, R., Blandón, M., & Urbina, A. (2009). First report of *Trypanosoma vivax* infection in dairy cattle from Costa Rica. *Veterinary Parasitology*, 163(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.03.051>

Oñate-Bravo, Y. A. (2015). Determinación de la prevalencia de anaplasmosis, babesiosis y tripanosomiasis en el hato lechero de la hacienda Jhomar, cantón Pedro Vicente Maldonado, enero y febrero, 2015 (Tesis de pregrado). *Universidad de Las Americas*, 72.

Osório, A. L. A. R., Madruga, C. R., Desquesnes, M., Soares, C. O., Ribeiro, L. R. R., & Da Costa, S. C. G. (2008). *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: Its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World - A review. In *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (Vol. 103, Issue 1). <https://doi.org/10.1590/S0074-02762008000100001>

Paoletta, M. S., López Arias, L., de la Fournière, S., Guillemi, E. C., Luciani, C., Sarmiento, N. F., Mosqueda, J., Farber, M. D., & Wilkowsky, S. E. (2018). Epidemiology of Babesia, Anaplasma and Trypanosoma species using a new expanded reverse line blot hybridization assay. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 9(2). <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.08.011>

- Patricia Quispe, A., Amanda Chávez, V., Eva Casas, A., Antonio Trigueros, V., & Francisco Suárez, A. (2003). Prevalencia de trypanosoma vivax en bovinos de la provincia de Coronel Portillo, Ucayali. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 14(2).
- Paucar, V., Ron-Román, J., Benítez-Ortiz, W., Celi, M., Berkvens, D., Saegerman, C., & Ron-Garrido, L. (2021). Bayesian estimation of the prevalence and test characteristics (Sensitivity and specificity) of two serological tests (rb and sat-edta) for the diagnosis of bovine brucellosis in small and medium cattle holders in ecuador. *Microorganisms*, 9(9). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9091815>
- Pereira, H. D., Simões, S. V.D., Souza, F. A. L., Silveira, J. A. G., Ribeiro, M. F. B., Cadioli, F. A., & Sampaio, P. H. (2018). Clinical and epidemiological aspects and diagnosis of Trypanosoma vivax infection in a cattle herd, state of Maranhão, Brazil. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 38(5). <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5303>
- Plaut, R. (1984). Analisis de riesgo. Alcance y limitaciones para el administrador de salud. *Boletin de La Oficina Sanitaria Panamericana*, 96(4).
- Ramírez-Iglesias, J. R., Eleizalde, M. C., Reyna-Bello, A., & Mendoza, M. (2017). Molecular diagnosis of cattle trypanosomes in Venezuela: evidences of Trypanosoma evansi and Trypanosoma vivax infections. *Journal of Parasitic Diseases*, 41(2). <https://doi.org/10.1007/s12639-016-0826-x>
- Sallau, A. B., Ibrahim, M. A., Salihu, A., & Yusuf, I. A. (2008). Bloodstream Form of Trypanosoma evansi Contains  $\beta$ -Galactosidase. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 3(2), 49–52.
- Shaw, J. J., & Lainson, R. (1972). Trypanosoma vivax in Brazil. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 66(1), 25–32. <https://doi.org/10.1080/00034983.1972.11686794>

Silva, R. A. M. S., Morales, G., Eulert, E., Montenegro, A., & Ybañez, R. (1998). Outbreaks of trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* in cattle in Bolivia. *Veterinary Parasitology*, 76(1–2). [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00005-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00005-8)

Sunter, J. D., & Gull, K. (2016). The Flagellum Attachment Zone: 'The Cellular Ruler' of Trypanosome Morphology. In *Trends in Parasitology* (Vol. 32, Issue 4). <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.12.010>

Taylor, K., & Authié, E. M. L. (2009). Pathogenesis of animal trypanosomiasis. In *The trypanosomiases*. <https://doi.org/10.1079/9780851994758.0331>

Villa, A., Gutierrez, C., Gracia, E., Moreno, B., Chacón, G., Sanz, P. V., Büscher, P., & Touratier, L. (2008). Presence of *Trypanosoma theileri* in Spanish cattle. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1149. <https://doi.org/10.1196/annals.1428.016>

Wells, E. A., Betamcourt, A., & Ramirez, L. E. (1977). Serological evidence for the geographical distribution of *trypanosoma vivax* in the new world. In *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* (Vol. 71, Issue 5). [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(77\)90055-4](https://doi.org/10.1016/0035-9203(77)90055-4)

Enlace:

<https://drive.google.com/drive/folders/1fDfIlZQZL37dGAo6harNsq86d4X3vSeH?usp=sharing>