



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

IDENTIFICACIÓN DE ORGANISMOS DEL FILO APICOMPLEXA EN EL
TRACTO GASTROINTESTINAL DE BOVINOS DE LA ISLA SANTA
CRUZ – GALÁPAGOS

Autora

Katherine Michelle Caicedo Jácome

Año
2018



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

IDENTIFICACIÓN DE ORGANISMOS DEL FILO APICOMPLEXA EN EL
TRACTO GASTROINTESTINAL DE BOVINOS DE LA ISLA SANTA CRUZ –
GALÁPAGOS

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Ingeniera en Biotecnología.

Profesor guía

MSc. Carlos Andrés Bastidas Caldes

Autora

Katherine Michelle Caicedo Jácome

Año

2018

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

"Declaro haber dirigido el trabajo, Identificación de organismos del Filo Apicomplexa en el tracto gastrointestinal de bovinos de la isla Santa Cruz - Galápagos, a través de reuniones periódicas con la estudiante Katherine Michelle Caicedo Jácome, en el semestre 2018 – 1, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

Carlos Andrés Bastidas Caldes
Máster en Microbiología Avanzada
CI: 0201619806

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

"Declaro haber revisado este trabajo, Identificación de organismos del Filo Apicomplexa en el tracto gastrointestinal de bovinos de la isla Santa Cruz - Galápagos, de la estudiante Katherine Michelle Caicedo Jácome en el semestre 2018 – 1, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

Andrea Paola Cordero Arroyo

Máster en Células Madre y Medicina Regenerativa

CI: 1714669825

DECLARACIÓN DEL DIRECTOR CIENTÍFICO

“Declaro haber dirigido científicamente a la estudiante Katherine Michelle Caicedo Jácome, en la realización de su trabajo experimental de titulación en base al método científico, conduciéndole con coherencia en el conjunto de experimentos realizados, y orientando sus conocimientos para lograr los objetivos propuestos”.

Freddy Proaño Pérez

Doctor en Ciencias Veterinarias

CI: 1002081162

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

Katherine Michelle Caicedo Jácome

CI: 1718564576

AGRADECIMIENTOS

A Dios, a mis padres, a la Universidad de Las Fuerzas Armadas. Al Coronel Freddy Játiva y su familia. Al Doctor Armando Reyna, Doctor Freddy Proaño y la Doctora María Augusta Chávez por permitirme realizar este proyecto en el laboratorio de Biotecnología Animal. Al Ministerio de Agricultura y Ganadería. Al Parque Nacional Galápagos. A mis compañeros y amigos de laboratorio, a las chicas del proyecto de vinculación con la comunidad. A Beto por su amor y apoyo. A la UDLA y sus docentes, al Máster Andrés Bastidas y la Máster Andrea Cordero.

DEDICATORIA

A mis padres Oswaldo y Loly por su todo su cariño y apoyo incondicional, me han enseñado que el que persevera alcanza y a luchar siempre por mis sueños. A mi hermana Emilia mi mejor amiga con quien he compartido tanto. A mi familia en general. A Beto por demostrarme que la vida te da muchas oportunidades para ser feliz. Juancho compañero incondicional durante las largas noches de estudio, mi fiel amigo. A todos quienes aprecian la vida y creen que es el mejor regalo que Dios nos dio. A quienes aman y respetan a la naturaleza porque en ella está Dios.

RESUMEN

El Filo Apicomplexa es el *Phylum* protista más grande y complejo, el cual se divide en cinco grandes grupos que son: Gregarinas, Coccidios, Haemogregarines, Haemosporidia y Piroplasmas; de estos cinco grupos los coccidios son los que se han reportado en mayor cantidad en bovinos de todo el mundo. La coccidiosis bovina causa graves problemas de salud y pérdidas económicas en los ganaderos, causando un descenso en la producción, debido a la alta tasa de morbilidad y mortalidad. Por otra parte, el bovino es una especie introducida en las Islas Galápagos, por lo que es necesario realizar un diagnóstico y análisis de los microorganismos causantes de enfermedades, que pueden ser transmitidos a otras especies de animales nativos de las Islas. El objetivo de este proyecto fue identificar organismos del Filo Apicomplexa en el tracto gastrointestinal de bovinos de la isla Santa Cruz – Galápagos. Para ello se tomaron 326 muestras de heces fecales de bovinos adultos y teneros provenientes de 63 fincas ganaderas de la isla Santa Cruz. Mediante análisis coprológicos con el método de flotación utilizando una solución sobresaturada de NaCl se identificó distintos géneros de parásitos, nematodos (94.17 %), protozoarios (85.28 %), trematodos (11.66 %) y cestodos (7.67 %); las coccidias representaron la mayor prevalencia con 77.91 %. La mayor carga parasitaria se registró en teneros con 2 235 hpg de coccidias. Finalmente, mediante PCR se confirmó la presencia de organismos del Filo Apicomplexa en el tracto gastrointestinal de los bovinos de la isla Santa Cruz. Los resultados obtenidos indican la presencia y una alta prevalencia de organismos del Filo Apicomplexa además de otros endoparásitos que inciden en la producción del ganado bovino la isla Santa Cruz en Galápagos.

ABSTRACT

Apicomplexa Phylum is the largest and most complex protista Phylum. It is divided into five major groups: Gregarines, Coccidia, Haemogregarines, Haemosporidia and Piroplasmas. Of these five groups, coccidia is the one that has been reported constantly in cattle throughout the world. Bovine coccidiosis causes serious health problems and economic losses in farmers, due to a decrease in production, high morbidity and mortality rate. On the other hand, bovines are introduced species in the Galapagos Islands, so it is necessary to identify and analyze the microorganisms that cause diseases, which can be transmitted to native species of animals. The objective of this project is to identify organisms of the Apicomplexa Phylum in the gastrointestinal tract of bovines from Santa Cruz Island - Galápagos. To do this, 326 fecal samples were taken from adult cattle and calves from 63 livestock farms on Santa Cruz Island. By means of coprological analysis with the flotation method using a supersaturated solution of NaCl, different genera of parasites, nematodes (94.17 %), protozoa (85.28 %), trematodes (11.66 %) and cestodes (7.67 %) were identified. The coccidia has the highest prevalence with 77.91 %. The highest parasitic load was recorded in calves with 2 235 epg of coccidia. Finally, PCR confirmed the presence of organisms of the Apicomplexa Phylum in the gastrointestinal tract of bovines on Santa Cruz Island. The results obtained indicate the presence and high prevalence of organisms of the Apicomplexa Phylum than other endoparasites that affect the production of cattle on Santa Cruz Island in the Galapagos.

ÍNDICE

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. Planteamiento del problema	3
1.3. Objetivo General.....	4
1.4. Objetivos específicos.....	4
1.5. Justificación	4
2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Las Islas Galápagos	6
2.2. Isla Santa Cruz.....	7
2.3. Especies Introducidas	7
2.4. Ganado bovino en Galápagos.....	8
2.5. Parásitos gastrointestinales en bovinos.....	9
2.6. Tipos de parásitos gastrointestinales	12
2.6.1. Nematodos	12
2.6.2. Trematodos	16
2.6.3. Cestodos	21
2.6.4. Protozoarios	26
2.7. Filo Apicomplexa	28
2.7.1. Características.....	29
2.7.2. Morfología.....	30
2.7.3. Clasificación.....	32
2.7.4. Características de las principales especies de coccidias identificadas en bovinos.....	35
2.7.5. Ciclo biológico.....	36
2.8. Coccidiosis bovina.....	38
2.8.1. Síntomas de la coccidiosis bovina	38
2.8.2. Diagnóstico y control de coccidios.....	39
2.9. Importancia de las enfermedades parasitarias.....	40

2.10. Control de endoparásitos en general y tratamiento	41
2.11. Métodos de diagnóstico de endoparásitos	41
2.11.1. Métodos coprológicos	41
2.11.2. Métodos Moleculares	42
3. CAPÍTULO III. DISEÑO DEL PLAN EXPERIMENTAL....	45
4. CAPÍTULO IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	46
4.1. Población y muestra	46
4.1.1. Diseño del estudio	46
4.1.2. Tamaño de la muestra	46
4.1.3. Área de estudio.....	47
4.2. METODOS	48
4.2.1. Toma de muestra.....	48
4.2.2. Pretratamiento para el procesamiento de las muestras.....	48
4.2.3. Identificación de parásitos gastrointestinales por microscopia	49
4.3. Análisis estadístico para determinar el grado de infección ..	49
4.3.1. Determinación de la prevalencia de especies de parásitos gastrointestinales encontrados en bovinos de la isla Santa Cruz.	49
4.3.2. Determinación de la carga parasitaria de las distintas especies observadas	50
4.4. Identificación de parásitos gastrointestinales por métodos moleculares	50
4.4.1. Extracción de ADN	50
4.4.2. Amplificación del gen 18S rRNA para determinar la presencia de coccidias	52
4.4.3. Observación de productos de PCR	54
5. CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
5.1. Identificación de parásitos gastrointestinales mediante microscopía	55
5.1.1. Nematodos	58
5.1.2. Trematodos	60
5.1.3. Cestodos	61
5.1.4. Protozoarios	63

5.2. Prevalencia de parásitos gastrointestinales de la isla Santa Cruz – Galápagos.	65
5.2.1. Prevalencia de géneros de parásitos gastrointestinales identificados en bovinos de la isla Santa Cruz.....	66
5.2.2. Prevalencia según la edad de los bovinos.....	67
5.2.3. Prevalencia de parásitos gastrointestinales identificados en cada sector de la isla Santa Cruz.	71
5.3. Carga parasitaria de los distintos géneros de parásitos identificados en bovinos	72
5.3.1. Carga parasitaria de nematodos.....	73
5.3.2. Carga parasitaria de protozoarios.....	74
5.3.3. Carga parasitaria de trematodos y cestodos	74
5.4. Intensidad Media	76
5.5. Identificación de Apicomplexas de la clase coccidia en muestras fecales de bovinos de la isla Santa Cruz - Galápagos mediante PCR.....	78
5.5.1. Extracción de ADN	78
5.5.2. Gradiente de Temperatura	79
5.5.3. PCR para confirmar la presencia de coccidias en las muestras de heces fecales de bovinos.....	81
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	84
6.1. Conclusiones.....	84
6.2. Recomendaciones.....	84
REFERENCIAS	86
ANEXOS	99

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

El Archipiélago de Colón, también conocido como Islas Galápagos, es considerada una reserva mundial de biodiversidad, se encuentra ubicado a 1000 km de distancia de la costa ecuatoriana y cuenta con aproximadamente 30 000 habitantes distribuidos entre las islas pobladas que son: Santa Cruz, San Cristóbal, Isabela y Floreana (INEC, 2017). El primer asentamiento humano en el archipiélago se remonta a la mitad del siglo XIX, en donde se dio la primera introducción a gran escala de especies vegetales y animales exógenas (Vaillant, Cepeda, Gondard, Zapatta, & Meunier, 2007, pp. 278). En 1974 el Instituto de Reforma Agraria y Colonización del Ecuador (IERAC), designó 24 000 hectáreas distribuidas en las cuatro islas pobladas para la actividad agropecuaria lo cual incrementó en gran medida la actividad ganadera. Debido al rápido crecimiento poblacional y la constante entrada de turistas a las islas, el sector agropecuario representa una importante fuente de empleo e ingresos para los productores lecheros con una productividad por animal de 720 USD/vaca por año (INEC, 2017).

La parasitosis gastrointestinal en bovinos generalmente se produce por protozoarios y helmintos como los nematodos y cestodos, los cuales causan fuertes pérdidas económicas para los ganaderos debido a que se ve afectada la capacidad de trabajo, producción, peso corporal y crecimiento del animal, llegando incluso a producir la muerte del ganado si no se trata la infección adecuadamente (Rodríguez Vivas, Cob Galera, & Domínguez Alpizar, 2001, pp. 20). Los distintos efectos de los parásitos gastrointestinales dependen de la especie del parásito y el grado de infección que se determina por las condiciones ambientales, la vegetación, el manejo de la ganadería, sistema de producción, tipo de forraje, edad y raza del animal (Márquez L, 2003, pp. 40 - 41).

Los protozoos del filo Apicomplexa poseen características morfológicas y biológicas comunes que los distinguen del resto del grupo como la presencia de

una organela exclusiva y el complejo apical, ciclo biológico metacíclico y parasitismo intracelular (Gállego Berenguer, 2007, pp. 166). En este filo se encuentran cinco grandes grupos que son: gregarinas, coccidios, haemogregarines, haemosporidia y piroplasmas; de estos los coccidios son los que se han reportado en mayor cantidad en bovinos de todo el mundo. Los coccidios causan la enfermedad llamada coccidiosis bovina la cual es considerada como la enfermedad parasitaria que representa mayores pérdidas económicas; la coccidiosis bovina, afecta principalmente a terneros menores de un año con una alta tasa de morbilidad y mortalidad y se manifiesta con la presencia de diarrea sanguinolenta, mientras que en el ganado adulto la enfermedad casi no presenta síntomas visibles (Quijada, López, Marchan, & Jiménez, 2002, pp. 599).

Recientes investigaciones en Venezuela indican la presencia de 13 especies diferentes de coccidiosis bovina, entre las más importantes *Eimeria zuernii*, *E. bovis*, *E. ellipsoidalis* y *E. auburnensis*., mediante el uso de técnicas de patología microscópica y coproparasitarios (Tamasaukas, Agudo, Leonel, & Vintimilla, 2010, pp. 1).

Según Domínguez, Rodríguez, & Honhold (1993, pp. 190-192) en sus investigaciones determinaron la prevalencia de especies del género *Toxocara* spp, *Strongyloides* spp, *Bunostomum* spp, *Oesophagostomum* spp, *Mammomonogamus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Ostertagia* spp, *Cooperia* spp, *Haemonchus* spp, *Trichuris* spp y el cestodo *Moniezia* spp mediante exámenes coproparasitarios y necropsias de bovinos jóvenes en el estado de Yucatán, considerando que la etapa máxima de infección es de los 6 a 9 meses de edad para el tratamiento correspondiente.

En Antioquia -Colombia, López et al., (2007, pp. 12 - 15) realizó un estudio para evidenciar la presencia de *Neospora caninum* en bovinos en una hacienda en donde se tomaron 298 muestras de sangre de ganado Holstein y 50 de raza Brangus y mediante la técnica de ELISA se detectó la presencia de anticuerpos IgG contra *Neospora* en el 34.6 % en bovinos Holstein y el 2 %. En Brangus.

En el Distrito Pacanga de Perú, Colina, Mendoza, & Jara (2013, pp. 72 - 78) determinaron la prevalencia del parasitismo por *Eimeria* en bovinos. Tomaron 338 muestras fecales y mediante análisis coproparasitarios por el método de flotación, determinaron una prevalencia global de *Eimeria* de 84.9 %, además identificaron 10 especies de las cuales *Eimeria bovis*, *E. zuerni* y *E. auburnensis* fueron las que representaban mayor prevalencia.

En Ecuador, Astudillo Alvares (2016, pp. 104) realizó un estudio acerca de la prevalencia de parásitos gastrointestinales en bovinos adultos de los cantones orientales de la provincia del Azuay, se tomaron 942 muestras de vacas multíparas y mediante análisis coproparasitarios por flotación y sedimentación se determinó una prevalencia del 82.4 %, es decir 776 muestras positivas con algún tipo de parásito gastrointestinal, siendo *Eimeria bovis* el parásito con mayor grado de infestación (74 %).

En la región costa, se realizó un estudio acerca de la prevención de *Eimeria* spp. en el ganado bovino que se faena en el Matadero Municipal de Guayaquil, Murillo Parajón (2017, pp. 57) reportó una prevalencia total de *Eimeria* spp. de 34.68 %, además se determinó la prevalencia de *Eimeria* spp., según el lugar de procedencia de las muestras y se obtuvo: Santo Domingo con 47.37 %, Azuay 45 %, Zamora Chinchipe 35.71 %, Loja 30.95 % y Cañar 13.33 %, siendo la provincia de Santo Domingo la que presenta la mayor prevalencia del total de 124 muestras de heces.

En las Islas Galápagos existen pocas investigaciones respecto a la presencia de coccidiosis. Sin embargo, Sevillano Mera (2017, pp. 50), identificó organismos del Filo Apicomplexa en tortugas gigantes de las Islas Galápagos mediante exámenes coproparasitarios y PCR, estableciéndose una prevalencia del 100% de coccidias en muestras fecales de tortugas gigantes provenientes de distintas islas, además de otros parásitos gastrointestinales como oxiuros y strongylos.

1.2. Planteamiento del problema

En las islas Galápagos la producción de ganado bovino se ha incrementado significativamente para el consumo de carne y derivados de leche. Ciertas

enfermedades parasitarias como la coccidiosis bovina llegan a causar graves problemas como diarreas, debilidad, desnutrición e incluso la muerte de los vacunos; provocando pérdidas económicas relevantes en el sector pecuario (Cabezas Murillo, 2012, pp. 3).

Dada la producción de ganado bovino en las islas Galápagos sobre todo en el sistema de producción lechera, donde no se han realizado estudios previos sobre el diagnóstico de coccidiosis bovina para evitar pérdidas de animales enfermos y a su vez mejorar su producción, se ha tomado la iniciativa de investigar mediante exámenes coproparasitarios y herramientas de biología molecular la presencia de parásitos gastrointestinales (coccidias) para diagnosticar y posteriormente diseñar programas de prevención, control y erradicación de la enfermedad (Vaillant et al., 2007, pp. 276).

1.3. Objetivo General

Identificar organismos del Filo Apicomplexa en el tracto gastrointestinal de bovinos de la Isla Santa Cruz – Galápagos.

1.4. Objetivos específicos

- Identificar parásitos gastrointestinales en muestras de heces de bovinos procedentes de la Isla Santa Cruz mediante los métodos de flotación.
- Determinar la presencia de apicomplexas de la clase coccidia en muestras de heces de bovinos mediante la técnica de PCR.

1.5. Justificación

Los primeros reportes sobre coccidiosis bovina datan del año 1921 y ha tomado un interés considerable en los años recientes por razones con el objetivo de elevar los rendimientos agrícolas y producir antihelmínticos eficaces que eliminen la gastroenteritis parasitaria. Adicionalmente afirman que la mortalidad por coccidiosis varía con el clima, manejo y control (Joyner, Norton, Davies, & Watkins, 1966, pp. 531). Reportes de la Asociación Americana de Medicina

Veterinaria ubican a la coccidiosis como la tercera enfermedad parasitaria más importante del ganado bovino en América del Norte con pérdidas anuales de aproximadamente 62 millones de dólares (Quigley, 2001, pp. 1-2).

En Canadá se ha reportado coccidiosis en las épocas de invierno y verano en lotes de engorde y zonas de cría de carne que pueden alcanzar proporciones epizooticas provocando pérdidas considerables en la industria ganadera. Las estadísticas muestran que en Ontario la coccidiosis bovina ocurre durante todo el año provocando morbilidad moderada y afectando principalmente a los terneros jóvenes (Niilo, 1970, pp. 91). Por otro lado, en España y en gran parte de Europa la crianza bovina también se ha visto afectada por trastornos entéricos en bovinos jóvenes, causando síntomas característicos de la enfermedad y descenso de la producción (Cordero del Campillo & Fernández González, 1981, pp. 51 - 52).

Investigaciones recientes en Yucatán, México con el fin de ofrecer un tratamiento adecuado de la enfermedad a animales domésticos, se tomaron y procesaron muestras de heces mediante la técnica de flotación centrifugada y los resultados obtenidos encontraron afecciones de parásitos gastrointestinales (helminths y coccidias) en bovinos, cabras, ovinos, caninos, entre otros (Rodríguez Vivas et al., 2001, pp. 21).

La coccidiosis es una parasitosis intestinal altamente contagiosa que ha sido objeto de estudio también en Latinoamérica. En Argentina se han reportado 8 casos clínicos de coccidiosis bovina presentando además síntomas nerviosos y deshidratación que pueden llevar a la muerte del animal (Rossanigo, 2009, pp. 4).

En Ecuador las actividades dedicadas a la producción de ganado de engorde ha crecido un 71 % (entre 1990 y 2004), el cual está estrechamente ligado a la industria agroalimentaria. Otra parte de ganado bovino también se destina a la producción de leche la cual ha crecido un 49 % en el mismo tiempo (García, 2006, pp. 72 - 76).

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Las Islas Galápagos

A 1 000 km de la costa ecuatoriana en el Océano Pacífico, sobre el paralelo 0°, se encuentra el Archipiélago de Galápagos, constituido por 19 islas y 42 islotes. Posee una superficie de aproximadamente 8 000 km², la isla más grande es Isabela que cuenta con 4 588 km² y la mayor altitud en el volcán Wolf con 1 707 msnm (Rodríguez Rojas, 1993, pp. 29). Por otra parte, la isla más poblada es Santa Cruz con aproximadamente 12 000 habitantes. Las islas más antiguas como San Cristóbal y Española, han detenido su actividad volcánica debido a que su proceso de formación ha concluido, sin embargo las islas más jóvenes como Isabela y Floreana son activas volcánicamente debido a que todavía siguen en proceso de formación (Galapagos Conservancy, 2017).

Las islas Galápagos se dividen en dos zonas. La primera zona corresponde al 97 % de las islas y ha sido declarada Parque Nacional con el fin de preservar el sistema natural de la acción del ser humano. La segunda zona corresponde al 3 % y está destinada para la población humana. La cuestión fundamental en las Galápagos, se centra en mantener su sistema natural el cual representa un recurso valioso para todo el mundo. Las islas poseen extraordinarias características biológicas como su origen volcánico, debido a que emergieron desde el fondo del mar como resultado de sucesivas erupciones, su posición aislada con respecto al continente, la topografía de las islas con diferentes pisos ecológicos e influencia de diversas corrientes marinas. Cada isla posee distintas características debido a la diferencia de altitud, clima y composición del suelo; lo cual ha permitido la aparición de una gran variedad de flora y fauna. En las islas se encuentran 625 especies y sub – especies nativas de las cuales se considera que el 36 % son endémicas. La unión de todas las especies de flora y fauna hacen de las islas Galápagos una de las regiones más importantes en todo el mundo por su importante valor para el estudio de la evolución y la adaptación. Es por esta razón que en 1979 la convención del Patrimonio Mundial declaró a las islas como patrimonio Natural de la Humanidad recalcando su extraordinaria

naturaleza y el desempeño del gobierno del Ecuador por mantener vigentes sus valores (Rodríguez Rojas, 1993, pp. 29 - 30).

2.2. Isla Santa Cruz

Esta isla se encuentra ubicada en el centro del archipiélago y su actividad volcánica ha cesado por completo, constituye la segunda isla más grande del archipiélago y la más poblada. La isla Santa Cruz tiene un gran historial de asentamientos humanos y agrícolas, lo cual ha dejado al paisaje de la isla alterado permanentemente por las especies invasoras. El asentamiento humano comenzó en el siglo XX durante la Primera Guerra Mundial cuando llegaron los primeros colonos provenientes de Estados Unidos y Europa. La variedad de vida silvestre, geología y vegetación propia de la isla, fueron los principales atractivos para los colonos (Galapagos Conservancy, 2017).

2.3. Especies Introducidas

Al momento en que llegaron los primeros colonos al Archipiélago, trajeron consigo un sin número de especies animales y vegetales distintas a las propias de las islas, las cuales se las denominó especies introducidas o especies asilvestradas. En la parte alta de la isla Santa Cruz, en los pueblos de Bellavista y Santa Rosa fueron las primeras zonas de asentamiento de los colonos y es aquí donde se iniciaron actividades agrícolas para subsistir, con esto se dio lugar a la cría de aves, burros, ganado bovino, porcino, caprino y se plantaron cultivos de aguacate, café, caña de azúcar, plátanos, naranjas y limones (Galapagos Conservancy, 2017).

Además de las especies destinadas a la agricultura, también se introdujeron perros, gatos, ratones y ratas los cuales desde el momento de su introducción alteraron los ecosistemas de las islas. En algunas islas, las iguanas marinas y terrestres, tortugas gigantes, culebras, lagartijas y aves endémicas se han reducido en número debido a la creciente población de especies introducidas. Por tal motivo el gobierno ecuatoriano ha implementado métodos de control para

evitar la pérdida de especies animales y vegetales endémicas y evitar una inminente catástrofe ecológica de los sistemas naturales de Galápagos (Rodríguez Rojas, 1993, pp. 44).

2.4. Ganado bovino en Galápagos

El ganado bovino es una especie introducida hace más de dos siglos en el archipiélago de Galápagos. Se encuentra distribuido en la zona agropecuaria de las islas pobladas San Cristóbal, Santa Cruz, Isabela y Floreana y se enfoca en la producción de carne y leche, siendo el sector de producción láctea el que representa mayores beneficios (Vaillant et al., 2007, pp. 280).

El 76 % del área rural de Galápagos, es decir 19 010 hectáreas son terrenos conformados por Unidades de Producción Agropecuaria (UPA). De las 755 UPA de toda la provincia, 357 se encuentran en la isla Santa Cruz (CGREG, 2014, pp. 13).

De las 271 UPA que se dedican a la actividad pecuaria, 124 UPA se encuentran en Santa Cruz con aproximadamente 6 740 bovinos lo cual representa el 68 % de bovinos existentes en todo Galápagos. Debido a que la mayor parte de la producción se centra en la obtención de leche, los productores mantienen una mayor población de hembras con una relación de siete hembras por cada tres machos. En la producción láctea, Santa Cruz ocupa el primer lugar obteniendo 35 280 litros semanales lo cual representa el 86 % de toda la provincia. En cuanto a la alimentación, en Galápagos se prefiere alimentar al ganado con pasto, esto representa más del 95 % de la dieta de los animales, sin embargo algunos productores también alimentan a los animales con banano, pasto procesado y balanceado para completar el 5 % de la dieta (CGREG, 2014, pp. 58 - 62).

Las actividades agropecuarias en Galápagos cumplen un rol importante en la conservación de los sistemas naturales, con dos objetivos ecológicos: el primero se enfoca en prevenir la introducción de nuevas especies invasoras, limitando las exportaciones desde el continente mejorando el nivel de abastecimiento en los productos agropecuarios. El segundo se centra en controlar las especies

invasoras en el campo con prácticas que eviten la diseminación de especies dentro del sector agropecuario y áreas protegidas por el Parque Nacional Galápagos (Vaillant et al., 2007, pp. 276 - 277).

2.5. Parásitos gastrointestinales en bovinos

Se denomina parásito a un animal o vegetal que en forma temporal o permanente debe nutrirse obligatoriamente a expensas de otro ser vivo denominado huésped, sin que dicha relación implique la destrucción del huésped. El parasitismo describe la compleja relación entre el huésped y el parásito, como una asociación entre individuos de distintas especies en donde el parásito depende metabólicamente del huésped y existe un continuo intercambio mutuo de sustancias. La relación entre parásitos gastrointestinales como helmintos y protozoarios en animales domésticos, se conoce como parasitismo obligatorio permanente, en el que es fundamental y necesario para el parásito vivir a expensas del huésped (Quiroz Romero, 2013, pp. 16 -17).

Todos los parásitos internos de animales domésticos pasan por un ciclo vital, el cual consta de etapas de cambios consecutivos desde que el parásito nace hasta que muere. En el ciclo de vida de los parásitos, existen dos etapas muy marcadas: la primera es la etapa de vida parásita propiamente dicha, que transcurre dentro o encima del huésped. La segunda etapa se conoce como la de vida libre, en donde el parásito abandona al huésped para permanecer en el pasto o agua hasta que logra parasitar a otro animal. La mayoría de parásitos salen del animal por la materia fecal, otros por la saliva o el moco de la nariz y un número muy pequeño por la orina (Mateus, 1983, pp.6).

Cuando los parásitos necesitan únicamente un hospedador para cumplir su ciclo vital, se dice que su ciclo de vida es directo. A estos parásitos se les conoce como monoxenos y en términos de epidemiología se dice que la propagación de un parásito se da directamente de un animal infectado a otro sano. En este ciclo al hospedero se le conoce como hospedero definitivo y a las formas evolutivas encargadas de la transmisión se conocen como formas infectivas. Por ejemplo,

Eimeria bovis es un parásito que cumple un ciclo de vida directo porque sale del huésped, pasa su fase de vida libre y vuelve a infectar a otro huésped. En algunos ciclos vitales, las formas evolutivas expulsadas por los animales infectados requieren que se mantengan en el ambiente bajo condiciones específicas para llegar a su estado infectante. Esto quiere decir que ocurre una transformación y evolución en el ambiente de estas formas evolutivas. Un gran número de nematodos cumplen con este ciclo de vida (Calderón Arguedas, 2004, pp. 40).

Durante las etapas del ciclo vital, existen algunos parásitos que pasan de un animal a otro mediante un tercer organismo vivo que les sirve de enlace, a estos organismos se conocen como intermediarios, y cuando se da este fenómeno se dice que el ciclo vital es indirecto (Mateus, 1983, pp.6). A los parásitos que cumplen con un ciclo de vida indirecto se le conoce como heteroxenos. Durante este ciclo, en uno de los hospedadores el parásito se desarrolla hasta alcanzar su forma adulta (hospedador definitivo). Por otro lado, el hospedador donde el parásito se transforma pero sin llegar a su forma adulta, se define como hospedador intermediario (Calderón Arguedas, 2004, pp. 41). Un ejemplo de este tipo de parasitismo es el de *Fasciola hepática* en la que su hospedador intermediario es el caracol anfibio *Lymnaea truncatula*. Otro ejemplo, son los cestodos que afectan a los rumiantes, cuyo hospedero intermediario son los ácaros de la familia *Oribatidae* que habitan en los pastos (Mateus, 1983, pp. 6 - 7).

En el ganado existen diversos factores que favorecen las infecciones parasitarias. Por ejemplo, en pastoreo permanente el bovino tiene más probabilidades de infectarse que cuando se alimenta con forraje en pesebres, se ha evidenciado que existe una relación directa entre los parásitos y el modo de vida del huésped o los sistemas de manejo de los animales, por ejemplo, un bovino es más propenso a contraer una coccidiosis si éste se mantiene solamente en corrales (Quiroz Romero, 2013, pp. 29).

Los distintos tipos de parasitismos que se pueden presentar en el ganado bovino y son:

- Parasitosis o parasitismo clínico: las manifestaciones de los parásitos son evidentes presentan sintomatología grave e incluso la muerte del animal.
- Parasitosis o parasitismo subclínico: No se observa sintomatología de la enfermedad, sin embargo el desarrollo del parásito en el interior del animal interfiere con la producción, viéndose reducida la producción de leche y carne. Además de un retraso en el crecimiento y mayor susceptibilidad a contraer otras enfermedades.

Ambos tipos de parasitismo en términos de producción son importantes. El parasitismo subclínico se considera de mayor importancia debido a que puede pasar desapercibido y de esta manera no tomar las medidas de control y desparasitación adecuadas (Parra, 1990, pp. 121)

Los parásitos son los causantes de grandes pérdidas económicas para los ganaderos de todo el mundo debido a que reducen la capacidad productiva de los animales (Parra, 1990, pp. 121). La magnitud del daño que causan los parásitos en los animales domésticos puede ser muy variable. En ocasiones puede ser tan leve que no es fácil medirlo en términos económicos, sin embargo cuando el daño es grave y severo las pérdidas son elevadas y fáciles de detectar. Por lo tanto, para conocer los problemas que causan los parásitos en el ganado bovino de una determinada región se debe realizar lo siguiente: identificar la población de parásitos, establecer las características de la población de animales afectados, determinar las condiciones ecológicas de la zona ganadera, establecer los distintos factores epidemiológicos del parasitismo (Mateus, 1983, pp. 5).

El parasitismo gastrointestinal se ha investigado en todo el mundo y se le da mayor énfasis en las actividades ganaderas dedicadas a la industria agroalimentaria y producción de leche. Los efectos de las enfermedades parasitarias sobre los bovinos son muy conocidos, pueden provocar anorexia, reducir la ganancia de peso y producción de leche, alteraciones en el metabolismo de las proteínas, reducción de la actividad de las enzimas digestivas y diarreas causando pérdidas en los sistemas pecuarios. Los parásitos gastrointestinales más comunes en bovinos de clima tropical son los

protozoarios, nematodos, trematodos y cestodos (Domínguez, Rodríguez, & Honhold, 1993, pp. 189).

2.6. Tipos de parásitos gastrointestinales

2.6.1. Nematodos

Los nematodos también conocidos como “gusanos redondos” son especies libres o parásitas. El parasitismo gastrointestinal es causado por una gran variedad de nematodos del orden *Strolongylida* que pueden estar ubicados en el compartimiento gástrico (*Haemonchus placei*, *Ostertagia* spp., *Mecistocirrus digitatus*, *Toxocara vitulorum* y *Trichostrongylus axei*) e intestino (*Bunostomum phlebotomun*, *Cooperia* spp.). El desarrollo de la enfermedad depende de la intensidad del parásito en los pastos y la edad a la que ocurre la exposición (Mateus, 1983, pp. 7).

2.6.1.1. Morfología

Los nematodos no presentan segmentos, poseen una estructura filiforme con simetría bilateral y en ocasiones dilataciones corporales globulosas. El tamaño de un nematodo puede variar según la especie, llegando a medir desde pocos milímetros hasta más de un metro de largo (Cordero del Campillo & Rojo Vázquez, 2007, pp. 113)

La cubierta corporal del nematodo está compuesta por la cutícula y la hipodermis. La composición de la cutícula depende de la especie de nematodo, pero generalmente es rica en carbohidratos, lo cual permite la acción de mecanismos de evasión de la respuesta inmune de los hospederos. Entre la cutícula y los músculos está la hipodermis que consta de un grupo de fibrillas que dan origen a las líneas longitudinales dos laterales, una ventral y una dorsal, es rica en lípidos y glucógeno con la presencia de pocas mitocondrias, cuerpos vesiculares y ribosomas (Cordero del Campillo & Rojo Vázquez, 2007, pp. 113 - 115).

El sistema digestivo de los nematodos es tubular, la cavidad bucal es una abertura sencilla generalmente rodeada por dos o tres labios y se conecta directamente con el esófago. Su locomoción se da mediante movimientos ondulantes como resultado de la contracción y relajación muscular de la parte ventral y dorsal de gusano (Urquhart, Armour, Duncan, Dunn, & Jennings, 2001, pp.4).

Los sistemas reproductores de estos parásitos se reconocen como tubos filamentosos. Los órganos de las hembras son: ovarios, oviducto y útero. En algunas especies se encuentra un órgano llamado oviyector, el cual interviene en la puesta de huevos. Los órganos masculinos están compuestos por un testículo y un vaso deferente que se conecta con el conducto eyaculador (Urquhart et al., 2001, pp. 7).

2.6.1.2. Desarrollo

Los huevos de todos los parásitos difieren en tamaño y forma (Figura 1). La cáscara de los huevos varía en su espesor y el número de capas difiere según la especie. La supervivencia del huevo en la vida libre se relaciona con el espesor de la cáscara la cual evita que la larva se desequie, por tal motivo en los parásitos en los que su forma infectante es el huevo embrionado, se encuentra una cascara muy gruesa que le permite sobrevivir hasta varios años en el suelo. Según la especie, los huevos pueden desarrollarse después de la ingestión o en el medio ambiente. Cuando la forma infectante es el huevo embrionado, el hospedador desencadena la evolución y desarrollo de la larva en regiones específicas del tracto digestivo (Urquhart et al., 2001, pp. 8 - 9).

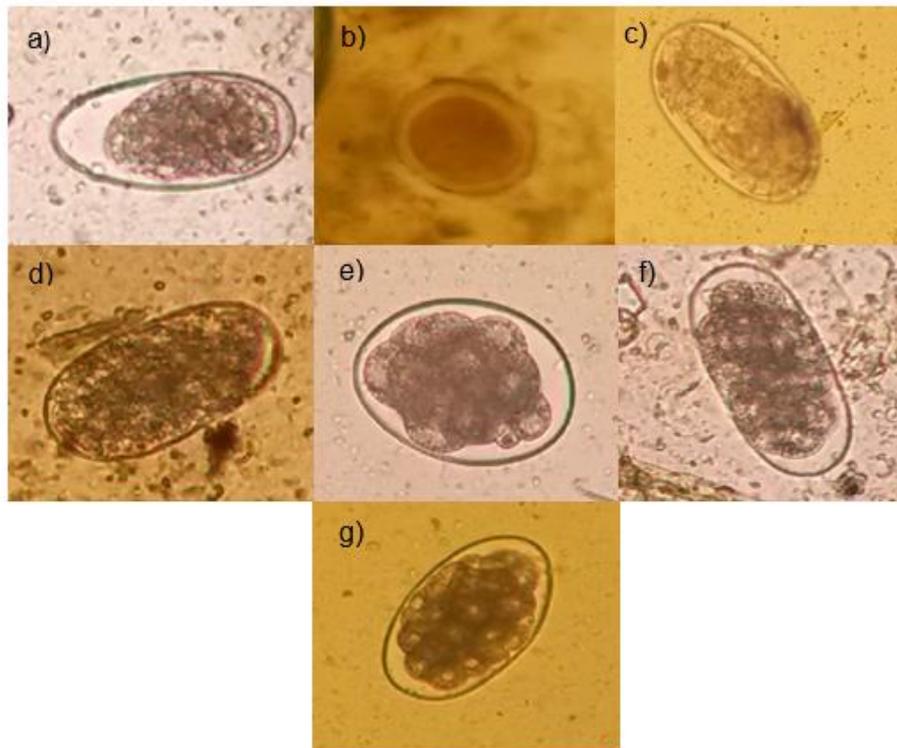


Figura 1. Huevos de nematodos
 Tomado de (Rodríguez & Juera, 2016, pp. 24 - 35)
 a) *Trichostrongylus axei*
 b) *Toxocara vitulorum*
 c) *Strongyloides* spp.
 d) *Ostertagia* spp.
 e) *Hemonchus* spp.
 f) *Cooperia* spp.
 g) *Bunostumun* spp.

Los efectos y lesiones causados por parásitos gastrointestinales varían según la especie. Por ejemplo, una infección causada por *Ostertagia* spp., se asocia con el daño morfológico y funcional de glándulas gástricas en el obomaso, llegando incluso a producir úlceras y hemorragias en el intestino delgado (Soulsby, 1987). Una infección causada por *Trichostrongylus* sp provoca inflamación de la mucosa del intestino sobre todo en el duodeno, provocando úlceras, hemorragia y abundante mucus (Gómez, 2000, pp.4). Según Soca et al., (2005, pp. 175 - 185) los parásitos gastrointestinales se ubican en distintas regiones del tracto digestivo, produciendo distintos efectos en el animal (Tabla 1).

Tabla 1

Localización y efectos causados por los nematodos más frecuentes.

Género	Localización	Efecto
<i>Haemonchus</i> spp.	Abomaso	Anemia, gastritis
<i>Trichostrongylus</i> spp.	Abomaso	Abomasitis, gastritis, úlceras profundas, diarreas severas.
<i>Ostertagia</i> spp.	Abomaso	Anemia, nódulos, alteraciones del pH, afecta la producción de pepsinógeno.
<i>Cooperia</i> spp.	Intestino delgado	Enteritis, anemia, diarreas
<i>Strongyloides</i> spp.	Intestino delgado	Enteritis, anorexia
<i>Bunostomum</i> spp.	Intestino delgado	Enteritis
<i>Oesophagostomum</i> spp.	Intestino delgado	Diarreas, anorexia, pérdida de proteína plasmática

Tomado de (Soca et al., 2005).

2.6.1.3. Ciclo biológico

Durante el desarrollo de los nematodos estos mudan su cutícula. Durante el ciclo completo hay cuatro mudas en 5 estadios larvarios hasta que el nematodo llega a ser un adulto inmaduro. Los nematodos presentan ciclos biológicos directos e indirectos dependiendo la especie y el desarrollo de las larvas se da en la luz del intestino o en el interior de la mucosa. Sin embargo, durante el ciclo biológico de algunas especies pasan por una fase migratoria en donde las larvas viajan por el cuerpo del animal hasta llegar al punto final de infección. La ruta más común se conoce como hepato – traqueal en donde las larvas pasan del intestino hacia el hígado, corazón o pulmones (Urquhart et al., 2001, pp. 7 - 8).

Cuando los nematodos llegan a su estado adulto, se adhieren a la pared del cuajar y del intestino del bovino mediante estructuras que se encuentran en la

boca del gusano. En estado adulto, los machos fecundan a las hembras e inicia la postura de huevos. Los huevos se mezclan con los residuos alimenticios y son expulsados del bovino por la materia fecal. Como se observa en la figura 2, los huevos salen del huésped en las heces fecales, en el suelo continúan su evolución y desarrollo hasta llegar al estadio de larva, la cual rompe la cáscara o envoltura del huevo y es liberada en el pasto o el agua. En la fase de vida libre la larva pasa por transformaciones durante 4 a 10 días hasta convertirse en larva infectiva y es aquí donde la mayoría de bovinos se infestan al consumir pasto y agua contaminada. Existen excepciones, algunos nematodos como *Strongyloides* sp. y *Bunostomum* sp. no solo ingresan al animal por ingesta sino que también pueden infectarlo por vía percutánea (Mateus, 1983, pp. 7-9).

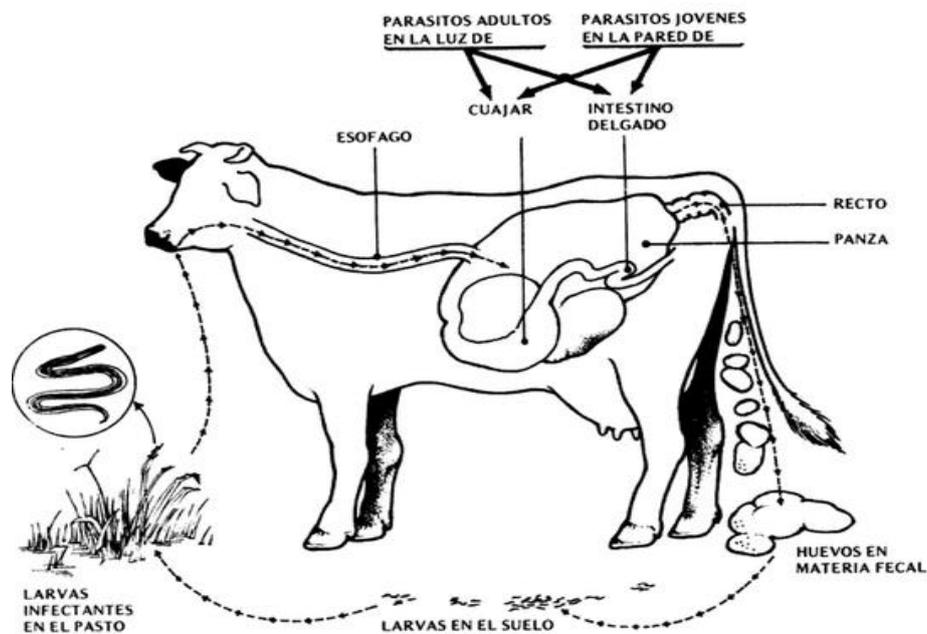


Figura 2. Ciclo biológico típico de nematodos que se localizan en el cuajar o intestino de bovinos.
Tomado de (Mateus, 1983, pp. 8).

2.6.2. Trematodos

Los trematodos, también conocidos como platelmintos son metazoos con simetría bilateral, cuerpo alargado y plano por lo que reciben el nombre de “gusanos planos” (Manga González, 2007, pp. 79).

Dentro de la clase Trematoda, se encuentran dos subclases de mayor importancia: Monogenea que comprende parásitos con ciclos biológicos directos. La mayoría son ectoparásitos de peces; y Digenea comúnmente llamados duelas, que incluye parásitos con un hospedero intermediario. Estos parásitos son exclusivos de vertebrados con una importancia considerable en los animales de producción debido a que se localizan en el tracto digestivo, conductos biliares y sistema vascular afectando a la producción de los animales. En esta subclase existen pocas especies que requieren más de un hospedador intermediario, pero el molusco o caracol es esencial en todas las especies que pertenecen a este grupo (Urquhart et al., 2001, pp. 115).

La clase trematoda incluye varios géneros identificados en las muestras de heces fecales de bovinos adultos y teneros, entre los que destacan *Schistosoma*, *Paramphistomum* y *Dicrocoelium*. El ganado por lo general se infesta por vía oral al ingerir metacercarias en plantas acuáticas a través de hospederos intermediarios como caracoles acuáticos pulmonados como lo indican investigaciones realizadas por Pinedo et al., (2010, pp. 162).

Cuando la infestación por trematodos y cestodos es elevada los animales pueden desarrollar anemias y en casos extremos hasta anorexias por la falta de apetito ocasionadas por lesiones intestinales en los bovinos (Pinedo et al., 2010, pp. 162).

En el ganado bovino el trematodo más conocido debido a que posee un alto grado de infectividad es *Fasciola hepática*. Este parásito ocasiona la enfermedad conocida como fasciolosis la cual se considera de gran importancia para el ganado vacuno debido a que provoca importantes pérdidas económicas. Se estima que esta enfermedad ocasiona pérdidas anuales estimadas de 2000 millones a nivel mundial (Mas - Coma, Esteban, & BARGUES, 1999, pp. 340 - 342).

La fasciolosis se puede presentar en distintas fases; en la fase aguda se da la muerte súbita del animal debido a la alta carga parasitaria, los síntomas más comunes son hemorragia abdominal, ascitis e ictericia. La fase subaguda se presenta con anemia, pérdida de peso y letargia (Behm & Sangster, 1999, pp. 544).

2.6.2.1. Morfología

Los trematodos de la subclase Digenea son los más representativos en los animales de producción, por lo que en adelante todo lo mencionado de trematodos será referido a esta subclase.

Generalmente estos parásitos tienen una forma aplanada, sin embargo algunas especies pueden tener forma cilindroide alargada u oval o alargada en los extremos. El tamaño de los parásitos varía según la especie (Manga González, 2007, pp. 84).

Estos parásitos presentan dos ventosas prominentes en la superficie corporal, la primera ventosa está ubicada en la parte anterior del cuerpo y se conoce como ventosa bucal, la segunda ventosa se encuentra en la parte ventral y se conoce como acetábulo (Manga González, 2007, pp. 84). El cuerpo de estos parásitos se encuentra envuelto por un tegumento generalmente cubierto por espinas, el cual cumple función de absorción. Los músculos se localizan debajo del tegumento, no presentan cavidades corporales y todos los órganos se localizan dentro del parénquima.

En cuanto a los órganos sexuales, los trematodos son hermafroditas con excepción de los miembros de la familia Schistosomatidae los cuales poseen sexos separados (Urquhart et al., 2001, pp. 115 - 116).

2.6.2.2. Desarrollo

Los trematodos adultos son ovíparos y ponen huevos con opérculos, el cual es una estructura semejante a una tapa que se localiza en un extremo del huevo. La cáscara del huevo es lisa y gruesa y puede tener distintas formas según la especie de trematodo: redonda, ovalada, forma de uso o forma de botella (Figura 3 y 4). Según la especie de trematodo existen distintos grados de maduración, una vez que el huevo es puesto en el exterior por las heces fecales y en ocasiones por la orina o esputos (Manga González, 2007, pp. 93).

Dentro del huevo el embrión evoluciona hasta transformarse en una larva piriforme y ciliada conocida como miracidio. Cuando hay un estímulo de luz, se libera una enzima del miracidio la cual digiere las proteínas del opérculo con lo que este se rompe y el miracidio sale del huevo. El miracidio se mueve en el agua mediante cilios hasta infestar a un caracol donde puede continuar su ciclo (Urquhart et al., 2001, pp. 116).

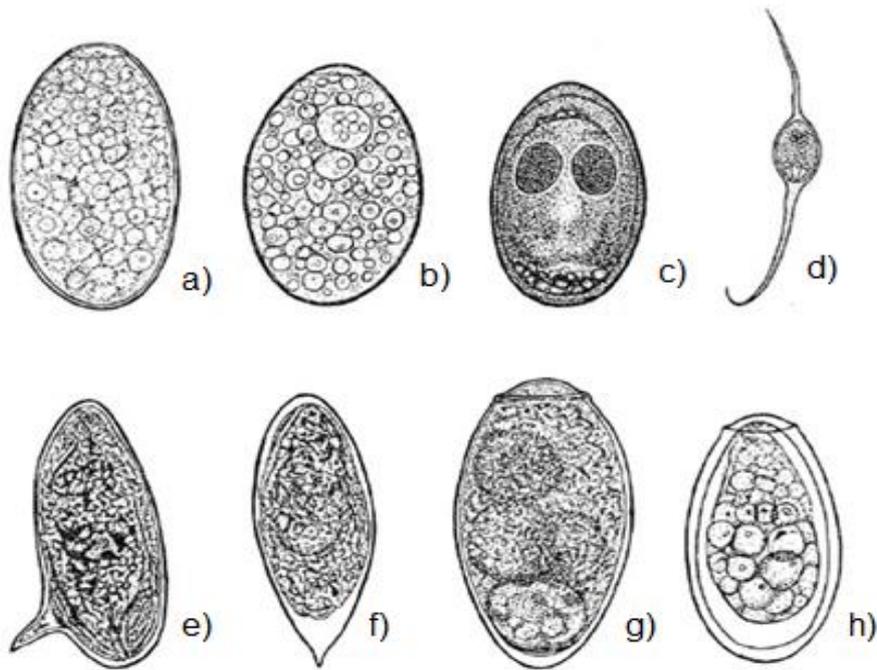


Figura 3. Huevos de trematodos de la subclase Digenea. Tomado de (Manga González, 2007, pp. 94).

- a) *Paramphistomum cervi*
- b) *Fasciola hepática*
- c) *Dicrocoelium dendriticum*,
- d) *Notocotylus* sp.,
- e) *Schistosoma mansoni*,
- f) *Schistosoma haematobium*,
- g) *Paragonimus westermani*
- h) *Opisthorchis sinensis*



Figura 4. Huevo de trematodo *Fasciola hepatica*
Tomado de (López Páez, Corredor Arjona, & Nicholls Orejuela, 2012, pp. 29).

2.6.2.3. Ciclo biológico

Los trematodos poseen un ciclo biológico indirecto y se considera que este ciclo es el más complicado del reino animal, debido a que para completar su ciclo requieren un hospedador definitivo y uno o más hospedadores intermediarios. En cualquier caso, en todos los ciclos el hospedador intermediario es un molusco en el que el trematodo se multiplica en gran medida mediante reproducción asexual, de un solo huevo se pueden obtener cientos de adultos, este fenómeno se conoce como paedogénesis (Manga González, 2007, pp. 84).

Como se observa en la figura 5, los huevos se eliminan por las heces fecales del hospedador. En vida libre los huevos eclosionan y liberan el miracidio, el cual tiene una vida corta por lo que tiene que buscar al hospedero intermediario para continuar con su desarrollo. Una vez dentro del caracol, el miracidio se transforma en un saco alargado sin cilios llamado esporocisto que contiene células germinales, estas evolucionan en otro tipo de fase larvaria llamada redias las cuales migran al hepatopáncreas del molusco. Las células germinales de las redias dan origen a las cercarías provistas de colas largas, en este estadio larvario se consideran duelas jóvenes. Posteriormente, las cercarías salen del caracol en gran número y nadan hasta alcanzar el suelo con vegetación en este punto pierden la cola y se transforman en quistes, este estadio se conoce como metacercaria. Las metacercarias tienen la capacidad de vivir durante meses en vida libre y cuando es ingerida por el animal mediante la masticación se rompe

a pared quística, más adelante en el intestino se rompe la pared interna en donde emerge la duela juvenil penetra el intestino y migra hacia su ubicación preferencial dependiendo de la especie y ahí finalmente se desarrolla hasta la etapa adulta (Urquhart et al., 2001, pp. 116 - 118).

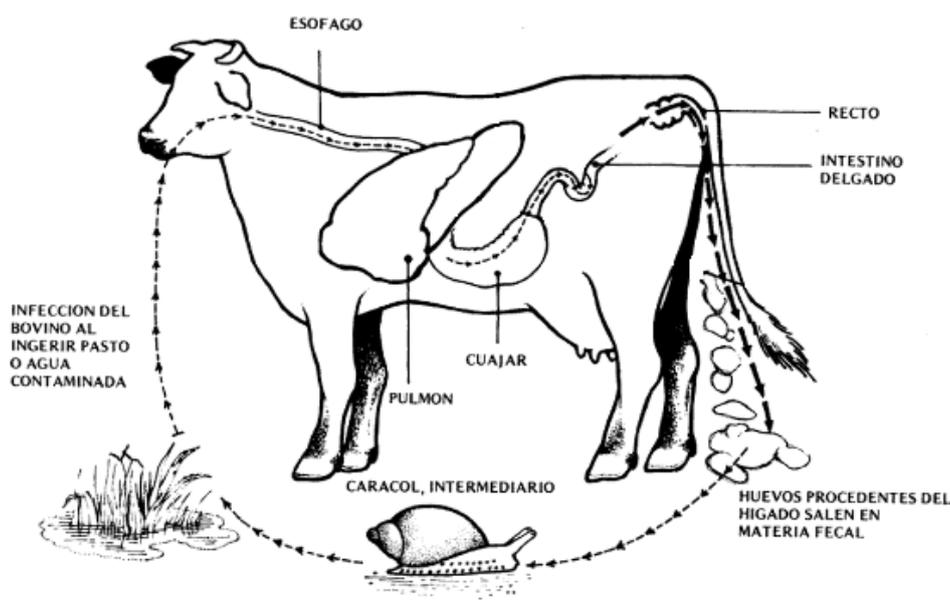


Figura 5. Ciclo biológico típico de trematodos, en donde su hospedero intermediario es el caracol.

Tomado de (Mateus, 1983, pp. 22).

2.6.3. Cestodos

Los cestodos también llamados gusanos segmentados, comprenden un gran número de parásitos internos que en estado adulto parasitan el tracto digestivo de hospedadores vertebrados (Quiroz Romero, 2013, pp. 286). Los trematodos y cestodos difieren en que estos últimos tienen un cuerpo en forma de cinta y no tienen tubo digestivo (Urquhart et al., 2001, pp. 136).

Todos los miembros pertenecientes a la clase Cestoda, son endoparásitos con un buen sistema de anclaje y al presentar un ciclo biológico indirecto requieren dos o más hospedadores intermediarios (Padilla Álvarez & Cuesta López, 2003, pp. 28).

Los cestodos que parasitan a las vacas de edad adulta son los pertenecientes al género: *Moniezia*, *Thysaniezia*, *Thysanosoma*, *Stilesia* y *Avitellina* (Cordero del Campillo & Fernández González, 1981, pp. 275).

En el ganado vacuno, el principal representante de los cestodos es *Moniezia* spp., causante de la enfermedad llamada monieziosis también conocida como teniasis o cestodosis. Esta enfermedad es causada por cestodos de las especies: *Moniezia expansa* y *Moniezia benedeni*. *M. expansa* se localiza en el intestino delgado de caprinos, ovinos y bovinos con una alta prevalencia en todo el mundo y puede llegar a medir hasta 6 metros de largo y 1.7 cm de ancho. Por otro lado, *M. benedeni*, también se localiza en el intestino delgado de rumiantes pero es más ancha que *M. expansa* pudiendo alcanzar los 2.6 cm de ancho (Quiroz Romero, 2013, pp. 294).

Las tenias o lombrices “chatas”, son las más conocidas por los ganaderos de todo el mundo debido a que por su gran tamaño se pueden ver fácilmente en el estiércol de los animales (Castro Ramirez, 1984, pp. 320).

Debido a que *Moniezia* puede alcanzar grandes tamaños, ejerce una acción mecánica debido a que ocupa el espacio destinado para los alimentos. Además genera efectos irritantes y tóxicos debido a los productos metabólicos del parásito manifestándose como problemas entéricos en el hospedero y en algunas ocasiones llegan a generar problemas nerviosos. Las lesiones producidas por *Moniezia* pueden ser crónicas presentando anemia y caquexia. Las lesiones agudas se dan generalmente en animales jóvenes produciendo inflamación del intestino la cual puede llegar a ser grave, enteritis y hemorragias (Quiroz Romero, 2013, pp. 294 - 295).

2.6.3.1. Morfología

En estado adulto, los parásitos de la clase Cestoda tienen un color amarillento o gris y un cuerpo aplanado dorsoventralmente. Como se observa en la figura 6, los parásitos presentan tres regiones que son:

- Escólex: Es el extremo anterior del cestodo, tiene forma globular o esférica y pueden variar. En esta región se encuentran los órganos de fijación como acetábulos, ventosas, botridios, rostelos o ganchos.
- Cuello: esta región se localiza inmediatamente después del escólex, contiene células germinales que dan origen a los proglótidos en un proceso llamado estrobilación mediante reproducción asexual.
- Proglótidos: Esta zona está formada enteramente por proglótidos los cuales se clasifican en inmaduros, maduros y grávidos dependiendo de su estado de desarrollo. En los proglótidos maduros se desarrollan los órganos genitales los cuales se atrofian cuando el útero está lleno de huevos en este punto los proglótidos grávidos se desprenden y son eliminados por las heces (Quiroz Romero, 2013, pp. 286 - 287).

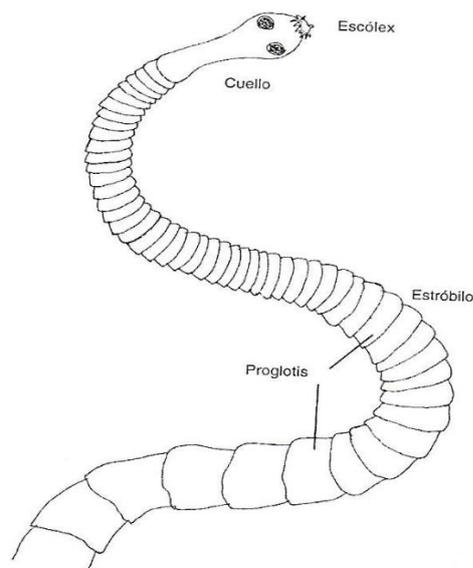


Figura 6. Morfología típica de un cestodo adulto.
Tomado de (Urquhart et al., 2001, pp. 137).

El sistema nervioso de los cestodos se considera complejo, lo cual se evidencia en el movimiento relativamente coordinado que realizan estos parásitos, por lo que se ha determinado que tienen un apéndice parecido a un “cerebro”. El “cerebro” se localiza en el escólex, también existen troncos nerviosos a lo largo del cuerpo y nervios que parten desde el “cerebro” hacia los músculos y el

aparato reproductor. Además de estas regiones nerviosas se ha comprobado que estos parásitos poseen terminaciones sensitivas en su tegumento (Cordero del Campillo & Rojo Vázquez, 2007, pp. 107).

En cuanto al sistema reproductor, en los proglótidos maduros se encuentran órganos masculinos y femeninos. Ambos aparatos se unen en un mismo poro genital el cual se encuentra en la superficie conformando lo que se conoce como atrio genital (Quiroz Romero, 2013, pp. 288).

2.6.3.2. Desarrollo

Los cestodos no tienen como único objetivo llegar al hospedador para continuar con su ciclo biológico, si no también debe establecerse, desarrollarse, madurar y reproducirse. En el hospedero intermediario el cestodo crece en tamaño sin embargo, la madurez sexual la alcanza en el hospedador definitivo. La forma infectiva del cestodo es en el estadio de huevo (Figura 7) o larva. Para que pueda infectar al animal el huevo debe desenquistarse o eclosionar, luego llegar a la madurez, fecundar y poner huevos para mantener el ciclo (Cordero del Campillo & Rojo Vázquez, 2007, pp. 108).



Figura 7. Huevo del cestodo *Moniezia expansa*
Tomado de (Rodríguez & Juera, 2016, pp.39).

El ciclo biológico de los cestodos se da mediante un hospedero intermediario conocido como pijo de pasto o ácaros del pasto pertenecientes al orden Oribátida. Al ingerir estos ácaros el animal se infesta del parásito en su estadio

infectante. Los terneros son los más afectados por los cestodos lo cual les impide el paso del alimento (Mateus, 1983, pp. 14).

2.6.3.3. Ciclo biológico

Una vez que el cestodo se encuentra en el intestino delgado del bovino, los huevos y segmentos del gusano son expulsados por las heces fecales (Figura 8). Cuando el parásito se encuentra en el medio ambiente, el ácaro oribátido (hospedero intermediario) ingiere los huevos, dentro del hospedero se digiere el embrióforo a causa de las secreciones gástricas y se activa la oncosfera, la cual mediante ganchos se adhiere y penetra la mucosa. En la mucosa, el parásito alcanza el sistema circulatorio hasta llegar a la localización preferencial para al parásito y es ahí donde la oncosfera se desarrolla hasta llegar al estadio larvario conocido como metacestodo. El parásito abandona al hospedero intermediario como metacestodo y vuelve al medio ambiente donde es ingerido por el bovino, ya en el hospedero definitivo el escólex se adhiere a la mucosa y el resto de estructuras son eliminadas y así desde la base del escólex inicia la formación de la cadena de proglótidos (Urquhart et al., 2001, pp. 138).

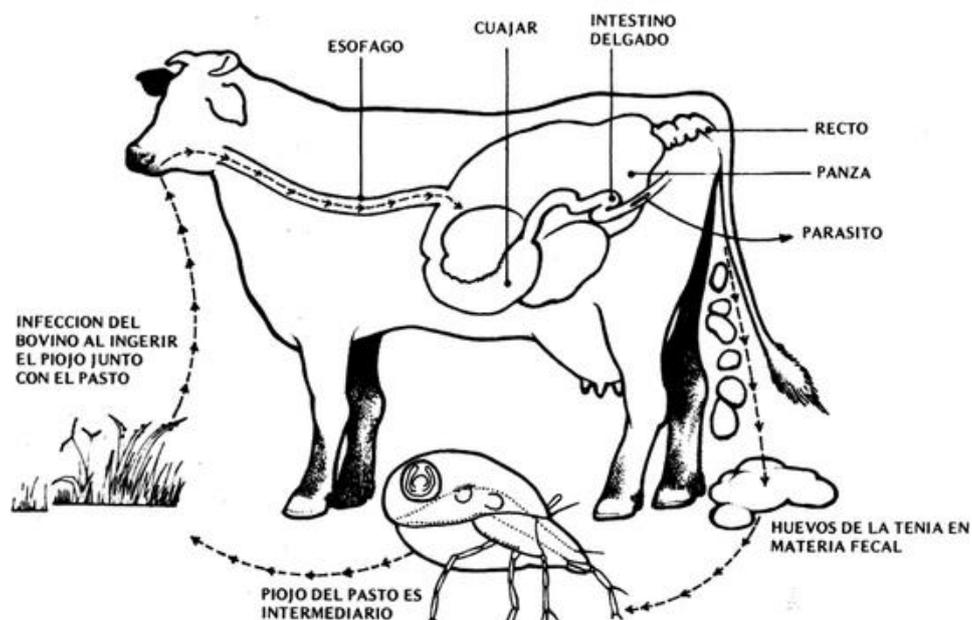


Figura 8. Ciclo biológico típico de cestodos en bovinos, donde su hospedero intermediario es el ácaro o piojo del pasto. Tomado de (Mateus, 1983, pp. 15).

2.6.4. Protozoarios

Los protozoarios corresponden a un grupo de células eucariotas simples unicelulares. Como la mayoría de eucariotas, los protozoos almacenan su material genético en los cromosomas los cuales se encuentran dentro de una membrana nuclear (Urquhart et al., 2001, pp. 239).

Se considera que los protozoos son las primeras células que existieron dando origen a los seres vivos más antiguos. Debido a que poseen un pequeño tamaño, la capacidad de resistir a condiciones medioambientales adversas y formar quistes o esporas, muchas de las especies de protozoos son cosmopolitas y otras de distribución limitada. Suelen ser comensales, de vida libre, parásitos o mutualistas (Álvarez, 2006, pp. 62).

Se han descrito 45 000 especies de protozoarios. Se encuentran prácticamente en todos los ambientes ecológicos y hábitats en los que hay vida, por lo que forman parte de la cadena alimenticia. Los parásitos protozoarios generan importantes enfermedades en vertebrados de todos el mundo como por ejemplo piroplasmosis, paludismo, coccidiosis, amibiasis, (Quiroz Romero, 2013, pp. 60)

Las infecciones causadas por protozoarios pueden ser asintomáticas y de no ser tratadas pueden provocar la muerte, sin embargo depende de la resistencia del huésped, especie y cepa del parásito (Yaeger, 1996).

2.6.4.1. Morfología

Las estructuras de los protozoarios se conocen como organelos debido a que representan distintas proporciones de la célula. Los protozoarios se consideran eucariotas debido a que poseen uno o más núcleos definidos por una membrana (Quiroz Romero, 2013, pp. 60).

La locomoción de estos organismos se da mediante flagelos, cilios, pseudópodos o movimientos de la misma célula (Álvarez, 2006, pp. 62). Existe otro tipo de locomoción llamado planeador y esta manera de moverse se da

en *Sarcocystis*, *Toxoplasma* y en los merozoitos de coccidias (Quiroz Romero, 2013, pp. 61).

La nutrición de los protozoarios ocurre mediante fagocitosis o pinocitosis y los productos metabólicos son eliminados por difusión desde la membrana celular al exterior (Urquhart et al., 2001, pp. 240). Sin embargo, también se conoce otros tipos de nutrición como: Holótrica: propia de los fitifalgelados en donde el alimento se sintetiza por cromatóforos o clorofila. Holozoica: comprende la nutrición con materia orgánica y Saprozoica: se considera un tipo de nutrición no especializada (Quiroz Romero, 2013, pp. 61 - 62).

2.6.4.2. Reproducción

Los protozoarios presentan reproducción sexual y asexual dependiendo la especie. La reproducción asexual por fisión binaria es la forma más común. Sin embargo, la fisión múltiple también conocida como esquizogonia se da principalmente en organismos del filo Apicomplexa. La gemación o indiodogénesis se da en *Toxoplasma*, *Sarcosystis* y *Besnoitia*. Algunos protozoarios forman quistes o esporas como estado de resistencia. El quiste es la formación de una capa gruesa que rodea al organismo. Por otro lado, una espóra se produce en el interior del organismo en la que también se forma una capa gruesa con más de un organismo. Este proceso se conoce como esporogonia y cada individuo producto de la espóra se conoce como esporozoito (estado infectante de los protozoos), y al estado móvil vegetativo se le conoce como trofozoito (estado en el que el protozoo se alimenta del hospedero y se desarrolla hasta que empieza a reproducirse) (Quiroz Romero, 2013, pp. 62 - 63) & (Urquhart et al., 2001, pp. 240).

2.6.4.3. Clasificación

Los protozoos parásitos se clasifican en tres filos en base a su motilidad y son:

I. Phylum Sarcomastigophora

- Subphylum Sarcodina – amoebae: su movimiento se basa en la emisión de pseudópodos.
- Subphylum Mastigophora – flagelados: su movimiento se da mediante uno o más flagelos.

II. **Phylum Ciliophora:** Su locomoción es mediante cilios, órganos filamentosos similares al pelo.

III. **Phylum Apicomplexa:** Estos parásitos formadores de esporas se mueven con la flexión de su mismo cuerpo. Todos los integrantes de este filo son parásitos. Mediante un complejo apical invaden el cuerpo del hospedador (Mille Pagaza, Pérez Chi, & Villaseñor Córdova, 2010, pp. 39).

2.7. Filo Apicomplexa

Las Apicomplexa son organismos unicelulares que tienen la capacidad de penetrar los tejidos animales para obtener alimento de ellos (Monge-Nájera, Gómez Figueroa, & Rivas Rossi, 2002, pp. 269). Los organismos pertenecientes a este filo provocan enfermedades como: malaria causada por *Plasmodium* spp., babesiosis causada por *Babesia* spp., cryptosporidiosis causada por *Cryptosporidium* spp., toxoplasmosis causada por *Toxoplasma gondii*, sarcosporidiosis por *Sarcocystis* spp., y eimeriosis causada por *Eimeria* spp. *Theileria* y *Eimeria* se consideran altamente patógenos y de importancia económica en animales de producción debido a que las enfermedades que producen incurren en enormes costos (Müller, Cerdan, & Radulescu, 2016, pp. 196).

Los protozoarios que afectan comúnmente a vertebrados de interés veterinario como los bovinos son los pertenecientes a la familia Eimeriidae de la clase Coccidia. Generalmente, las coccidias son parásitos internos del epitelio intestinal causantes de la enfermedad conocida como coccidiosis, que de acuerdo a su sintomatología se puede confundir con las enfermedades causadas por nematodos. Aunque los géneros *Eimeria*, *Isospora* y *Cryptosporidium* son de gran importancia veterinaria, cuando se habla de coccidiosis se hace

referencia únicamente a los géneros *Eimeria* e *Isospora*. La ubicación de las coccidias en el tracto gastrointestinal (Figura 9) y el efecto que producen depende de la especie de *Eimeria* (Urquhart et al., 2001, pp. 256).

Localización:	Duodeno	Yeyuno	Ileon	Ciego	Colon	Heces
<i>E. alabamensis</i>			+	+	+	
<i>E. auburnensis</i>		+	+			
<i>E. bovis</i>	+	+	+	+	+	
<i>E. brasiliensis</i>			+			
<i>E. bukindnonensis</i>						
<i>E. canadensis</i>						+
<i>E. cylindrica</i>						+
<i>E. ellipsoidalis</i>	+	+	+			
<i>E. pellita</i>						+
<i>E. subspherica</i>						+
<i>E. wyomingensis</i>						+
<i>E. illinoisensis</i>						+
<i>E. zuernii</i>	+	+	+	+	+	recto
<i>E. bombayensis</i>						+
<i>E. mundaragi</i>						+
<i>E. thianethi</i>						+
<i>E. gokaki</i>					*	+
<i>E. ovoidalis</i>						+
<i>E. bareillyi</i>						+

Figura 9. Localización de coccidias de bovino
Tomado de (Urquhart et al., 2001, pp. 123).

2.7.1. Características

Los protozoos que forman parte de este filo tienen características morfológicas y biológicas en común, lo cual los distingue del resto de grupos. Estas características son:

- Poseen un ciclo biológico metacíclico en el que se observan tres fases que son: fase agamónica en donde se da una multiplicación asexual, fase gamogónica en donde ocurre la deformación de los gametos y se forma el cigoto y por último la fase esporogónica donde se divide el cigoto y se forman esporozoitos los cuales son los encargados de que el parásito pase directa o indirectamente a un nuevo hospedero.
- Son parásitos intracelulares durante las fases de multiplicación asexual.

- Presentan una única organela llamada complejo apical que se encuentra siempre presente en los zoitos para penetrar e infectar la célula y continuar su desarrollo intracitoplasmático (Gállego Berenguer, 2007, pp. 166).

2.7.2. Morfología

En la clase coccidia, reconocer la morfología de los ooquistes es importante para realizar una correcta identificación microscópica (Figura 10). Los ooquistes se identifican según el tamaño y la forma lo cual varía según la especie (Figura 11). Suelen tener formas ovoides, elipsoidales o esféricas. Generalmente los ooquistes poseen una cubierta refráctil y en algunas especies se puede reconocer un poro pequeño en un extremo llamado micrópilo (Urquhart et al., 2001, pp. 257).

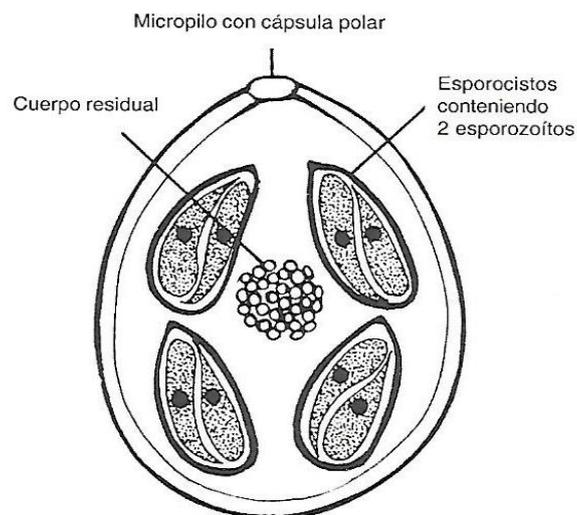


Figura 10. Morfología de un ooquiste esporulado
Tomado de (Urquhart et al., 2001, pp. 259).

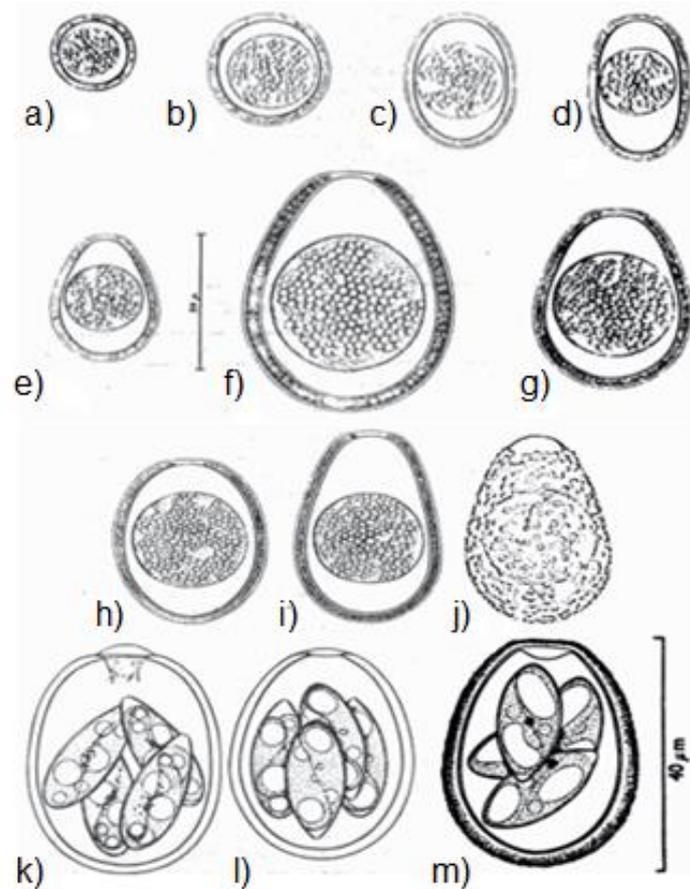


Figura 11. Ooquistes de coccidias de bovino.

Tomado de (Quiroz Romero, 2013, pp. 124)

- a) *Eimeria subspherica*
- b) *E. zuernii*
- c) *E. ellipsoidalis*
- d) *E. cylindrica*
- e) *E. alabamensis*
- f) *E. bukidnonensis*
- g) *E. bovis*
- h) *E. canadensis*
- i) *E. auburnensis*
- j) *E. brasiliensis*

Por otro lado, para una correcta identificación en estadios tisulares, es indispensable reconocer la morfología del zoito.

Los merozoitos y esporozoitos se conocen como zoitos de Apicomplexa (Figura 12), tienen una forma oval alargada con el extremo anterior reducido. Poseen una cara laminar reforzada por microtúbulos los cuales poseen un anillo polar anterior cerca de la región apical y un anillo próximo al extremo posterior. El

complejo apical está formado por un conoide con una pared compuesta de estructuras microfibrilares el cual se encuentra en el anillo anterior. Las robtrias son más de dos organelas en las que la región anterior pasa por el conoide y se extiende hasta el ápice en donde se localizan los micronemas que se distribuyen desde el conoide hasta la mitad del zoito. Además, en el zoito se puede distinguir el retículo endoplasmático rugoso, aparato de Golgi, mitocondrias y el núcleo (Gállego Berenguer, 2007, pp. 166 - 167).

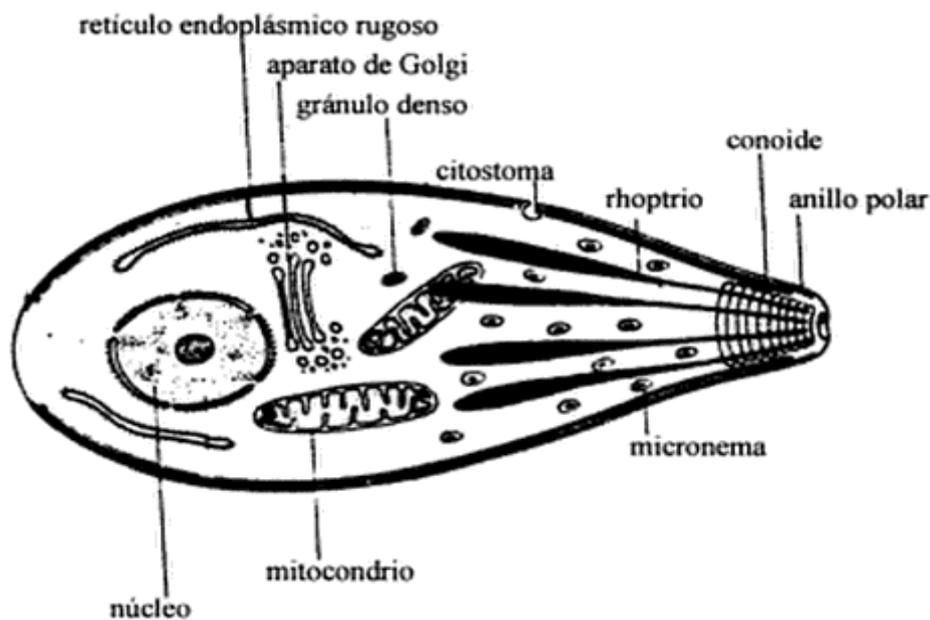


Figura 12. Morfología del zoito de una Apicomplexa. Tomado de (Cruz Reyes & Camargo Camargo, 2001, pp. 97).

La reproducción es asexual, en el que a partir de un cigoto se forma un ooquiste con una pared gruesa que le brinda resistencia al calor y a la desecación (Monge-Nájera, Gómez Figueroa, & Rivas Rossi, 2002, pp. 269).

2.7.3. Clasificación

Clase Gregarinae: Los trofozoitos en estado maduro son de gran tamaño con una forma alargada que se divide en tres partes: epimerito con la cual se fijan al hospedero, protomerito y deutomerito en donde se encuentra el núcleo. Su reproducción es asexual por isogamia. Crecen en el tubo digestivo o cavidades

del huésped, que pueden ser insectos, lombrices de tierra y varios vertebrados inferiores. Ejemplo: *Gregarina* y *Monocystis* (Mille Pagaza et al., 2010, pp. 39)(Figura 13).

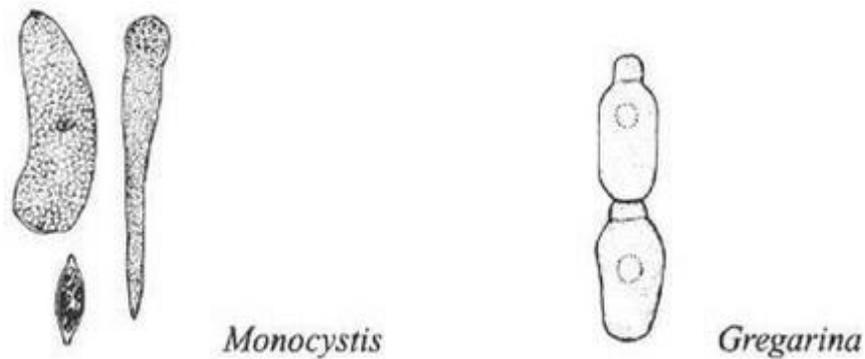


Figura 13. Microorganismos pertenecientes a la clase Gregarina. Tomado de (Mille Pagaza et al., 2010, pp. 40).

Clase Piroplasmae: Son parásitos que se encuentran en los glóbulos rojos de vertebrados y tienen distintas formas: pera, circular y amiboide. Se encuentran rodeados por una sola membrana y los componentes del complejo apical de estos parásitos se encuentran reducidos.

El movimiento de estos parásitos se da mediante flexión del cuerpo debido a que generalmente no presentan pseudópodos para la locomoción, sin embargo en ciertos parásitos se pueden encontrar pseudópodos destinados a la alimentación. Su reproducción es asexual mediante esquizogonia o fisión binaria, no producen pseudoquistes ni esporas. Su vector principal son los ácaros y garrapatas. (Quiroz Romero, 2013, pp. 66) & (Mille Pagaza et al., 2010, pp. 41) (Figura 14). Dentro de la clase Piroplasmae encontramos a las familias *Babesiidae* y *Theileriidae* (Álvarez, 2006, pp.67).



Figura 14. Microorganismos pertenecientes a la clase Piroplasma. Familias Babesiidae y Theileriidae. Tomado de (Mille Pagaza et al., 2010, pp. 41).

Clase Coccidia: La mayoría de las especies pertenecientes a esta clase son polimórficas y no poseen estructuras locomotoras. Presentan un ciclo de vida complejo con alternancia de generaciones que son: merogamia, gametogamia y esporogonia quienes tienen varios hospederos. Algunos de estos parásitos son específicos en cuanto a su hospedero, mientras que otros pueden parasitar a un amplio número de hospederos tanto vertebrados como invertebrados (Mille Pagaza et al., 2010, pp. 40) (Figura 15). Los trofozoitos en estado maduro son intracelulares y pequeños, por ejemplo: *Isospora*, *Emireria*, *Toxoplasma*, *Plasmodium* (Álvarez, 2006, pp. 67).

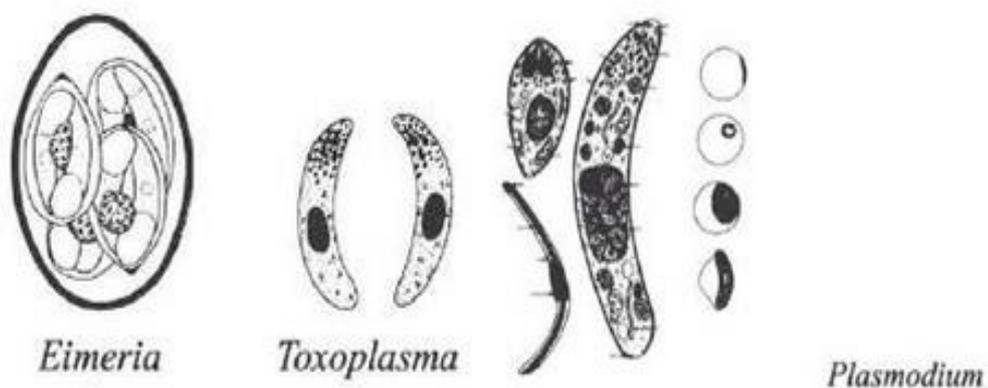


Figura 15. Microorganismos pertenecientes a la clase Coccidia. Tomado de (Mille Pagaza et al., 2010, pp. 40).

2.7.4. Características de las principales especies de coccidias identificadas en bovinos

De las 13 especies de coccidias identificadas en bovinos, las especies más comunes son: *E. ellipsoidalis* y *E. auburnensi*. *E. zuernii* y *E. bovis*. Sin embargo, *E. zuernii* y *E. bovis* (Figura 16) se consideran como las principales especies patógenas en bovinos de todo el mundo (Tamasaukas, Agudo, Leonel, & Vintimilla, 2010, pp.1).

***Eimeria ellipsoidalis*:** los ooquistes tienen forma de elipse o ligeramente ovalada. Con un cuerpo Stiedae la pared es de una sola capa sin presencia de color.

***Eimeria auburnensis*:** los ooquistes tienen forma ovoide con un tamaño de 32 a 46 por 19 a 28 micras. Tienen una pared lisa de color amarillo claro y un micrópilo con un gránulo polar, los esporoquistes presentan cuerpo Stiedae.

***E. zuernii*:** Los ooquistes pueden tener distintas formas: ovoide, subovoide, subesférica o elipsoidal. Miden entre 12 a 29 por 10 a 21 micras. La pared es lisa compuesta por una sola capa descolorida, algunas presentan granulo polar. Los esporoquistes tienen un cuerpo fino con forma Stiedae.

- Ciclo biológico: Los esquizontes invaden el intestino delgado, ciego y colon entre los 2 y 19 días de la infección. Una vez maduros los esquizontes producen entre 20 a 40 merozoitos. Más adelante se produce una reproducción asexual y se forman los macrogametos de los cuales se forman los ooquistes.

***Eimeria bovis*:** Ooquistes con forma ovoide, con un tamaño de 23 a 34 por 17 a 23 micras. La pared presenta dos capas, la pared interna se distingue por tener un color café – amarillento mientras que la pared externa no tiene color. Los esporoquistes tienen cuerpo Stiedae con residuos del esporoquiste.

- Ciclo biológico: Los esporozoitos tienen la capacidad de invadir las células del endotelio del intestino delgado. Los esquizontes maduran entre los 14 y 18 días los cuales contienen miles de merozoitos. En este punto se puede ver fácilmente en la pared del intestino como puntos blancos. La

segunda generación de esquizontes se desarrollan en el ciego y colon donde se produce la reproducción sexual (Quiroz Romero, 2013, pp. 123 - 125).

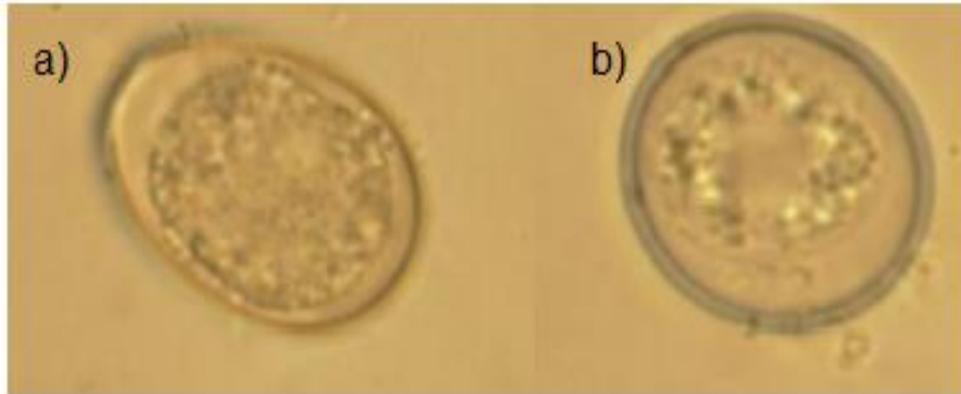


Figura 16. Ooquistes de Eimeria.
Tomado de (Speer & Hammond, 1972, pp. 114).
a) Ooquiste de *Eimeria bovis*.
b) Ooquiste de *Eimeria zuernii*.

2.7.5. Ciclo biológico

Los parásitos del Filo Apicomplexa poseen una reproducción en la cual se alternan fases asexuadas y sexuadas, se desarrollan tres etapas: agamogónica, gamogónica y esporogonia de las cuales las dos últimas comprenden las fases sexuales. Los estadios de la reproducción asexual se conocen como fase agamogónica en la cual el parásito se multiplica y su invasión se extiende por los determinados tejidos del vertebrado (Gállego Berenguer, 2007, pp. 167 - 168).

El ciclo biológico (Figura 17) comienza con la esporulación. En esta fase los ooquistes no esporulados que contienen el protoplasma se liberan al exterior del animal por las heces fecales. En el medio ambiente se liberan los esporoblastos y cada esporoblasto libera un esporocisto mientras que en el protoplasma se forman los esporozoitos, esta etapa toma de 2 a 4 días en condiciones óptimas, al final se forman ooquistes esporulados constituidos por cuatro esporocistos y en cada uno de ellos se encuentran dos esporozoitos. A continuación inicia la reproducción asexual, los ooquistes esporulados ingresan al animal cuando este

ingiere pasto contaminado. Dentro del animal se liberan los esporocistos y de estos se desprenden los esporozoitos los cuales penetran las células epiteliales, adoptan una forma redonda y en este punto se conocen como trofozoitos. Al cabo de unos días los trofozoitos se dividen mediante fisión binaria dando lugar al esquizonte. Una vez que el esquizonte madura, éste y la célula hospedadora se rompen y dejan salir a los merozoítos los cuales invaden a las células vecinas. Finalmente, se da la fase de reproducción sexual. Esta fase comienza con la formación de los gametos femeninos y masculinos a partir del merozoíto, la unión de los gametos da lugar al cigoto conocido como ooquiste, y se repite el ciclo (Urquhart et al., 2001, pp. 257 - 258).

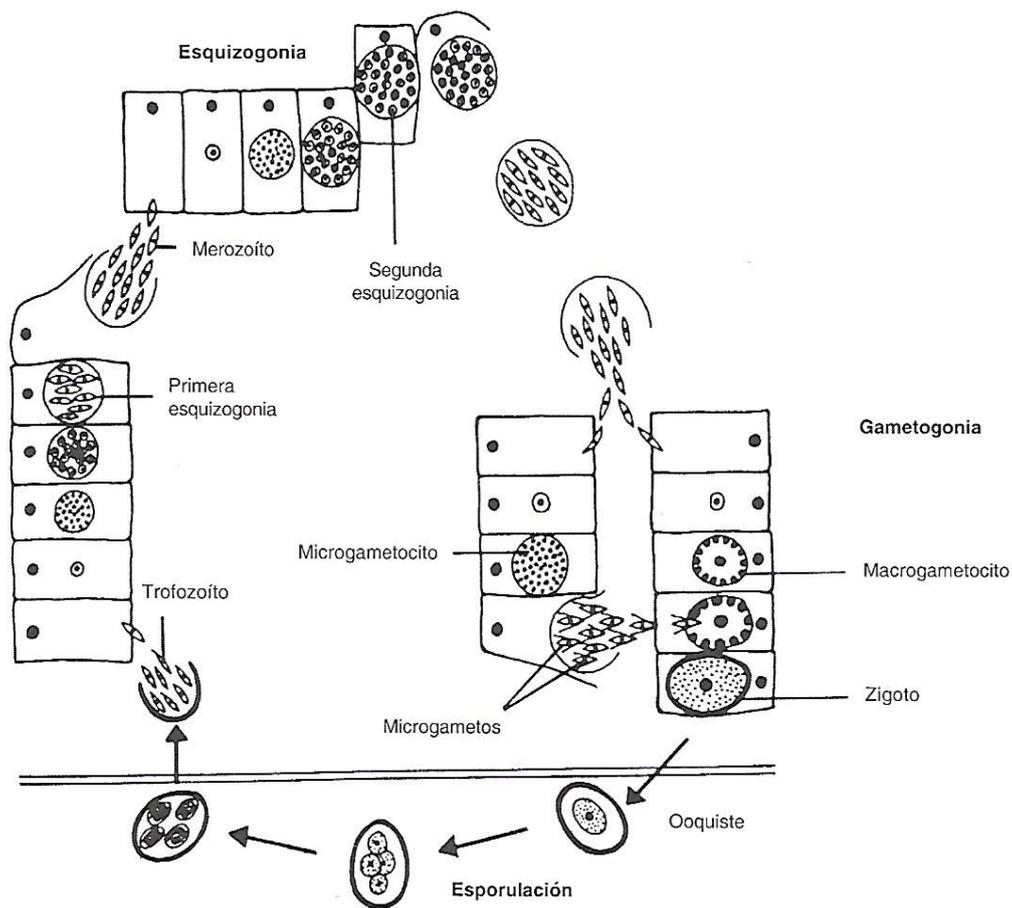


Figura 17. Ciclo biológico de la familia Eimeriidae Tomado de (Urquhart et al., 2001, pp. 258).

2.8. Coccidiosis bovina

Los coccidios son parásitos microscópicos gastrointestinales comunes en los bovinos, que producen la enfermedad conocida como coccidiosis bovina. Esta enfermedad es cosmopolita y se presenta principalmente en el ganado menor a un año de edad, sin embargo también se puede manifestar en animales adultos pero los síntomas clínicos son muy pocos. El desarrollo de la enfermedad depende sobre todo de las condiciones epidemiológicas que faculten la ingestión masiva de ooquistes, como condiciones higiénicas deficientes, exceso de animales en un solo corral y alimento contaminado con el parásito (Urquhart et al., 2001, pp. 263).

Los bovinos son infectados al ingerir alimento contaminado. Los parásitos invaden las células del intestino donde se multiplican y luego migran a otras células, este proceso se repite varias veces para luego salir en la materia fecal. Ya en el suelo los coccidios maduran hasta convertirse en coccidios infectantes, los mismos que causan la enfermedad al ser ingeridos por otro animal. La coccidiosis bovina es causada por especies del género *Eimeria*, (Quiroz Romero, 2013, pp. 125).

2.8.1. Síntomas de la coccidiosis bovina

El síntoma más común es la diarrea que en algunas ocasiones puede estar acompañado de moco y sangre. En los terneros se presenta poca cantidad de materia fecal, prolapso rectal, deshidratación, pérdida de apetito, debilidad, anemia y cuando existen complicaciones puede producirse neumonía (Mateus, 1983, pp. 17 - 18).

Durante los primeros 15-19 días de infección hay presencia de diarrea simple o sanguinolenta con olor fétido y moco además de fiebre y tenesmo, con dificultad para evacuar. Los terneros con cargas parasitarias de 125 000 llegan al estado de moribundos, pero los que tienen de 250 000 en adelante mueren a los 24 – 27 días después de haberse infectado. La anemia puede variar según la cantidad de sangre que haya perdido el animal, en casos graves el animal queda disneico

con debilidad extrema y como consecuencia se presenta la deshidratación y la anorexia (Quiroz Romero, 2013, pp. 127).

Cabe mencionar que el daño causado por coccidias en bovinos depende de distintos factores, como por ejemplo la carga parasitaria, edad del animal o su estado de salud (Quiroz Romero, 2013, pp. 126).

Los principales factores que aumentan la probabilidad de infección por coccidias son la falta de higiene del hábitat de los animales, las especies de coccidias presentes en un determinado entorno, tasa de infección, infecciones continuas y estrés como la sed, cambios en la dieta, ayuno, temperaturas extremas y otras infecciones que aquejen al animal (Pérez - García, Álvarez - Sánchez, Mainar - Jaime, & Rojo - Vázquez, 2002, pp. 2).

2.8.2. Diagnóstico y control de coccidios

El diagnóstico de la coccidiosis bovina se realiza tomando en cuenta los síntomas mencionados y la edad del animal. Existen otras enfermedades que presentan sintomatología similar y se debe reconocer el tipo de organismo parásito infeccioso (Mateus, 1983, pp. 18).

Los síntomas clínicos se presentan aproximadamente 2 días después de que el animal excreta los ooquistes. Mediante exámenes coprológicos se determina la presencia de coccidias y se puede determinar la especie de *Eimeria* que ocasiona la enfermedad (Jiménez, 2005, pp. 53).

Los animales afectados se deben tratar con drogas específicas y además con un tratamiento que alivie los síntomas de anemia, deshidratación y diarrea. Como medida preventiva se deben tratar a los terneros de la misma edad aunque no muestren síntomas (Mateus, 1983, pp. 18).

El control para evitar que los animales contraigan una infección por coccidias es de suma importancia. Para evitar el desarrollo de las coccidias se debe controlar constantemente el entorno en el que se encuentran los animales. Se deben implementar estrategias como mantener secas y limpias las zonas de parto,

cerciorarse que los animales recién nacidos reciban de 3 a 5 litros de calostro durante las primeras 24 horas para asegurar que el animal adquiera inmunidad, los corrales deben limpiarse constantemente, los comederos y bebederos deben mantenerse limpios, desinfectarse periódicamente y mantenerlos lejos de la contaminación con heces fecales, las zonas de pasto deben ser drenadas y no permitir que el agua se empoce, evitar que animales de distintas edades se mezclen, tan pronto como se detecte un animal enfermo se debe separar del resto del hato para que no contagie a otros animales e implementar medidas de tratamiento rápido y adecuado para los animales enfermos (Jiménez, 2005, pp. 53).

Los anticoccidiósicos previenen la enfermedad, sin embargo impiden el desarrollo de la inmunidad. En las épocas donde hay más riesgo de contagio se debe administrar el anticoccidiósico por 2 – 4 semanas. En el ganado es común utilizar fármacos como decoquinato, amprolio, monensina, salinomicina y lasalocid. También es aconsejable administrar los fármacos en periodos críticos como hembras en periparto, primeros meses de vida del animal, entrada a estabulación, etc. (Pérez - García et al., 2002, pp. 6).

2.9. Importancia de las enfermedades parasitarias

Las parasitosis en animales de producción tienen gran importancia económica. La mayoría de las enfermedades parasitarias tienden a ser crónicas por lo que las pérdidas económicas se deben estimar con cuidado. Los bovinos aparentemente normales con cargas bajas o regulares de nematodos gastrointestinales dejan de ganar 30 kg de peso al año. Los animales infestados con *Fasciola hepática* reducen su producción de leche entre el 5 – 40 %. Además, existe una reducción de la fertilidad y para la producción de carne se pierden 35 kg en un año (Quiroz Romero, 2013, pp. 52).

2.10. Control de endoparásitos en general y tratamiento

El concepto “control” en este caso consiste en convivir con un cierto número de parásitos y no la eliminación o erradicación total, debido a que con el conocimiento que se acerca de los parásitos internos de animales domésticos, es imposible erradicarlos por completo (Mateus, 1983, pp. 5).

El control debe verse como un conjunto de medidas en las que se considere todos los componentes del hábitat en el que se encuentran los parásitos. El hábitat o sistema dinámico del que forman parte los parásitos está compuesto por la población animal afectada, el entorno ecológico y el ambiente, el productor en pos de aumentar la producción y los parásitos en la búsqueda de sobrevivir y multiplicarse (Mateus, 1983, pp. 5).

En la mayoría de parasitosis las medidas higiénicas más elementales resultan eficaces. La administración de antiparasitarios constituye una medida importante de los programas sanitarios. En el mercado existe una gran cantidad de fármacos eficaces para formas larvianas y gusanos adultos. Desde el punto de vista profiláctico existen fármacos altamente eficaces en su acción terapéutica contra los huevos de parásitos. Los fármacos que han reportado mejores resultados y por lo tanto los más eficaces en el ganado vacuno son los imidiazotiazoles como el levamisol, probenzimidazoles en la presentación de netobimin y febantel, avermectinas como moxidectina, ivermectina, y doramectina, y benzimidazoles como albendazol y fenbendazol (Pérez - García et al., 2002, pp. 7).

2.11. Métodos de diagnóstico de endoparásitos

2.11.1. Métodos coprológicos

El método de diagnóstico mediante análisis coproparasitario permite determinar la carga parasitaria en cuanto a esporas, quistes, ooquistes, trofozoitos y larvas en muestras fecales y es ampliamente utilizado para determinar la presencia de parásitos gastrointestinales en ganado. Los más utilizados son los métodos de concentración los cuales se fundamentan en el aumento de parásitos en un

volumen determinado de heces (Basso, Venturini, & Risso, 1998, pp. 52 - 56). Los métodos de concentración son:

- Flotación: En el método de flotación se puede encontrar dos variantes; el método propuesto por Willis en 1921 que utiliza una solución sobresaturada de sal (Rodríguez Bataz, 2008, pp. 61), mientras que el método propuesto por Sheather utiliza una solución sobresaturada de azúcar. Sin embargo, el objetivo de ambos métodos es que los parásitos del fondo del recipiente asciendan a la superficie por tener un menor peso en relación a la solución sobresaturada. La selección del método depende del tipo de parásitos que se pretenda identificar (Basso, Venturini, & Risso, 1998, pp. 52 - 56).
- Sedimentación: El método de sedimentación más utilizado es también conocido como el método formol – éter propuesto por Ritchie en 1948. Este método se basa en el uso de líquidos de baja densidad los cuales separan a los parásitos en el fondo del recipiente por ser más densos, el éter permite eliminar restos orgánicos, mientras que el formol mantiene la integridad de los huevos y formas parasitarias (Rodríguez Bataz, 2008, pp. 62).

2.11.2. Métodos Moleculares

2.11.2.1. Extracción de ADN

La extracción de ADN se puede resumir en los siguientes pasos:

Ruptura celular: La obtención de ADN generalmente se puede realizar de todas las células tomando en cuenta la necesidad y facilidad de las mismas. Se pueden usar soluciones detergentes para la extracción de ADN de parásitos y tejidos; así como también enzimas para la extracción de ADN en bacterias.

Eliminación de proteínas: Para eliminar las proteínas se pueden usar varias enzimas proteolíticas. La más usada por no necesitar de autodigestión es la proteinasa K, sin embargo tiene la desventaja de ser más costosa. La proteína K trabaja a 37 °C, a una concentración de 0.5 mg/mL

Eliminación de ARN: Una vez que se han liberado los ácidos nucleicos y digerido las proteínas con las proteasas, el ARN puede ser removido con el uso de ribonucleasas (RNAsas). La RNAasa se activa a una temperatura de 50 °C a concentraciones de 100 mg/mL y debe ser llevada a incubación por 1 hora.

Extracción de proteínas: Para eliminar las proteínas de las muestras se utiliza solventes orgánicos como el fenol en relación 1:1 (v/v) con la muestra que se requiere limpiar. Se recomienda realizar una extracción con fenol, seguida de una extracción de fenol:cloroformo (1:1) y para finalizar una extracción con cloroformo para limpiar las trazas de fenol.

Precipitación del ADN: Para concentrar el ADN se pueden usar varias sales de acetato de sodio y potasio. Posteriormente se precipita con etanol, por ser volátil, e incuba a -20 °C de 15 a 30 min, para finalizar se resuspende en el buffer o amortiguador para mantener constante el pH y se cuantifica el ADN (Zavala Castro, 2005, pp. 31) & (Walker & Rapley, 2008, pp. 22- 26).

2.11.2.2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La PCR es la principal herramienta diagnóstica que utiliza la biología molecular y que permite obtener millones de copias de ADN a partir de una secuencia blanco de interés. La reacción se lleva a cabo en pocas horas y ciclos, la cual tiene varios parámetros. Se necesita estrictamente una muestra de ADN molde para la amplificación, reactivos entre los cuales tenemos cebadores conocidos u oligonucleótidos, ADN polimerasa, desoxirribonucleósidos trifosfato (dNTPs), agua usada como solvente y adicionalmente solución amortiguadora para estabilizar la reacción (Villegas, Sánchez, & Chuaire, 2009, pp. 348).

Se necesitan 3 pasos llamados desnaturalización, alineamiento y extensión que se deben repetir por cada ciclo de la PCR. El primer paso es la desnaturalización para que las dos cadenas del ADN molde se separen, proceso que ocurre a una temperatura entre los 94 – 96 °C por lo menos durante 1 minuto. En la segunda etapa llamada alineamiento o hibridación de los cebadores con las secuencias complementarias del molde de ADN delimitan el sitio que se busca amplificar a

una temperatura que oscila entre los 50 – 65 °C. La última fase de reacción denominada extensión consta en sintetizar las nuevas hebras de ADN mediante la ADN polimerasa, la cual incorpora aproximadamente 100 nucleótidos por segundo a una temperatura entre los 70 – 72 °C (Villegas et al., 2009, pp. 348) & (Bolívar, Rojas, & García, 2014, pp. 25 - 26).

2.11.2.3. Gen ribosomal 18S

Los genes ribosomales como el 18S, 28S, 5.8S son los encargados de codificar para el ARNr que junto con las proteínas celulares eucariotas conforman el ribosoma el cual es el responsable de traducir el ARN mensajero para dar origen a proteínas celulares (Jiménez & Merchant, 2003, pp. 164).

El gen 18S rRNA ha sido usado para establecer relaciones filogenéticas entre organismos del grupo coccidios del filo Apicomplexa. Además se ha empleado para identificar géneros de *Cryptosporidium* spp, *Eimeria* spp y *Cyclospora* spp. (Duszynski & Morrow, 2014, pp. 169).

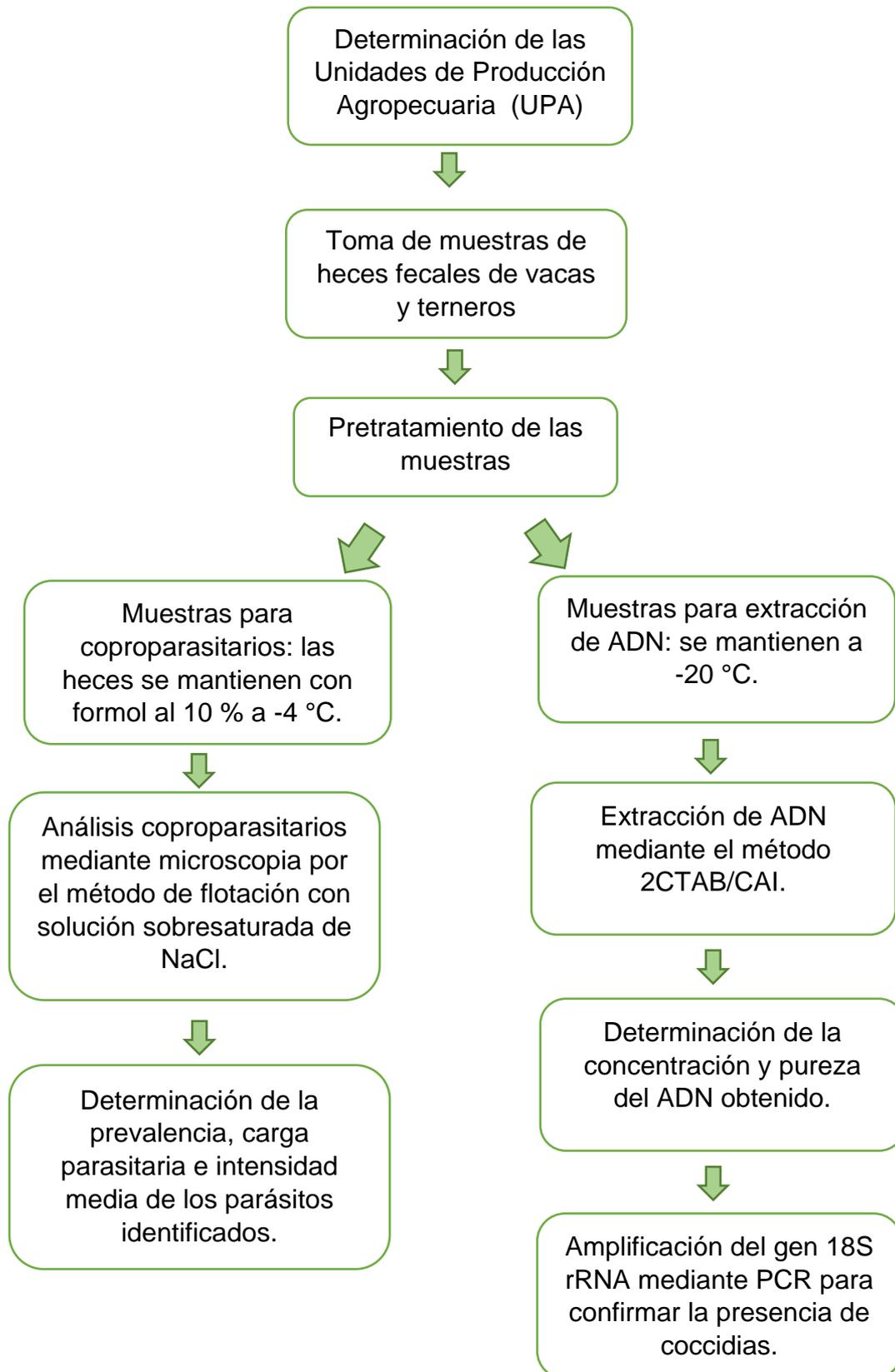
CAPÍTULO III. DISEÑO DEL PLAN EXPERIMENTAL

Figura 18. Diagrama de flujo de la metodología

CAPÍTULO IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Población y muestra

4.1.1. Diseño del estudio

Es un estudio de corte transversal realizado en la población de ganado bovino de la isla Santa Cruz en el Archipiélago de Galápagos.

Se tomó 326 muestras de heces fecales de bovinos adultos y terneros de un total de 63 unidades de producción agropecuaria (UPA). Durante el muestreo se realizó una encuesta a los dueños de las fincas en donde se recolectaron datos sobre el sector al que pertenece la finca, raza del animal, sexo, edad y antecedentes de desparasitación (Anexo 1).

4.1.2. Tamaño de la muestra

Se determinó el número de fincas a muestrear, mediante la fórmula descrita por Martínez-González, Sánchez-Villegas, Toledo Atucha, & Faulín (2014, pp. 201).

$$n = \frac{\sigma^2}{\frac{E^2}{\frac{Z_2}{2^2}} + \frac{\sigma^2}{N}}$$

(Ecuación 1)

Donde:

$$\sigma = 0.5 \quad E = 0.087$$

$$\frac{Z_2}{2^2} = 1.96$$

Entonces:

$$n = \frac{(0.5)^2}{\frac{(0.087)^2}{(1.96)^2} + \frac{(0.5)^2}{124}}$$

$$n = 63$$

4.1.3. Área de estudio

La isla Santa Cruz es la isla más habitada del Archipiélago de Galápagos. Al ser la isla con mayor actividad económica cuenta con un gran número de predios dedicados a la ganadería y agricultura. Posee un área de 987 km² y una altitud máxima de 864 msnm. Entre septiembre y octubre del 2017 se visitaron 63 propiedades en isla Santa Cruz (Figura 19). De cada finca se muestreo el 10 % del total de animales, en total se recolectaron 326 muestras de heces fecales de bovinos adultos y terneros. Las UPA se clasifican entre medianas (25 – 250 animales) y pequeñas (menos de 25 animales). Las fincas se encuentran localizadas en 9 sectores que son: El occidente, El Carmen, Salasaca, Camote, Santa Rosa, Bellavista, Guayabillas, Cascajo y Media luna. Además, se tomaron muestras de 2 fincas en las que no estaba definido el sector (tabla 2).

Tabla 2.

Distribución de fincas por sectores de las zonas ganaderas de la isla Santa Cruz.

Sector	Número de fincas
El Occidente	6
El Carmen	15
Salasaca	13
Camote	10
Santa Rosa	10
Bellavista	1
Guayabillas	2
Cascajo	3
Media luna	1
No definido	2



Figura 19. Isla Santa Cruz en el Archipiélago de Galápagos.

4.2. METODOS

4.2.1. Toma de muestra

La toma de muestras de heces fecales se realizó en base al Instructivo INT/DA/019 Toma y envío de muestras en animales domésticos (Agrocalidad, 2016, pp. 18), en donde se indica que para realizar exámenes coprológicos se deben tomar de 1 a 4 gramos de muestra y mantenerlas en refrigeración (no congelar) para realizar los análisis máximo hasta 24 horas después de la toma de la muestra.

La técnica consiste en tomar la muestra directamente del recto del animal. El encargado de tomar la muestra debe colocarse guantes y con una bolsa plástica debe introducir primero un dedo, debe estimular al animal e introducir otro dedo (índice y medio), durante este proceso el bovino defecará y la muestra se toma directamente en la bolsa plástica.

4.2.2. Pretratamiento para el procesamiento de las muestras

Una vez tomadas las muestras de heces fecales, cada muestra se dividió en 2 tubos de ensayo. En el primer tubo se colocaron aproximadamente 5 gramos de heces y se añadió formol al 10 % en una relación (3:1) y se mantuvo a -4°C para

realizar los análisis coproparasitarios. El segundo tubo de ensayo con heces se congeló a -20 °C para la extracción de ADN y análisis moleculares.

4.2.3. Identificación de parásitos gastrointestinales por microscopía

La identificación de los parásitos gastrointestinales se realizó mediante un análisis coproparasitario utilizando la técnica de flotación de Koffoyd & Barber con modificaciones, para lo cual se utilizó una solución sobresaturada de NaCl (300 g de NaCl en 1 L de agua destilada).

Se pesó 4 g de heces en un vaso plástico de 2 onzas y se añadió solución sobresaturada de sal hasta obtener una consistencia homogénea. Se filtró con una gasa por aproximadamente 5 a 10 minutos, posteriormente se colocó el filtrado en un tubo de ensayo de 10 mL donde se aforó hasta el borde del tubo con más solución sobresaturada de sal hasta conseguir la formación de un menisco sobre el cual se colocó un cubreobjetos. Se esperó de 15 – 30 minutos y finalmente se puso el cubreobjetos sobre un portaobjetos para observar en el microscopio a 10 X y 40 X.

4.3. Análisis estadístico para determinar el grado de infección

4.3.1. Determinación de la prevalencia de especies de parásitos gastrointestinales encontrados en bovinos de la isla Santa Cruz.

Para determinar la prevalencia de los parásitos se estableció el número de hospedadores infestados por una especie parásita, dividido por el número total de hospedadores examinados (Ecuación 2) (Martínez-González et al., 2014). Este valor se expresa como porcentaje.

$$Prevalencia (\%) = \frac{N^{\circ} \text{ de hospedadores infestados}}{N^{\circ} \text{ total de hospedadores examinados}} \times 100$$

(Ecuación 2)

4.3.2. Determinación de la carga parasitaria de las distintas especies observadas

Para establecer el grado de infección, se determinó la carga parasitaria de cada especie presente en las muestras fecales tanto de bovinos adultos como de terneros, mediante la fórmula descrita por Margolis, Esch, Holmes, Kuris, & Schad (1982, pp. 131) (Ecuación 3) en donde el resultado se expresa como huevos por gramo de muestra (hpg):

$$carga\ parasitaria = \frac{número\ de\ huevos\ de\ parásito \times 10}{gramos\ de\ muestra}$$

(Ecuación 3)

Para determinar la carga parasitaria se establecieron 3 grados de infestación: + corresponde al conteo de 1 – 5 huevos de parásitos, ++ indica la presencia de 6 – 10 huevos de parásitos y +++ indica el conteo de 11 o más huevos de parásitos.

4.4. Identificación de parásitos gastrointestinales por métodos moleculares

4.4.1. Extracción de ADN

Para la extracción de ADN de muestras fecales, se utilizó el método 2CTAB/CAI descrito por Quinga Socasi (2012).

Se pesaron 2 g de heces y se mezcló con 10 mL de PBS (NaCl 150 mM, Na₂HPO₄ 10mM, NaH₂PO₄ 20 mM. pH 7.4). Se tomó 600 µL de la mezcla (solución 1) y se colocó en un microtubo de 2 mL. Posteriormente se centrifugó a 10 000 rpm por 5 minutos y se descartó el sobrenadante. Se repitió este procedimiento en el mismo tubo 3 veces más. Se almacenó el tubo a -4 °C por tres días.

Una vez transcurrido el lapso de tres días se homogenizó en vórtex, se centrifugó a 10 000 rpm por 5 minutos y se descartó el sobrenadante. Se añadió 1 mL de buffer de lisis 1 (CTAB 2 %, Tris – HCl 100 mM, EDTA 20 mM, NaCl 1.4 M. pH 7.5) más 20 µL de proteinasa K, se agitó en vórtex y se incubó a 60 °C por 2

horas. Luego se volvió a incubar a 95 °C por 15 minutos y seguidamente se centrifugó a 10 000 rpm por 10 minutos.

Se colocó el sobrenadante en un nuevo microtubo de 2 mL, se añadió 700 µL de cloroformo/alcohol isoamílico (24:1) y se homogenizó por 30 minutos en un agitador orbital. Enseguida se centrifugó a 10 000 rpm por 15 minutos, se colocó el sobrenadante en un nuevo microtubo de 2 mL y se añadió 100 µL de buffer de lisis 2 (CTAB 10 %, NaCl 0.5 M. pH 5.5). Se incubó a 60 °C por 30 minutos, se agregó 10 µL de RNasa y se volvió a incubar a 37 °C por 1 hora.

Se añadió 700 µL de cloroformo/alcohol isoamílico (24:1) y se homogenizó en un agitador orbital por 30 minutos, seguidamente se centrifugó a 10 000 rpm por 15 minutos y se transfirió el sobrenadante a un nuevo microtubo de 2 mL, se agregó 1 mL de etanol absoluto frío y se dejó reposar a -20 °C por 19 horas. Una vez transcurrido este lapso de tiempo, se centrifugó a 10 000 rpm por 15 minutos, se descartó el sobrenadante y se adicionó 500 µL de etanol al 70 % frío. Se volvió a centrifugar a 10 000 rpm por 15 minutos y se volvió a añadir etanol al 70 % frío, se descartó el sobrenadante y se dejó reposar los tubos por 15 minutos boca abajo para eliminar los restos de etanol. Finalmente se resuspendió el pellet en 50 µL de buffer TE (Tris – HCl 10 mM, EDTA 1mM. pH 8) y se incubó a 67 °C por 30 minutos. El ADN obtenido se almacenó a -80 °C.

La concentración y pureza del ADN obtenido se determinó en un NanoDrop™ 2000 (Thermo Fisher Scientific, USA) mediante espectrofotometría UV – visible con una absorbancia de 260 y 280 nm. La pureza se determinó con la relación 260/280 con rangos óptimos de 1.8 a 2. Para determinar la calidad del ADN se realizó una electroforesis en un gel de agarosa al 0.8 % con SYBER® Safe DNA (Thermo Fisher Scientific, USA) y BlueJuice Gel Loading Buffer (10X) (Thermo Fisher Scientific, USA). La electroforesis se realizó por 40 minutos a 120 voltios y el resultado de las bandas se observó en un Fotodocumentador Chemidoc™ MP (Bio – RAD, USA).

4.4.2. Amplificación del gen 18S rRNA para determinar la presencia de coccidias

Para realizar la PCR se utilizó el protocolo de Chapman et al. (2016) con modificaciones de Sevillano Mera (2017). Los cebadores utilizados consisten en un cebador eucariota genérico hacia adelante (*Forward*, 3F) y un cebador inverso específico para apicomplexas (*Reverse*, Api1R) (Saffo, McCoy, Rieken, & Slamovits, 2010) (Tabla 3).

Tabla 3.

Cebadores usados para amplificar el gen 18S rRNA de Apicomplexas con un tamaño de 1300 pb.

Cebadores	Secuencia 5'- 3'	Tamaño del fragmento
3F	GTT CGA TTC CGG AGA GGG A	1300 pb
Api1R	TAA TCT ATC ATC CCC ACG ATG C	

Tomado de Sevillano Mera (2017).

Para la reacción se llegó a un volumen total de 25 μ L (tabla 4), el cual contiene 5X Colorless GoTaq® Reaction Buffer (Promega, USA), 0.8 μ M de dNTPs, 1.5 mM de $MgCl_2$ (Promega, USA), 1.25 U/ μ L de enzima GoTaq® Polymerase (Promega, USA) y finalmente 1 μ M de cada cebador; el volumen final se completó con agua. Como control positivo se utilizó ADN obtenido de bovinos del IASA I de la Universidad de Las Fuerzas Armadas, ESPE, que resultaron positivas para coccidias mediante microscopia y PCR.

Tabla 4.

Concentraciones de reactivos usados para la PCR de coccidias con los cebadores 3F y Api1R.

Reactivos	Unidad	Stock	Concentración Final	Volumen (µL)	Volumen mezcla
H2O	µL	N/A		11.75	11.75
Buffer	X	5.00	1.00	5.00	5.00
3F	µM	10.00	1.00	2.50	2.50
Api1R	µM	10.00	1.00	2.50	2.50
Cl2Mg	mM	25.00	1.50	1.50	1.50
dNTPs	µM	40.00	0.80	0.50	0.50
Taq	U/µL	5.00	1.25	0.25	0.25
ADN	Ngr		100	1	1.00
		Total		25.00	25

Tomado de Sevillano Mera (2017).

El programa utilizado para amplificar el gen 18S rRNA fue el estandarizado por Sevillano Mera (2017) (Tabla 5) a partir del programa descrito por Chapman et al. (2016), sin embargo para el presente proyecto se realizaron modificaciones en la temperatura de alineamiento con el fin de eliminar bandas inespecíficas. Se realizó un primer gradiente de temperatura a 56 °C, 57 °C, 58 °C, 59 °C, 61 °C y 63 °C en un termociclador TECHNE TC – 512 (Bibby Scientific, USA) y se redujo el número de ciclos a 35; sin embargo al observar los resultados se realizó un segundo gradiente de temperatura a 60 °C, 61 °C, 62 °C, 63 °C, 64 °C y 65 °C.

Tabla 5.

Programa de amplificación del gen 18S rRNA estandarizado.

Proceso	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización Inicial	94 °C	5'	1
Desnaturalización	94 °C	30''	40
Alineamiento	57 °C	30''	40
Extensión	72 °C	2'	40
Extensión Final	72 °C	10'	1
Mantenimiento	4 °C	∞	1

Tomado de Sevillano Mera (2017).

4.4.3. Observación de productos de PCR

La PCR se realizó en un termociclador TECHNE TC – 512 (Bibby Scientific, USA). Con los productos de PCR se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1 % utilizando SYBER ® Safe DNA (Thermo Fisher Scientific, USA) y BlueJuice Gel Loading Buffer (10X) (Thermo Fisher Scientific, USA), utilizando un marcador de peso molecular TrackIt™ 100 bp DNA Ladder (Invitrogen – USA) y las bandas se observaron en un Fotodocumentador Chemidoc™ MP (Bio – RAD, USA).

CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los meses de septiembre y octubre del 2017 se tomaron muestras fecales de 326 bovinos provenientes de distintos sectores ganaderos de la isla Santa Cruz en el Archipiélago de Galápagos. Para determinar la presencia de parásitos gastrointestinales se realizaron análisis coproparasitarios utilizando el método de flotación con una solución sobresaturada de cloruro de sodio y finalmente mediante PCR se pudo confirmar la presencia de parásitos del Filo Apicomplexa en el tracto gastrointestinal de bovinos de la isla Santa Cruz.

5.1. Identificación de parásitos gastrointestinales mediante microscopía

Los análisis coproparasitarios realizados mediante el método de flotación con una solución sobresaturada de NaCl permitieron identificar parásitos gastrointestinales pertenecientes al Filo Nematoda, Filo Platyhelminthes, Filo Apicomplexa y al Filo Metamonada. Todos los géneros identificados se clasificaron según al Filo al que pertenecen, como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6.

Parásitos gastrointestinales identificados en bovinos de la isla Santa Cruz – Galápagos.

Filo	Clase	Género
Filo Nematoda	Clase Adenophorea	<i>Trichuris</i> spp. <i>Capillaria</i> spp.
	Clase Secernentea	<i>Toxocara</i> spp. <i>Strongiloides</i> spp. <i>Cooperia</i> spp. <i>Haemonchus</i> spp. <i>Trichostrongylus</i> spp. <i>Ostertagia</i> spp. <i>Bunostomum</i> spp. <i>Oesophagostomum</i> spp.
Filo Platyhelminthes	Clase Trematoda	<i>Schistosoma</i> spp. <i>Paramphistomum</i> spp. <i>Dicrocoelium</i> spp.
	Clase Cestoda	<i>Moniezia</i> spp.
Filo Apicomplexa	Clase Conoidasida	<i>Eimeria</i> spp.
Filo Metamonada	Clase Eopharyngia	<i>Giardia</i> spp.

El examen microscópico de heces mediante el método de flotación permitió realizar un diagnóstico etiológico de diversas infecciones causadas por parásitos, por lo que para realizar dichos análisis es conveniente utilizar técnicas de enriquecimiento, ya sea con sacarosa o sales como cloruro de sodio (NaCl)

o sulfato de zinc ($ZnSO_4$). El uso de esta técnica presenta beneficios, además de ser muy eficiente y rápida, también es técnica de bajo costo (Basso, Venturini, & Risso, 1998, pp. 52-56).

En el presente proyecto de investigación se utilizó una solución sobresaturada de cloruro de sodio, la cual permitió identificar varios huevos de parásitos de distintos géneros. Algunos autores concluyen que el uso de soluciones compuestas por sales son las más adecuadas para identificar *Giardia* sp., y los nematodos más comunes en especies domésticas (Rishniw, Liotta, Bellosa, Bowman, & Simpson, 2010, pp. 293 - 297). Los métodos de flotación fecal resultan adecuados para separar parásitos en sus distintos estadios: huevo, ooquistes, quistes y larvas basándose en sus diferentes densidades. El método con solución salina propuesto por Koffoyd y Barber es muy común para diagnósticos veterinarios debido a que permite obtener buenos resultados, es fácil de preparar y la solución salina se puede conservar por un largo tiempo. Este método se utiliza sobre todo para observar nematodos, protozoarios y algunos cestodos y trematodos (Sixtos, 2013, pp. 6).

Cardona & Bedoya (2013, pp. 264) determinaron que mediante el uso de una solución salina sobresaturada es posible observar amebas, protozoarios y varios huevos de helmintos. Además al ser un método directo permite obtener una alta frecuencia de observación de parásitos y un alto desempeño.

Se identificaron huevos de distintos géneros de nematodos, trematodos, cestodos y protozoarios.

Entre los factores que inciden en la productividad de la ganadería mundial, las enfermedades parasitarias ocupan el primer lugar. Estas constituyen un alto índice de morbilidad con efectos negativos sobre la salud de los animales por lo que ocupan un lugar importante sobre muchas otras enfermedades (Soulsby, 1987, pp. 73).

El parasitismo gastrointestinal produce también desórdenes en el metabolismo de minerales, por lo que se reduce la absorción de magnesio, calcio y fósforo. La incorrecta absorción de dichos minerales conlleva a una reducción en el

crecimiento óseo de los animales jóvenes. Lo que produce pérdidas económicas ya que esto interfiere en la capacidad de producción de carne y leche. Por esta razón, es sumamente importante mantener condiciones de higiene y alimentación adecuada para el ganado, de esta forma se evita que los animales contraigan parasitosis gastrointestinales que afecten a toda la producción (Gómez, 2000, pp. 4).

Los parásitos internos, principalmente los helmintos (nematodos, trematodos y cestodos), son patógenos comunes en la industria ganadera y tienen un impacto sustancial en la economía de la producción de ganado en todo el mundo. Los helmintos pueden reducir el rendimiento reproductivo del ganado, reducir el peso del destete y en general afectar negativamente la salud de los animales. Estos impactos negativos se deben a los efectos destructivos directamente sobre los tejidos del huésped; respuestas indirectas, tales como supresión de las respuestas inmunitarias del huésped o la pérdida de apetito (Stromberg & Gasbarre, 2006, pp. 543 - 544).

5.1.1. Nematodos

Los nematodos se consideran como el grupo con el mayor número de especies que parasitan el ganado, ocasionando pérdida de peso y anemia en el animal, sin embargo existen algunas especies de nematodos gastrointestinales y pulmonares que resultan graves si su carga parasitaria es elevada como por ejemplo: *Ostertagia* sp., *Haemonchus* sp., y *Dictyocaulus viviparus* (Soca, Roque, & Soca, 2005, pp. 176).

En los bovinos de la isla Santa Cruz en Galápagos, se encontraron nematodos de distintos géneros: *Trichuris* sp., *Toxocara* sp., *Strongiloides* sp., *Cooperia* sp., *Haemonchus* sp., *Trichostrongylus* sp., *Ostertagia* sp., *Bunostomum* sp., *Oesophagostomum* sp., y *Capillaria* sp. (Figura 20).

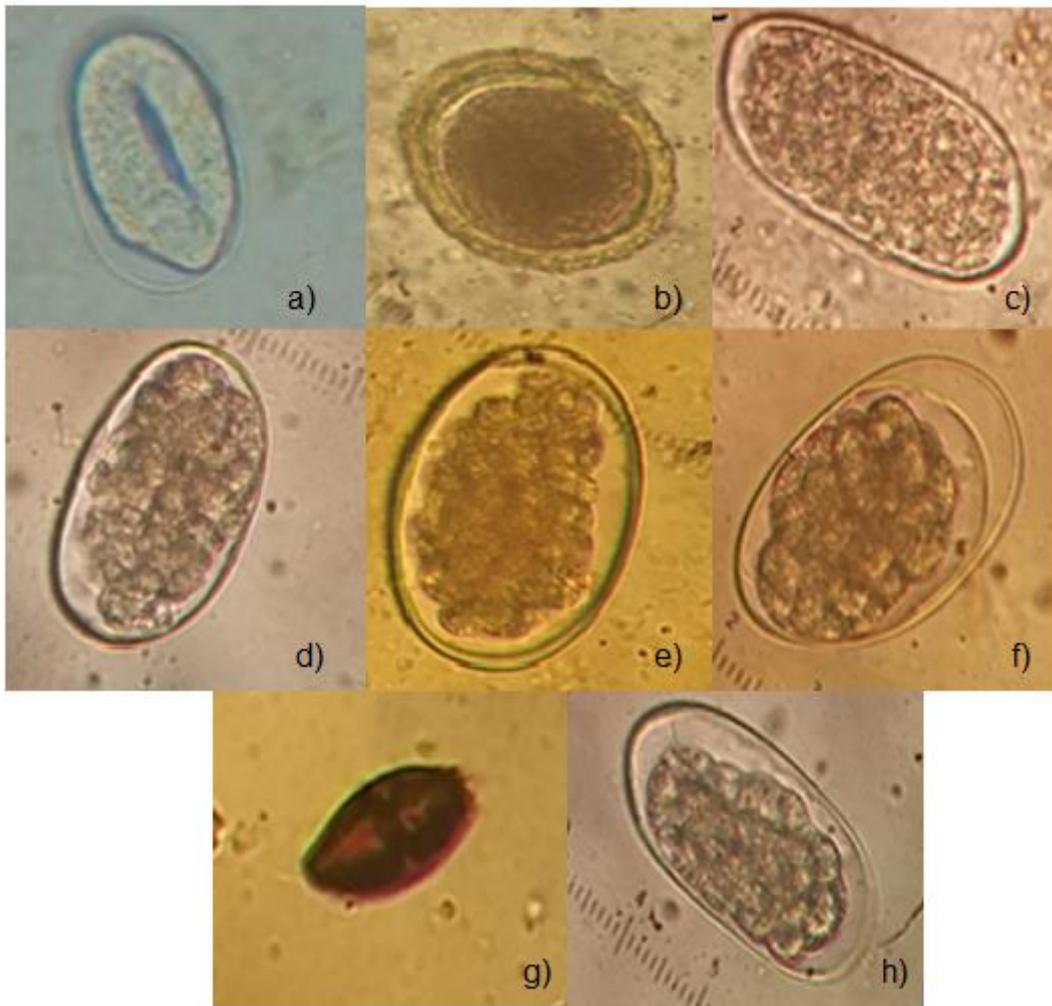


Figura 20. Nematodos identificados en muestras de heces fecales de bovinos de la isla Santa Cruz – Galápagos.

- a) *Strongiloides* sp.
- b) *Toxocara* sp.
- c) *Ostertagia* sp.
- d) *Cooperia* sp.
- e) *Bunostomum* sp.
- f) *Haemonchus* sp.
- g) *Trichuris* sp.
- h) *Trichostrongylus* sp.

Los géneros de nematodos que afectan en mayor medida al ganado a nivel mundial son: *Haemonchus*, *Mecistocirrus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Nematodirus*, *Bunostomum*, *Strongyloides*, *Oesophostomum*, *Chabertia*, *Agriostomum* y *Trichuris*. De estos, *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Ostertagia* y *Oesophagostomum* se consideran los parásitos más

importantes en los bovinos desde el punto de vista epidemiológico y patológico debido a que se encuentran distribuidos en las zonas geológicas más diversas del mundo (Soca et al., 2005, pp. 176).

En el Ecuador, Soria & Rodríguez (2017, pp. 82) determinaron la presencia de parásitos gastrointestinales en distintas parroquias de la provincia de Pichincha, identificaron con una alta frecuencia parásitos de los géneros: *Trichostrongylus* spp., *Haemonchus* sp., *Cooperia* spp., *Oesophagostomum* spp. y *Ostertagia* spp., y en una menor frecuencia *Bunostomum* sp. *Trichuris* spp. *Nematodirus* spp., y *Ascaris* spp. Según los autores, los huevos de nematodos desarrollan su estado infectivo en condiciones favorables como: baja intensidad de rayos solares, presencia de humedad, temperaturas entre los 15 a 20 °C en predios cubiertos por abundante vegetación y con presencia de animales infectados, los cuales completan el ciclo del parásito. Las zonas de estudio en los distintos sectores de Galápagos se prestan para el desarrollo de dichos parásitos, uno de los periodos más frescos con cielos nublados la mayor parte del tiempo, con vientos que vienen desde el sur es la época de junio a diciembre en donde la temperatura varía entre los 17 y 20 °C (Galapagos Conservancy, 2017).

5.1.2. Trematodos

Además de nematodos, también se identificaron otros helmintos como trematodos de los géneros: *Schistosoma* spp., *Paramphistomum* spp. y *Dicrocoelium* spp., (Figura 21).



Figura 21. Trematodo del género *Paramphistomum* spp., identificado en bovinos de la isla Santa Cruz.

En el Ecuador la Schistomiasis no ha sido muy estudiada en el ganado bovino, sin embargo Cruz & Tinoco (2008, pp. 54 - 60) han corroborado la presencia de *Schistosoma* sp en el país. Ambos autores determinaron que las temperaturas elevadas juegan un papel importante para la infestación, debido a que *Schistosoma* se considera un parásito exclusivo de las zonas tropicales. En este mismo estudio, se determinó la presencia de *Dicrocoelium*, y se concluyó que su infestación aumenta en épocas de verano a altas temperaturas. Tanto *Schistosoma* como *Dicrocoelium* y *Paramphistomum* presentan un vector intermediario el cual es el caracol *Helicidae* o caracol de jardín común, dicho vector se encuentra distribuido en todo el mundo incluidas las islas Galápagos en donde se pueden encontrar 18 especies endémicas de caracoles y otras especies introducidas (Rodríguez Rojas, 1993, pp. 44).

5.1.3. Cestodos

Se identificaron cestodos del género *Moniezia* spp., en las muestras de heces fecales de bovinos (Figura 22).



Figura 22. Cestodo del género *Moniezia* spp., identificado en muestras de heces fecales de bovinos de la isla Santa Cruz.

Moniezia sp., es un cestodo que produce problemas digestivos como diarrea, conversión alimenticia deficiente y retardo en el crecimiento del animal. *Moniezia expansa* y *Moniezia benedeni* son las especies que se encuentran con mayor frecuencia en el tracto gastrointestinal de ovinos, caprinos bovinos además de camellos y otros rumiantes en todo el mundo con variaciones de prevalencia según la región, existen zonas endémicas en donde la prevalencia supera el 50 % de animales infectados. Otras especies como por ejemplo *Avitellina centripunctata* y *Thysaniezia ovilla* han sido reportadas únicamente en ovinos y caprinos de África. Las infecciones con cestodos producen lesiones principalmente en animales jóvenes presentándose inflamación del intestino delgado, enteritis y hemorragias (Quiroz, Figueroa, Ibarra, & López, 2011).

A diferencia de los trematodos, los cestodos poseen otro hospedero intermediario, los cuales son distintas especies de ácaros oribatidos que habitan en los pastos, y los hospederos definitivos son los bovinos, ovinos o caprinos que se alimentan de los pastos o forrajes infestados con el ácaro e inmediatamente contraen una parasitosis por cestodos (Quiroz Romero, 2013).

5.1.4. Protozoarios

Se identificaron protozoarios del género *Eimeria* spp. (Figura 23) y *Giardia* spp., presentes en las muestras fecales de bovinos de la isla Santa Cruz – Galápagos.



Figura 23. Ooquistes del género *Eimeria* sp., identificados en bovinos de la isla Santa Cruz.

Dentro del Filo Apicomplexa se encuentra la subclase Coccidiasina a la cual pertenecen los coccidios. Estos parásitos afectan principalmente a los vertebrados y se consideran de gran interés veterinario. Como parte de este filo, las familias Eimeriidae y Sarcocystidae se consideran las más patógenas por sus efectos en los animales domésticos (Urquhart, Armour, Duncan, Dunn, & Jennings, 2001, pp. 256).

En la familia Eimeriidae se encuentran los géneros *Eimeria*, *Isospora* y *Cryptosporidium* con mayor importancia veterinaria debido a que infestan a animales de producción como el ganado bovino, ovino, caprino y porcino además de aves y caballos. Las coccidias se localizan en las células epiteliales del intestino pero existen especies que pueden afectar el hígado y los riñones. De las 13 especies de coccidias identificadas *Eimeria zuernii* y *Eimeria bovis* se consideran las más patógenas. Ambas Eimerias se alojan en el ciego y el colon. *Eimeria zuernii* causa disentería hemorrágica y contracciones violentas y dolorosas del recto, por otro lado *Eimeria bovis* provoca diarrea y enteritis grave (Urquhart et al., 2001).

Según Quiroz Romero (2013, pp. 120) los ooquistes de coccidias presentan forma oval, elipsoidal, esférica y subesférica en los cuales la pared está

conformada por dos capas limitadas por una membrana. En base a este criterio se identificaron las coccidias que se observan en la figura 4.

La distribución de las coccidias es mundial y su presencia en los animales domésticos ocasiona grandes pérdidas económicas (Quiroz Romero, 2013, pp. 120). En Canadá por ejemplo, se considera que la coccidiosis es una enfermedad común que afecta al ganado en todo el país y se ha encontrado en un 25 – 50 % de animales en donde la mortalidad aumenta si se presenta sintomatología nerviosa (Radostits & Stockdale, 1980).

En Centroamérica, se determinó que anualmente se pierden aproximadamente 4.4 millones de litros de leche y 48 millones de kilogramos de carne debido a parasitosis gastrointestinales en bovinos, ocupando los primeros lugares parásitos del género *Eimeria*. Se comprobó que en climas tropicales la parasitosis se da sobre todo por protozoarios, nematodos y cestodos (Domínguez, Rodríguez, & Honhold, 1993, pp. 190 - 192). Galápagos se encuentra en un clima netamente tropical, debido a se ubica sobre el paralelo 0°, y presenta distintos niveles ecológicos con temperaturas altas o templadas (Rodríguez Rojas, 1993, pp. 29). Por esta razón, los parásitos identificados fueron similares a los reportados por Domínguez y colaboradores e incluso las coccidias pertenecientes al género *Eimeria* se identificaron en mayor cantidad respecto a los helmintos.

Como se ha mencionado, la presencia de coccidias se distribuye por todo el mundo incluido el norte, centro y el sur de América. En el Ecuador se han hecho diversos estudios sobre la coccidiosis bovina. En la región sierra, Castro (2007, pp. 24 - 27) determinó la presencia de coccidias durante las épocas de invierno y verano. Durante el invierno se estableció una menor infestación respecto al verano, lo cual indica que cuando la temperatura es más elevada los parásitos se encuentran en mayor cantidad. En el oriente ecuatoriano Verdezoto Moncayo (2015, pp. 42) encontró que todos los bovinos muestreados durante su investigación presentaron una infestación por *Eimeria* sp. Por otra parte, López et al., (2016, pp. 320 - 323) también en la Amazonía encontraron la presencia de coccidias en muestras fecales las cuales variaban según la edad de los

animales, presentando una infestación del 33 %. Comúnmente en el Ecuador se reporta coccidiosis tanto en climas cálidos como en climas fríos. Tomasaukas (2008) estableció que la parasitosis por coccidias se presenta ininterrumpidamente en zonas tropicales y subtropicales en todo el mundo durante todo el año y con variaciones en su prevalencia en zonas donde la temperatura es más baja.

5.2. Prevalencia de parásitos gastrointestinales de la isla Santa Cruz – Galápagos.

El cálculo de la prevalencia permitió estimar la proporción de hospederos que se encuentran infectados por una especie parásita en particular, para esto se determinó el número de hospederos infectados en relación al total de animales examinados (Wisnivesky, 2003, pp. 64).

Se determinó la prevalencia de nematodos, trematodos, cestodos y protozoarios encontrados en las muestras fecales de los bovinos de la isla Santa Cruz durante los meses de septiembre y octubre del 2017.

Los nematodos son los que presentan una mayor prevalencia con un 94.17 %, seguido de los protozoarios con un 85.28 % luego los tremados con un 11.66 % y finalmente los cestodos con un 7.67 % (Figura 24).

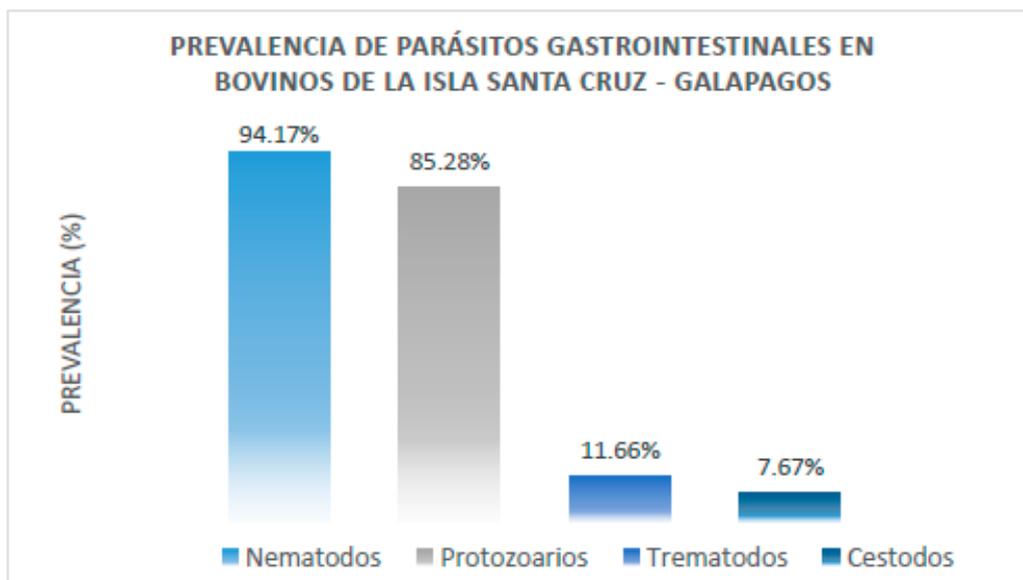


Figura 24. Prevalencia de los parásitos gastrointestinales encontrados en muestras fecales de bovinos de la isla Santa Cruz – Galápagos entre los meses de septiembre y octubre del 2017.

5.2.1. Prevalencia de géneros de parásitos gastrointestinales identificados en bovinos de la isla Santa Cruz.

La prevalencia según los distintos géneros de parásitos gastrointestinales identificados en muestras de heces fecales de bovinos de la isla Santa Cruz (Figura 25), demostró que las coccidias del género *Eimeria* spp., presentan la mayor prevalencia con un 77.91 % seguido de *Trichuris* spp., con un 69.93 %, luego *Strongyloides* spp. (33.13 %), *Giardia* sp. (32.82 %) y *Toxocara* spp. (31.91 %), el resto de parásitos identificados presentaron prevalencias menores al 20 %, con la mínima prevalencia del 0.61 % para *Dicrocoelium* spp.

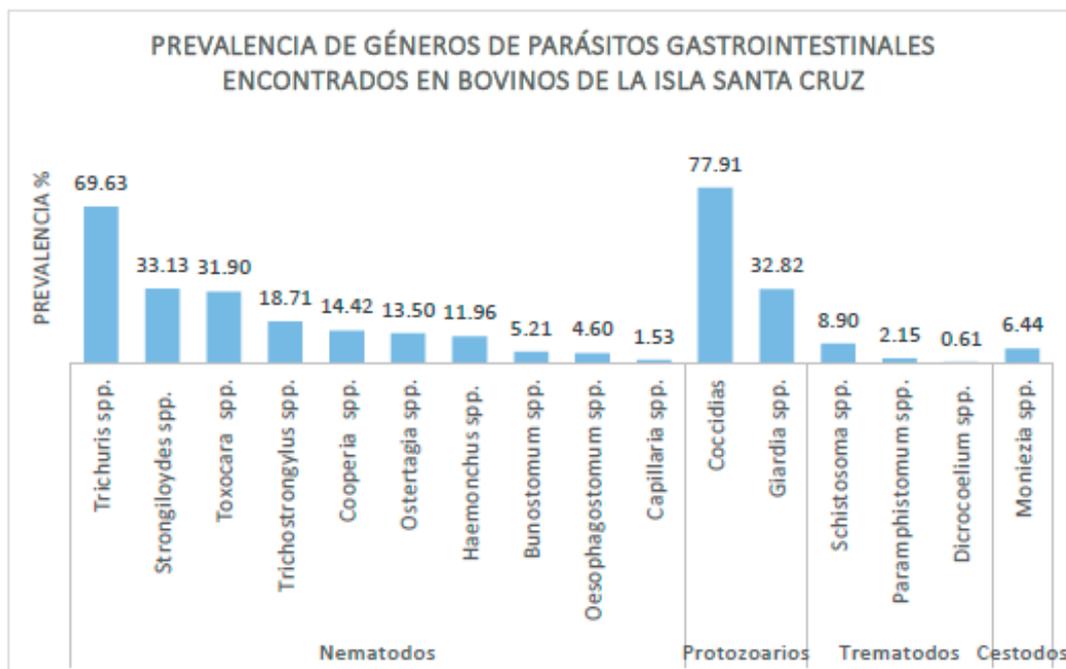


Figura 25. Prevalencia de distintos géneros de parásitos gastrointestinales observados en muestras de heces de bovinos de la isla Santa Cruz.

5.2.2. Prevalencia según la edad de los bovinos

Se definió la prevalencia de parásitos gastrointestinales en bovinos de la isla Santa Cruz tomando en cuenta la edad de los animales (Figura 26), identificándose a los animales de 0 – 11 meses de edad como terneros y a los de 12 meses en adelante como bovinos adultos. En terneros se observó mayor prevalencia tanto para nematodos (86.91 %), protozoarios (93.51 %) y cestodos (5.19 %). Sin embargo, en nematodos se observó una diferencia de 1.7 % entre terneros y bovinos adultos. En protozoarios y cestodos la diferencia de infestación entre bovinos adultos y terneros fue más notable con una diferencia de 3.4 % y 3 % respectivamente. En cuanto a los trematodos la diferencia de infestación entre adultos y terneros fue relativamente nula (0.35 %) lo cual indica que tanto animales jóvenes como adultos presentan la presencia del parásito en igual proporción.

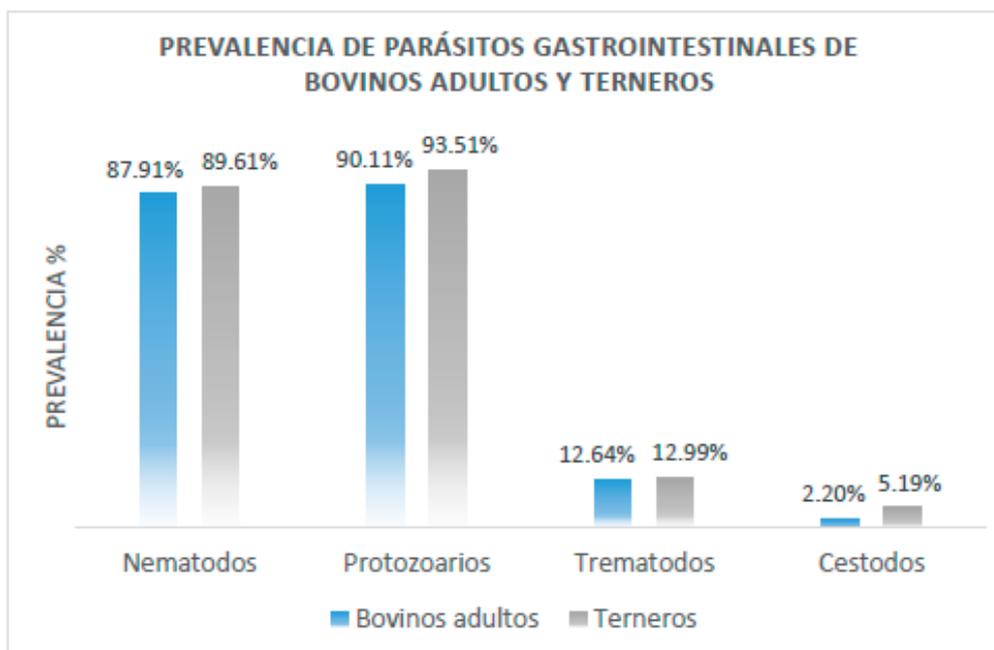


Figura 26. Comparación de la prevalencia de parásitos gastrointestinales entre bovinos adultos (más de 12 meses de edad) y terneros (menos de 12 meses de edad) de la isla Santa Cruz.

En el Ecuador, se han hecho diversos estudios sobre parásitos gastrointestinales en bovinos, y se ha encontrado que los nematodos son los parásitos con mayor prevalencia, sobre todo los pertenecientes al género *Trichostrongylus*, *Strongyloides*, *Nematodirus*, *Dictyocaulus*, *Strongylus*, *Parascaris*, *Trichuris* y *Oxyuris* (Maya & Quijije, 2011, pp. 34).

Se determinó una prevalencia del 77.91 % para coccidias del género *Eimeria*, la cual es superior a las prevalencias del resto de parásitos identificados. Este resultado concuerda con Domínguez et al., (1993, pp. 189 - 193), quien identificó protozoarios del género *Eimeria* spp. (86.02 %,) seguido de nematodos (84.72 %) de los cuales se destacan los pertenecientes al género *Haemonchus* spp. (56.84 %), *Trichuris* spp. (18.69 %), *Cooperia* spp. (18.36 %) y *Strongyloides* spp. (19.58 %) además del cestodo *Moniezia* sp., con una prevalencia de 8.92 %.

Ballweber, Smith, Stuedemann, Yazwinski, & Skogerboe (1997, pp. 53 - 68) encontraron que los bovinos presentaban más del 90 % de prevalencia de

helmintos en las regiones, septentrional, occidental y meridional de los Estados Unidos.

Guayllas (2015, pp. 43) determinó la prevalencia total de parásitos gastrointestinales en bovinos de la provincia de Loja, obteniendo una prevalencia del 81 %. Además, determinó la prevalencia de acuerdo al género situando al protozoo del género *Eimeria* en primer lugar con una prevalencia del 82.72 %, luego al cestodo *Moniezia* con un 75.31 %, seguido de distintos nematodos con prevalencias que oscilan entre el 60.49 % al 2.47 %, estos datos se asemejan al presente proyecto de investigación en cuanto a la prevalencia de protozoarios del género *Eimeria*.

Pinilla, Dasilva, González, & Tepper (2005, pp. 57 - 59) establecen que los parásitos pertenecientes al género *Eimeria* son altamente resistentes a la mayoría de antiparasitarios. Además en su fase infestante de ooquistes esporulados son capaces de sobrevivir durante un año en periodo latente así como también resistir a cambios de temperatura y humedad.

Por otro lado, en la isla Santa Cruz - Galápagos no se encontró una alta prevalencia del cestodo *Moniezia* spp, en comparación con el estudio realizado en Loja por Guayllas (2015) el cual encontró una prevalencia alta del 75.31 %. Esto puede deberse principalmente a la ubicación geográfica de ambos sitios de muestreo. Junquera (2013) asegura que la incidencia de helmintos depende de la ubicación geográfica, su ecosistema, condiciones climáticas manejo del ganado como el pastoreo e higiene. Generalmente los helmintos representan un problema en regiones con climas cálidos y húmedos o en lugares donde las condiciones de higiene y nutrición son deficientes. Además, Quiroz Romero (2013, pp. 293 - 297) manifiesta que *Moniezia* spp, puede desarrollarse en sitios que mantengan condiciones ambientales adecuadas para el desarrollo de los ácaros de vida libre los cuales son el vector de transmisión del parásito. Por lo tanto la distribución de este parásito en la mayoría de los casos es netamente regional.

Finalmente, el resto de parásitos gastrointestinales en bovinos de la isla Santa Cruz son nematodos con prevalencias mayores al 30 % muy similar a la prevalencia obtenida por Guayllas (2015).

En cuanto a la prevalencia de trematodos en bovinos, Pinedo et al., (2010, pp. 163 - 164) reportó una prevalencia del 46 % en contraste con el 11 % registrado en los animales de la Isla Santa Cruz. Esto se debe a que los bovinos adultos tienden a desarrollar un grado de inmunidad, a diferencia de los bovinos jóvenes que tienen mayor susceptibilidad de albergar un mayor número de parásitos.

Se ha encontrado que la concurrencia de coccidias junto con los nematodos del género *Trichistrogylus* y *Cooperia*, exagera el efecto de las coccidias (Quiroz Romero, 2013, pp. 129). Como podemos observar en la figura 5, existe una prevalencia alta de coccidias junto con la de los nematodos con prevalencias del 18.71 y 14.42%.

En el Ecuador Chicaiza (2005, pp. 61 - 67) determinó la presencia de *Eimeria* sp., en vacas, vaconas y terneros de la provincia de Chimborazo. Encontró que los terneros presentan mayor presencia del parásito con un 25.0 %, seguido de las vaconas con el 12.5 % y finalmente las vacas con una prevalencia del 9.09 %. Benavides (2000, pp. 79 - 98) afirma que los bovinos adultos son la mayor fuente de infección para los animales más jóvenes, debido a que pueden excretar más de 13 millones de ooquistes por día aproximadamente.

Urquhart et al., (2001, pp. 263 - 264) indica que un bovino recién nacido ya se infecta con parásitos, sin embargo los síntomas se pueden presentar a partir de la segunda semana tiempo en el que la coccidia desarrolla su ciclo dentro del huésped hasta su estadio infectivo. La patología se presenta principalmente en los terneros debido a que durante los primeros días de vida su sistema inmune no se encuentra lo suficientemente desarrollado, a pesar de que en la lactancia el bovino recibe calostro con inmunoglobulinas las cuales inmunizan al animal y lo vuelven más resistente a infecciones.

En cuanto a los protozoarios, las coccidias generalmente afectan a los bovinos menores a un año de edad pero también puede encontrarse en menor medida

en añajos y adultos (Urquhart et al., 2001, pp. 263). En Canadá dónde la coccidiosis bovina es alta, también se ha comprobado que la enfermedad se presenta sobre todo en terneros de 6 – 12 meses de edad cuando los terneros están confinados a una granja o lotes de alimentación (Radostits & Stockdale, 1980, pp. 227).

5.2.3. Prevalencia de parásitos gastrointestinales identificados en cada sector de la isla Santa Cruz.

Finalmente, se estableció la prevalencia de parásitos gastrointestinales por sectores de la isla Santa Cruz. Como se puede observar en la figura 27, existen sectores con una alta prevalencia de parásitos gastrointestinales mientras que en otros sectores la presencia de parásitos es nula. En el sector El Occidente, Camote, Bellavista, Cascajo y en el sector sin definir, no existe la presencia de cestodos. En el sector Guayabillas no existe la presencia de trematodos y en el sector Media Luna no se identificaron protozoarios, trematodos ni cestodos.

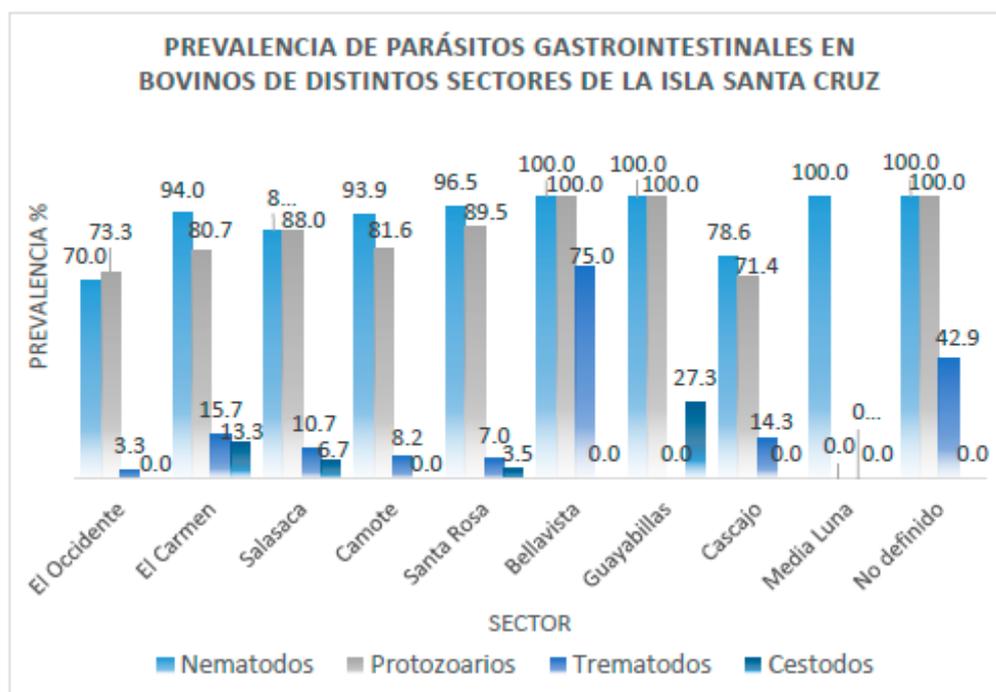


Figura 27. Prevalencia de parásitos gastrointestinales en bovinos de distintos sectores de la isla Santa Cruz – Galápagos.

La presencia o ausencia de ciertos parásitos en los distintos sectores de la isla Santa Cruz puede deberse a factores como: antecedentes de desparasitación, buenas prácticas de higiene, alimentación, pastoreo y manejo del ganado en general. Wisnivesky (2003, pp. 66) afirma que los animales de vida libre (macroparásitos) no se encuentran distribuidos de manera equitativa a lo largo de su área de distribución geográfica. La presencia y abundancia de una especie parásita varía en el espacio lo cual constituye una respuesta a los cambios que ocurren durante la adaptación al hábitat. Además las condiciones ambientales juegan un papel importante en cuanto a la distribución de una especie a lo largo de un espacio geográfico.

Velasteguí & Guerra (2012, pp. 72) concluyeron que las características bioclimáticas de la zona, la gestión de pastizales, la comercialización entre los animales de la región, el origen del agua y la comida, falta de drenaje de los potreros y el desconocimiento de las enfermedades causadas por parásitos por parte de los encargados del ganado se consideran como factores que contribuyen a la presencia masiva de parasitosis en los bovinos. Adicionalmente los autores recomiendan que la disminución de la prevalencia de parásitos debe enfocarse en planes de vigilancia epidemiológica con tratamientos médicos y profilaxis, también consideran importante difundir el conocimiento de las parasitosis, prevención y tratamientos entre los propietarios de unidades de producción agropecuaria. Urquhart et al., (2001, pp. 264) menciona que para prevenir las parasitosis es importante mantener un buen manejo de los comederos y bebederos renovándolos y limpiándolos regularmente, además las camas y establos deben mantenerse siempre secos.

5.3. Carga parasitaria de los distintos géneros de parásitos identificados en bovinos

Un valor que corrobora los datos de prevalencia es conocido como intensidad de infección o carga parasitaria el cual se establece con el número total de parásitos que infectan a un hospedero. Este valor permite caracterizar la población de hospederos que se encuentran infestados. Por otra parte, debido a que la carga

parasitaria varía de un individuo a otro, el cálculo de la intensidad media permite obtener un promedio del número de una especie parásita por cada hospedero (Wisnivesky, 2003, pp. 64).

Se determinó la carga parasitaria de todos los géneros observados en las muestras fecales de los bovinos de la isla Santa Cruz, para lo cual se clasificó entre bovinos adultos y terneros.

5.3.1. Carga parasitaria de nematodos

Los nematodos en los terneros evidencian la mayor carga parasitaria de todos los géneros identificados. *Trichuris* sp., representa la mayor carga parasitaria (1588 hpg) seguido de *Strongyloides* sp. (798 hpg), *Toxocara* sp. (630 hpg), el resto de parásitos representan cargas parasitarias que oscilan entre 335 y 30 hpg como se observa en la figura 28.

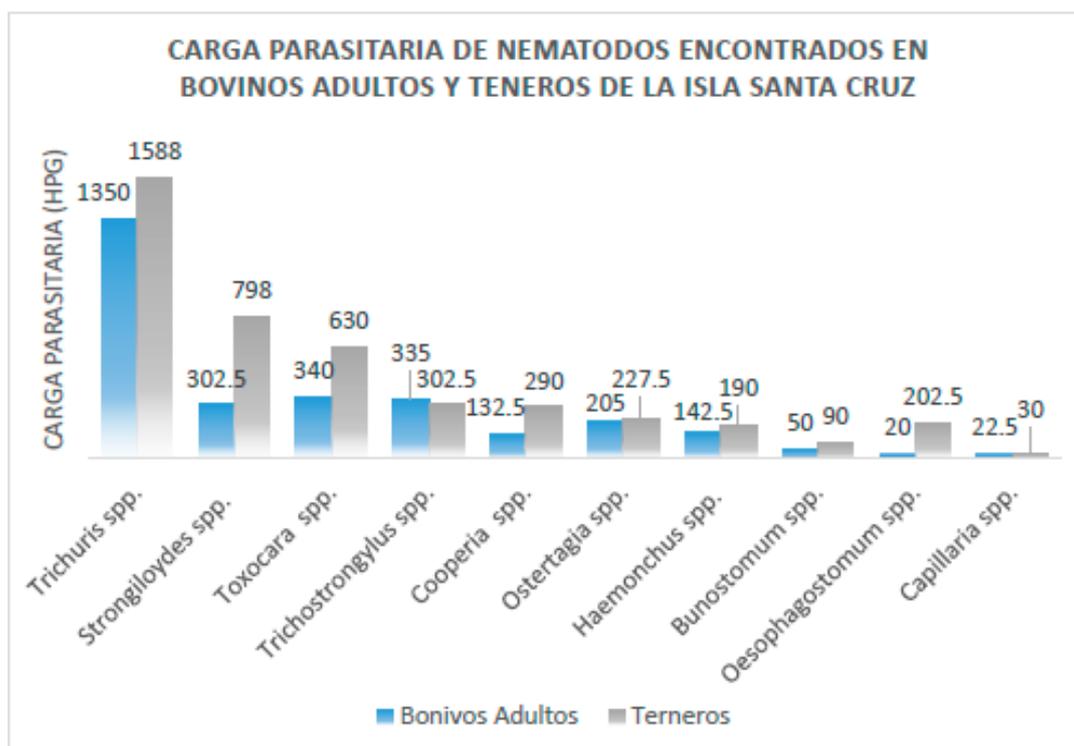


Figura 28. Carga parasitaria de los distintos géneros de nematodos identificados en bovinos de la isla Santa Cruz.

5.3.2. Carga parasitaria de protozoarios

En cuanto a los protozoarios, como se aprecia en la figura 29, la mayor carga parasitaria se observó en los terneros infectados por coccidias con un valor de 2 235 hpg, seguido de los bovinos adultos infectados con los mismos parásitos con 1802.5 hpg. En bovinos adultos *Giardia* spp., representó la mayor carga parasitaria con 687.5 hpg y finalmente los terneros con una carga parasitaria de 429.5 hpg.



Figura 29. Carga parasitaria de los distintos géneros de protozoarios identificados en bovinos adultos y terneros de la isla Santa Cruz.

5.3.3. Carga parasitaria de trematodos y cestodos

Los trematodos y cestodos (Figura 30) al igual que sus valores de prevalencia, presentaron carga parasitarias bajas en relación a los nematodos y protozoarios. El género *Paramphistomum* spp., en bovinos adultos posee una carga parasitaria de 115 hpg seguido de los terneros (87.5 hpg), luego se encuentra *Schistosoma* spp., en terneros con una carga de 20 hpg y finalmente *Dicrocoelium* spp en terneros con un valor de 10.5 hpg.

Por otro lado, el cestodo *Moniezia* spp., se encuentra en mayor proporción en terneros con un valor de carga parasitaria de 47.5 hpg.

Los resultados de la carga parasitaria de cada género identificado permitió determinar que los bovinos de la isla Santa Cruz se encuentran mayormente infestados por coccidias, debido a que estos parásitos presentaron la mayor carga parasitaria (2 235 hpg) respecto a los nematodos , trematodos y cestodos.

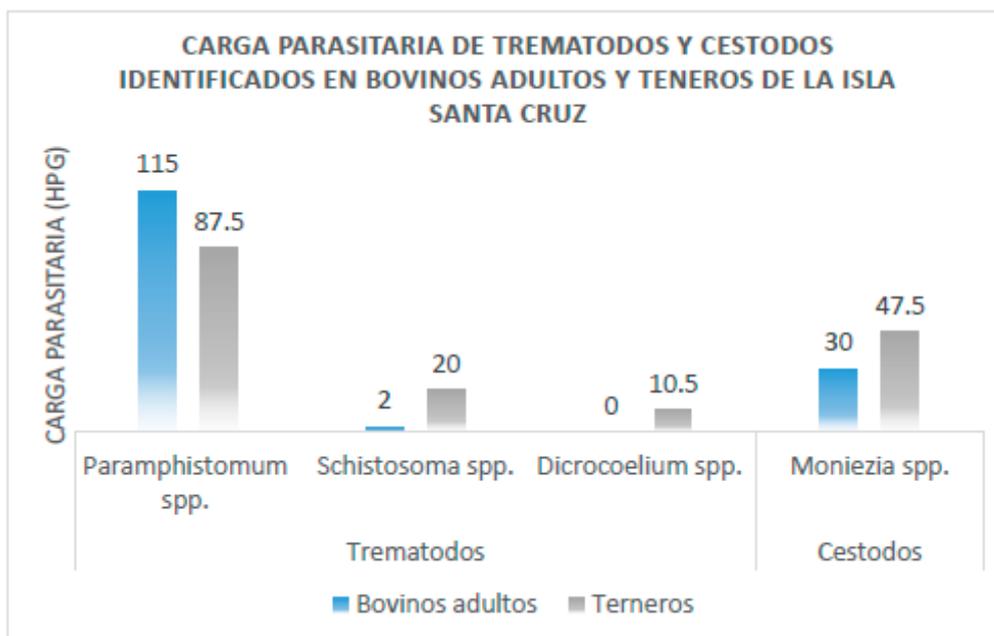


Figura 30. Carga parasitaria de los distintos géneros de trematodos y cestodos identificados en bovinos de la isla Santa Cruz.

Se pudo observar que los animales que presentan mayor carga parasitaria son los más jóvenes. Quiroz Romero (2013, pp. 28) asegura que uno de los factores que más influye en los parásitos es la edad del huésped. Existen parásitos que se desarrollan con mayor facilidad en animales jóvenes como es el caso de nematodos gastrointestinales en ganado vacuno y caprino, en contraste, los terneros presentan mayor resistencia a los hemoparásitos como *Babesia*.

Los animales más sensibles y propensos a una infestación por parásitos son los terneros de 0-6 meses de edad, y en menor medida los de 6 – 12 meses. Los animales con inmunidad disminuida o no desarrollada por completo como es el caso de los terneros son más susceptibles a una parasitosis aguda (Cordero del

Campillo & Rojo Vázquez, 2007, pp. 40 -41).Esto se pudo evidenciar en el presente trabajo debido a que la infestación en animales jóvenes menores de un año presentaron valores de prevalencia y carga parasitaria superiores a la de los bovinos mayores a un año de edad.

Soulsby (1987) y Levine (1988) aseguran que el parasitismo es un problema que afecta principalmente a animales jóvenes, de tal manera que la eficiencia de una empresa ganadera dedicada a la crianza de bovinos debe prestar mayor cuidado a los terneros en sus primeros meses de vida ya que en esta fase es donde se presenta la mayor cantidad de pérdidas ocasionadas por parásitos. Según ambos autores las parasitosis que representan mayores pérdidas económicas son las gastrointestinales.

Reinemeyer (1990) concluyó que la inmunidad es adquirida por los animales a los 15 y 18 meses de edad y dicha inmunidad aumenta conforme los años, siempre y cuando se mantengan condiciones alimenticias adecuadas.

Por otra parte Sudhakara Reddy, Sivajothi, & Rayulu (2015, pp. 557 - 559) realizaron un estudio de coccidiosis con síntomas clínicos en bovinos adultos. Las muestras analizadas resultaron positivas para ooquistes de coccidias con una carga parasitaria máxima de 32 000 OPG (Ooquistes por gramo de muestra) y un conteo mínimo de 18 000 OPG, lo cual sugiere que los animales presentan síntomas clínicos cuando la carga parasitaria evidentemente es elevada.

Cicek et al., (2007, pp. 1239 - 1243) demostraron que existe una correlación negativa entre la edad del ganado y el riesgo de infección. Los autores determinaron una prevalencia de coccidias más alta (27.23 %) en animales jóvenes respecto a los animales de mayor edad (15.65 %).

5.4. Intensidad Media

Se estableció la intensidad media de parásitos gastrointestinales según la edad de los bovinos (Figura 31). Los terneros presentaron valores más altos de intensidad media de nematodos (14.87) protozoarios (8.47) y cestodos (4.25),

mientras que en los bovinos adultos los que presentaron la mayor intensidad promedio fueron los trematodos (2.7).

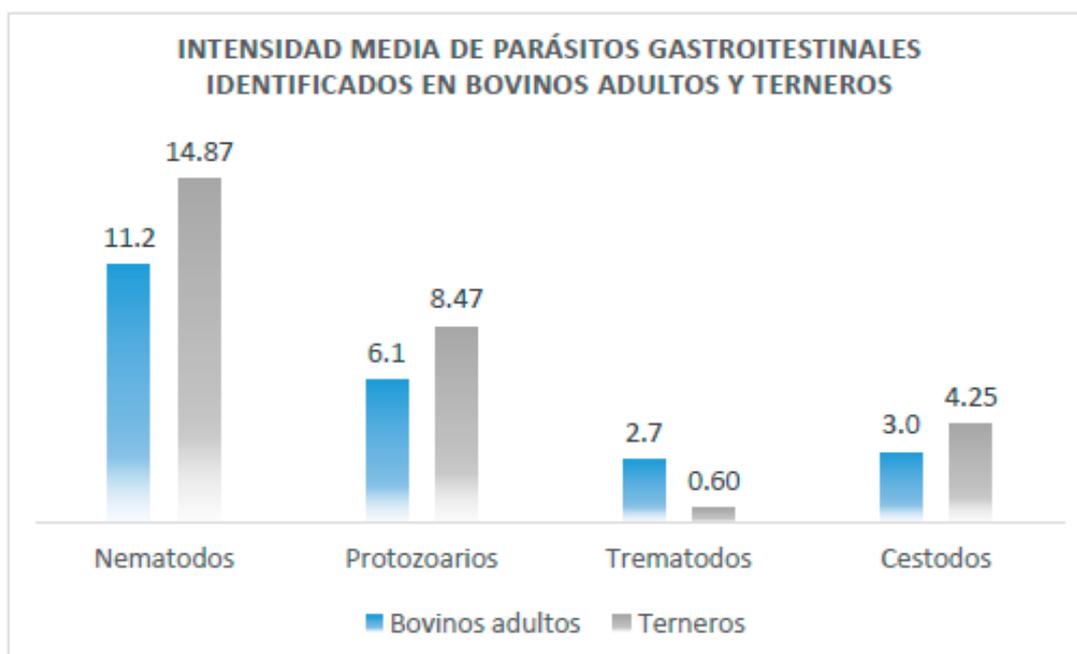


Figura 31. Intensidad media de parásitos gastrointestinales identificados en bovinos adultos y terneros de la isla Santa Cruz – Galápagos.

En las infecciones producidas por macroparásitos como los protozoarios, la respuesta inmune es capaz de controlar la infección pero no la elimina por si sola por lo que las infecciones son de mayor duración. De este modo se producen infecciones continuas debido a que los parásitos no se reproducen dentro del hospedero y la carga parasitaria llega a ser muy variable en el tiempo. Por tal motivo, el cálculo de la intensidad media es importante en infecciones por macroparásitos, debido a que este dato esclarece como se da la distribución de la carga parasitaria entre los hospederos siempre y cuando estos sean de la misma especie (Wisnivesky, 2003, pp. 65).

5.5. Identificación de Apicomplexas de la clase coccidia en muestras fecales de bovinos de la isla Santa Cruz - Galápagos mediante PCR

5.5.1. Extracción de ADN

La extracción de ADN de las 52 muestras fecales positivas a coccidias se realizó mediante el método 2CTAB/CAI descrito por Quinga (2012) el cual permitió obtener concentraciones de 11 ng/ μ L a 663 ng/ μ L con una pureza (260/280) de aproximadamente 1.4 a 2. La calidad y pureza del ADN obtenido se observó en un gel de agarosa al 0.8% (Figura 32).

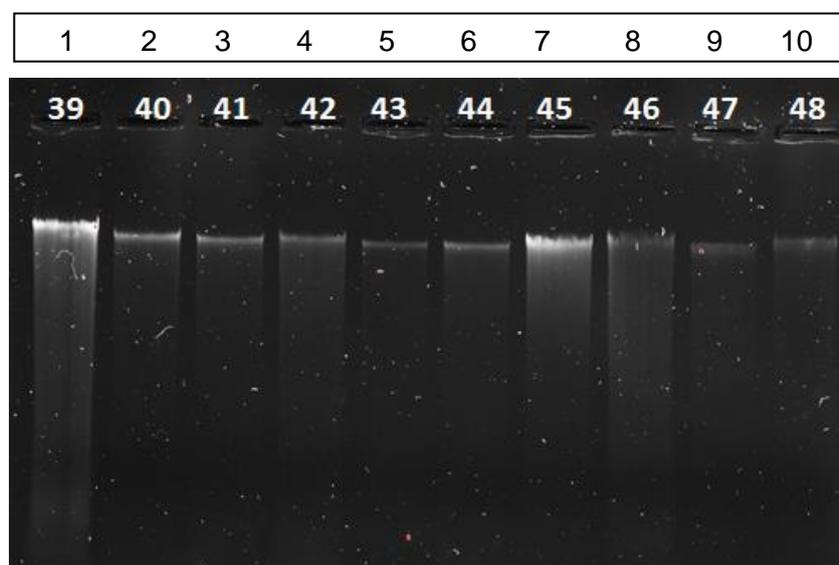


Figura 32. ADN en gel de agarosa al 0.8%. Carriles 1 – 10: muestras de ADN obtenido por el método 2CTAB/CAI.

Con las muestras que presentaban una baja concentración de ADN (menos de 100 ng) se realizó la PCR variando la cantidad de agua y ADN hasta obtener 25 μ L de volumen de mezcla. Por otro lado, las muestras con concentraciones mayores a 100 ng se diluyeron con buffer TE hasta llegar a la concentración final de 100 ng. Se realizó la PCR de todas las muestras incluyendo aquellas que no se encontraban en el rango de pureza de 1.4 – 2 y se obtuvo resultados positivos para la PCR.

Hoy en día existen métodos rápidos utilizados para la extracción de ADN de heces fecales, no obstante la mayoría de los kits comerciales usados para este propósito pueden llegar a ser muy costosos. Por tal motivo los métodos de extracción manuales representan una alternativa con buenos resultados y a bajo costo (Quinga Socasi, 2012).

Quinga Socasi (2012) evaluó tres métodos de extracción manuales y concluyó que con el método 2CTAB/CAI se obtiene ADN más puro y con una alta concentración de ADN respecto a los otros 2 métodos analizados. La razón de que el método 2CTAB/CAI resulte eficiente es debido a que se le añade 2 veces el buffer de lisis CTAB, este buffer con acción detergente es ampliamente utilizado para extraer ADN y eliminar sustancias que inhiben la PCR como polisacáridos y compuestos fenólicos (Nishimura et al., 2010).

El pre tratamiento y el lavado de las heces con PBS previo a la extracción de ADN incrementa significativamente la cantidad de ADN obtenido (Quinga Socasi, 2012). Finalmente los lavados con cloroformo / alcohol isoamílico son importantes debido a que las muestras de heces naturalmente son presentan un gran número de contaminantes y mediante dicho compuesto se eliminan todos los contaminantes que pueden interferir con la PCR (Surzycki, 2000)

5.5.2. Gradiente de Temperatura

Con el fin de eliminar bandas inespecíficas se realizó un gradiente de temperatura, en el cual se modificó la temperatura de alineamiento. Se realizó un primer gradiente partiendo de una temperatura de 56 °C hasta los 61 °C (Figura 33. A). Sin embargo, a esas temperaturas se observó bandas inespecíficas, por lo que se realizó un segundo gradiente de temperatura desde 60 °C hasta los 65 °C (Figura 33. B). El mejor resultado se obtuvo a los 64 °C donde ya no se observan bandas inespecíficas y además se determinó que a más de 64 °C la PCR resulta negativa.

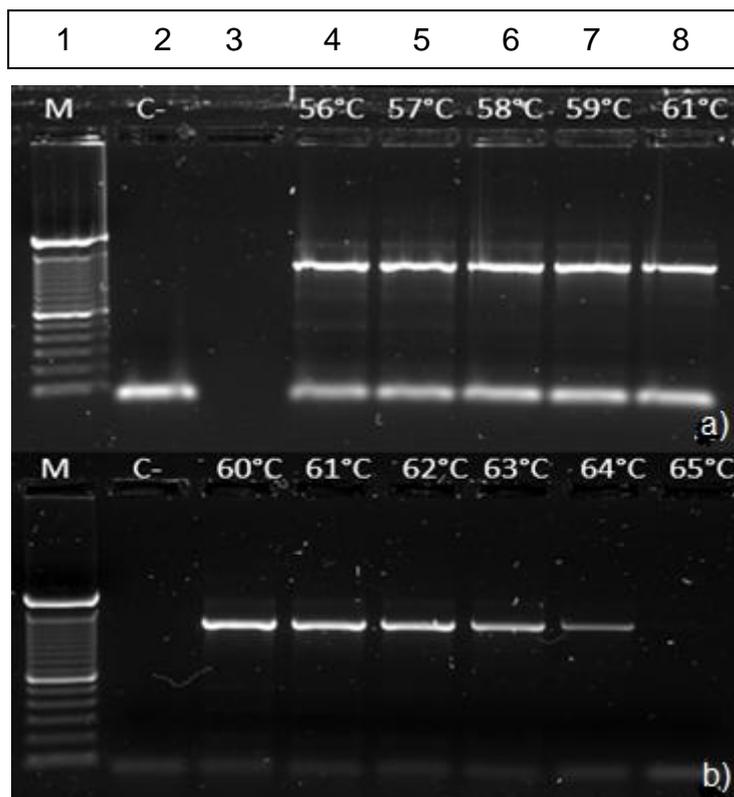


Figura 33. Gel de agarosa para determinar el gradiente de temperatura.

- a) Carril 1: marcador de peso molecular. Carril 2: control negativo. Carriles 4 - 8: gradiente de temperatura de 56 – 61 °C.
- b) Carril 1: marcador de peso molecular. Carril 2: control negativo. Carriles 3 – 8: gradiente de temperatura de 60 – 65 °C.

La temperatura de alineamiento durante la amplificación del gen 18 S para la detección de la clase coccidia se realizó con rangos de 56 a 65 °C como se observa en la Figura 32. La temperatura óptima de alineamiento es de 64 °C debido a que favorece la especificidad y disminuye uniones incorrectas de los cebadores en sitios incorrectos del ADN molde como lo indica Bolívar, Rojas, & García (2014, pp. 28) en sus estudios, el alineamiento específico de los cebadores se produce a una temperatura recomendada de 50 a 65 °C. De igual manera Espinosa (2007, pp. 527 - 528) asegura que con una temperatura más baja se logra una PCR más específica, pero si la temperatura sube demasiado no se amplificará el gen debido a que la unión de los oligonucleótidos con los sitios complementarios va a ser menos estable y la enzima polimerasa no va a

iniciar la síntesis. En el caso de que en una PCR se observe más de una banda, al no usar la temperatura adecuada se obtiene poca reproducibilidad de los ensayos debido a que el oligo se va a unir en cualquier parte y no solo en los sitios complementarios que se requiere para amplificar el gen deseado y esto ocasionará la amplificación de distintas zonas en un PCR y otro.

De igual manera, determinar el número de ciclos idóneo va a permitir tener resultados más específicos y eliminar bandas no deseadas Espinosa (2007, pp. 526 - 528) indica que la mayoría de PCRs funcionan con 30 ciclos aunque pueden hacerse también desde 20 hasta 35 ciclos. Espinosa (2007), en sus estudios obtuvo bandas inespecíficas de modo que redujo los ciclos y eliminó dichas bandas pero indica que la desventaja es que se obtiene menos producto de PCR.

5.5.3. PCR para confirmar la presencia de coccidias en las muestras de heces fecales de bovinos

Una vez modificada la temperatura de alineamiento y el número de ciclos, se estableció el programa para amplificar el gen 18S rRNA (Tabla 7), con lo cual se realizó la PCR y se confirmó la presencia de coccidias con un tamaño de fragmento de aproximadamente 1300 pb (Figura 34).

Tabla 7.

Programa de amplificación del gen 18S rRNA modificado.

Proceso	Temperatura	Tiempo	Ciclos
Desnaturalización Inicial	94 °C	5'	1
Desnaturalización	94 °C	30''	35
Alineamiento	64 °C	30''	35
Extensión	72 °C	2'	35
Extensión Final	72 °C	10'	1
Mantenimiento	4 °C	∞	1

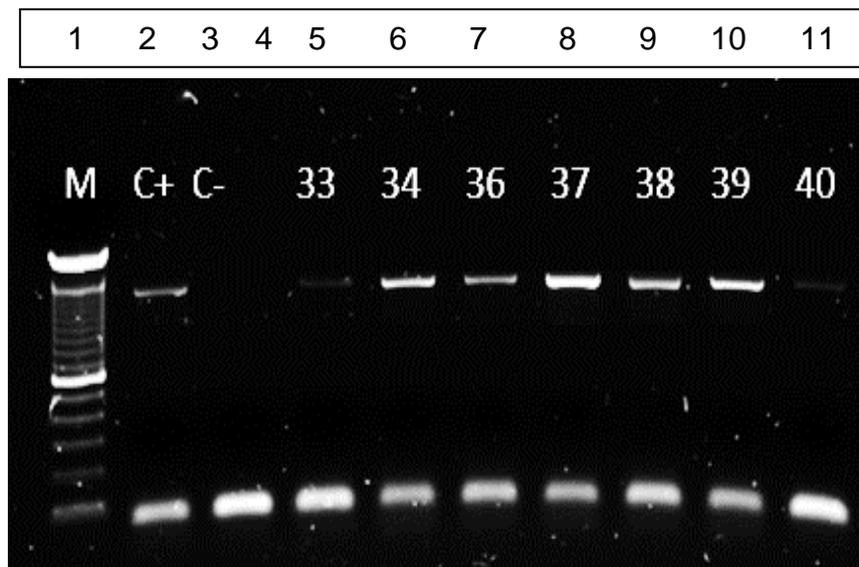


Figura 34. Amplificación del gen 18S rRNA para confirmar la presencia de coccidias en muestras fecales de bovinos de la isla Santa Cruz – Galápagos, en un gel de agarosa al 1%. Tamaño del fragmento: 1300 pb. Carril 1: marcador de peso molecular. Carril 2 y 3: control positivo y control negativo. Carriles 5 – 11: muestras de heces fecales bovinas positivas para PCR de Apicomplexas.

Desde hace algunos años la aplicación de la biología molecular en la parasitología tiene su propio término, parasitología molecular. La parasitología molecular permite diagnosticar la presencia de parásitos en una población, determinar la expresión de genes que regulan una parasitosis y factores de virulencia, es decir la acción que produce el parásito en el huésped desde el punto de vista molecular utilizando desde las técnicas moleculares tradicionales hasta las más avanzadas (Zavala, 2014). Desde este punto de vista, el presente estudio se ubica en el campo de la parasitología molecular, debido a que se utilizó PCR para determinar la presencia de parásitos del Filo Apicomplexa en el tracto gastrointestinal de bovinos de la isla Santa Cruz en Galápagos.

El diagnóstico parasitológico del agente causante de la coccidiosis bovina provocada por el protozoario *Eimeria* spp. se realiza mediante técnicas de microscopía óptica basadas en características morfológicas, sin embargo no son suficientes para diferenciar especies estrechamente relacionadas, por ello, se requiere el uso de técnicas moleculares con la capacidad de distinguir especies

morfológicamente similares en cualquier etapa de desarrollo y facilitar una identificación más precisa (Chapman et al., 2016, pp. 2).

Desde hace varios años las técnicas moleculares se han aplicado para el diagnóstico en el campo de la medicina y veterinaria. Stromberg y colaboradores (2015, pp. 290 - 295) determinaron la presencia de nematodos en bovinos, mediante PCR.

En cuanto a la identificación de organismos de Filo Apicomplexa mediante PCR, se ha realizado varios estudios enfocados a la veterinaria y animales de producción. Schnitzler, Thebo, Tomley, Uggla, & Shirley (1999, pp. 90 - 92) realizaron una PCR común para identificar distintas especies de *Eimeria* en aves mediante la amplificación de regiones ITS (Espacio de Transcripción Interno) de los parásitos. Como resultado se obtuvo productos de PCR positivos los cuales fueron secuenciados y se logró describir de manera precisa las especies de *Eimeria* presentes en las aves. Este estudio corroboró que el uso de las técnicas moleculares y la secuenciación permite identificar distintas especies de manera exhaustiva y precisa.

Con el paso de los años, hasta la actualidad el uso de técnicas moleculares se ha desarrollado en gran medida para estudios más minuciosos en todo el mundo. Como es el caso de Hermosilla, Zahner, & Taubert (2006, pp. 423 - 431) quienes estudiaron las reacciones innatas de *Eimeria bovis* en células endoteliales determinando la adhesión de neutrófilos polinucleares a dichas células, mediante RT – PCR. Se concluyó que la infección por *E. bovis* regula positivamente la transcripción de los genes que codifican para la molécula de adhesión celular vascular e intracelular induciendo a reacciones proinflamatorias en los tejidos gastrointestinales.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

La técnica de flotación con solución sobresaturada de cloruro de sodio permitió identificar distintos géneros de parásitos gastrointestinales en la isla Santa Cruz. Se determinó una alta prevalencia de nematodos, seguida de protozoarios, luego tremátodos y finalmente cestodos.

Eimeria spp. presenta la mayor prevalencia (77.91 %), es decir que la presencia de coccidias se encuentra en mayor proporción respecto a los otros géneros de parásitos en los bovinos de la isla.

El uso de métodos moleculares, como la PCR, permitió confirmar la presencia de parásitos gastrointestinales del Filo Apicomplexa en el tracto gastrointestinal de bovinos perteneciente a la isla Santa Cruz en Galápagos. Se determinó que la temperatura de alineamiento adecuada para amplificar el gen 18S rRNA para Apicomplexas en muestras de bovinos es de 64 °C con 35 ciclos.

Este proyecto de investigación constituye el primer reporte con bases moleculares de la presencia de parásitos del Filo Apicomplexa en bovinos de la isla Santa Cruz - Galápagos.

6.2. Recomendaciones

Se deben realizar exámenes coprológicos periódicos en los bovinos para identificar a tiempo una parasitosis e implementar adecuados programas de desparasitación, para establecer un control en los animales con el fin de evitar afectación en la producción.

Es necesario dar a conocer los resultados de este estudio a todos los productores y dueños de las fincas de la isla Santa Cruz para adoptar medidas de higiene y mejoras en el manejo del ganado con el fin de evitar que los animales sigan contrayendo parásitos gastrointestinales.

Es importante determinar los factores de riesgo que favorecen la presencia de parásitos gastrointestinales en los bovinos de la isla Santa Cruz.

Se recomienda realizar una secuenciación y análisis filogenético de los productos de PCR obtenidos, para determinar las especies de *Eimeria* presentes en el tracto gastrointestinal de bovinos de la isla Santa Cruz – Galápagos.

Debido a que el bovino es una especie introducida se requiere realizar estudios acerca de la relación y los efectos de los parásitos identificados en especies nativas de la isla.

REFERENCIAS

- Agrocalidad. Instructivo INT/DA/019 Toma y envío de muestras en animales domésticos (2016). Quito, Ecuador: Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro, Agrocalidad. https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiLtLiGgNzZAhXFuIMKHUptBswQFgglMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.agrocalidad.gob.ec%2Fwpcontent%2Fuploads%2F2015%2F09%2Finstructivo-toma-y-envio-de-muestras-en-animales-domesticos-19-01-2017.pdf&usg=AOvVaw2e0LMDYdk7FJxEySdc4D_b
- Álvarez, A. R. (2006). Los protozoos. Características generales y su rol como agentes patógenos. In *Ciencia Veterinaria* (Vol. 8, pp. 62–71). Santa Rosa - La Pampa. Argentina.
- Astudillo Alvares, A. L. (2016). Prevalencia de parásitos gastrointestinales en bovinos adultos de los cantones orientales de la provincia del Azuay. Universidad de Cuenca. Ecuador. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/26097>
- Ballweber, L. R., Smith, L. L., Stuedemann, J. A., Yazwinski, T. A., & Skogerboe, T. L. (1997). The effectiveness of a single treatment with doramectin or ivermectin in the control of gastrointestinal nematodes in grazing yearling stocker cattle. *Veterinary Parasitology*, 72(1), 53–68. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9403977>
- Basso, W., Venturini, L., & Risso, M. (1998). Comparacion de tecnicas parasitologicas para el examen de heces de perro. *Parasitología Al Día*. Scielo, 22(1–2), 52–56. Recuperado el 11 de noviembre del 2017 de <https://doi.org/10.4067/S0716-07201998000100011>
- Behm, C., & Sangster, N. (1999). Pathology, pathophysiology and clinical aspects. In *Fasciolosis*, J.P. Dalton (Primera edición). London - UK: CABI International. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <http://www.cabi.org/cabebooks/ebook/20143333683>

- Benavides, E. V. (2000). Métodos para reconocimiento y valoración de la gastroenteritis parasitaria en bovinos. Estado actual y perspectivas del diagnóstico en salud y producción animal;memorias. Simposio Internacional sobre Estado Actual y Perspectivas del Diagnóstico en Salud y Produccion Animal. Bogotá - Colombia. Recuperado el 10 de noviembre del 2017 de <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=bac.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=019654>
- Bolívar, A., Rojas, A., & García, P. (2014). PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización. *Avances En Biomedicina*. Instituto de Inmunología Clínica, 3(1), 25–33. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <http://erevistas.saber.ula.ve/index.php/biomedicina/article/view/4584>
- Cabezas Murillo, A. H. (2012). Determinación de la resistencia de la diarrea viral bovina DVB, en las Islas San Cristobal y Santa Cruz del Archipiélago de Galápagos. Universidad de las Américas. Quito - Ecuador. Recuperado el 10 de noviembre del 2017 de <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/2865>
- Calderón Arguedas, O. (2004). *Parasitología General: Elementos Y Actividades* - Google Libros (Primera ed). San José - Costa Rica: Universidad de Costa Rica - Departamento de Parasitología. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de [https://books.google.com.ec/books?id=OpqilcnwNIQC&pg=PA40&dq=ciclo+de+vida+indirecto&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwifuo7A8JbYAhXFOSYKH W1KCHwQ6AEILDAB#v=onepage&q=ciclo de vida indirecto&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=OpqilcnwNIQC&pg=PA40&dq=ciclo+de+vida+indirecto&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwifuo7A8JbYAhXFOSYKH W1KCHwQ6AEILDAB#v=onepage&q=ciclo%20de%20vida%20indirecto&f=false)
- Cardona, J., & Bedoya, K. (2013). Frecuencia de parasitos intestinales y evaluación de metodos para su diagnóstico en una comunidad marginal de Medellín, Colombia. *Iatreia*, 26(3), 257–268.
- Castro, S. (2007). Identificación de familias parasitarias y programas de prevención en bovinos en la comunidad de vende leche de la parroquia Ingapirca en el cantón Cañar. Universidad del Azuay. Ecuador. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de

<http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/3281/1/10055.pdf>

- Castro Ramirez, A. (1984). Producción bovina (Primera edición). San José - Costa Rica: Editorial Universidad Estatal a Distancia.
- CGREG. (2014). Censo de Unidades de Producción Agropecuaria de Galápagos. Puerto Baquerizo Moreno. Galápagos - Ecuador.
- Chapman, P. A., Owen, H., Flint, M., Traub, R. J., Cribb, T. H., & Mills, P. C. (2016). Molecular Characterization of Coccidia Associated with an Epizootic in Green Sea Turtles (*Chelonia mydas*) in South East Queensland, Australia. PLOS ONE, 11(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149962>
- Chicaiza, S. (2005). Estudio de enfermedades protozoaricas gastrointestinales en bovinos pertenecientes a las comunidades del Proyecto Micuni. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo ESPOCH. Riobamba - Ecuador.
- Cicek, H., Sevimli, F., Kozan, E., Köse, M., Eser, M., & Doğan, N. (2007). Prevalence of coccidia in beef cattle in western Turkey. Parasitology Research, 101(5), 1239–1243. Recuperado el 10 de noviembre del 2017 de <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0627-3>
- Colina, J. C., Mendoza, G. A., & Jara, C. A. (2013). Prevalencia del parasitismo por *Eimeria* en bovinos, *Bos taurus*, del Distrito Pacanga (La Libertad, Perú) y su relación con factores sociodemográficos y ambientales. Rebiolest, 1(2), 72–78.
- Cordero del Campillo, M., & Fernández González, J. (1981). Presencia de la coccidiosis bovina en España. In León: Facultad de Veterinaria de la Universidad de León (Ed.), Parasitología y Enfermedades Infecciosas. León - España. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <https://buleria.unileon.es/handle/10612/2498>
- Cordero del Campillo, M., & Rojo Vázquez, F. (2007). Parasitología general. Madrid - España: McGraw-Hill Interamericana. Recuperado el 11 de noviembre del 2017 de <https://booksmedicos.org/parasitologia-general-cordero-del-campillo-rojo-vazquez/>

- Cruz, A. R., & Tinoco, J. F. (2008). Incidencia endoparasitaria bovina en la zona oriental del cantón Zaruma. Universidad del Azuay. Ecuador. Bachelor Thesis.
- Cruz Reyes, A., & Camargo Camargo, B. (2001). Glosario de Términos en Parasitología y Ciencias Afines (Primera edición). México: Plaza y Valdés, S.A. de C.V. Recuperado el 8 de noviembre del 2017 de <http://site.ebrary.com/bibliotecavirtual.udla.edu.ec/lib/udlasp/reader.action?docID=10845006>
- Domínguez, J. L., Rodríguez, R. I., & Honhold, N. (1993). Epizootiología de los parásitos gastrointestinales en bovinos del estado de Yucatán. Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma de Yucatán, 24(3), 189–193. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-1993/vm933c.pdf>
- Duszynski, D. W., & Morrow, J. J. (2014). The biology and identification of the Coccidia (Apicomplexa) of turtles of the world (Primera edición). USA: ELSEVIER. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de https://books.google.com.ec/books?id=ImtzAwAAQBAJ&pg=PA210&dq=apicomplexa+18s&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwigm_qr06nYAhVBNiYKHbmjC BUQ6AEIJTAA#v=onepage&q=18s&f=false
- Espinosa, L. (2007). Guía práctica sobre la técnica de PCR. In Ecología Molecular. Herramientas moleculares (Vol. 1, pp. 517–540). México D.F. Recuperado el 8 de noviembre del 2017 de <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.6584>
- Galapagos Conservancy. (2017). Santa Cruz Island. Recuperado el 12 de diciembre del 2017 de https://www.galapagos.org/about_galapagos/about-galapagos/the-islands/santa-cruz/
- Gállego Berenguer, J. (2007). Manual de parasitología : morfología y biología de los parásitos de interés sanitario Gállego Berenguer, J. (2007). Manual de parasitología : morfología y biología de los parásitos de interés sanitario. Barcelona - España: Universitat de Barce. Barcelona - España: Universitat de Barcelona, Publicacions i edicions. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de https://books.google.es/books?id=XH4yn_OANn4C

- García, F. (2006). El sector agrario del Ecuador: incertidumbres (riesgos) ante la globalización. *Iconos. Revista de Ciencias Sociales*, 24, 71–88.
- Gómez, C. (2000). Helminths Gastrointestinales en bovinos de la Décima Región de Chile. Recuperado el 12 de diciembre del 2017 de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2000/fvg633h/doc/fvg633h.pdf>
- Guayllas, D. R. (2015). Prevalencia de parasitosis gastrointestinal y pulmonar ante y post mortem en bovinos y porcinos en el camal municipal del Cantón Yantzaza. Universidad Nacional de Loja.
- Hermosilla, C., Zahner, H., & Taubert, A. (2006). Eimeria bovis modulates adhesion molecule gene transcription in and PMN adhesion to infected bovine endothelial cells. *International Journal for Parasitology*, 36(4), 423–431. Recuperado el 12 de diciembre del 2017 de <https://doi.org/10.1016/J.IJPARA.2006.01.001>
- INEC. (2017). Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. Ecuador. Recuperado el 20 de diciembre del 2017 de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas/>
- Jiménez, A. (2005). Coccidiosis Bovina. *CySB*, 17(2), 48–53. Recuperado el 11 de noviembre del 2017 de http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/17/cys_17_coccidiosis_bovina.pdf
- Jiménez, F., & Merchant, H. (2003). *Biología celular y molecular* (Primera edición). México: PEARSON EDUCACIÓN.
- Joyner, L. P., Norton, C. C., Davies, S. F., & Watkins, C. V. (1966). The species of coccidia occurring in cattle and sheep in the South-West of England. *Parasitology*, 56(3), 531–41. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6007931>
- Levine, N. (1988). The protozoan phylum Apicomplexa. *Apicomplexa* (Vol. 2). Boca Ratón: CRC Press. Recuperado el 12 de noviembre del 2017 de https://books.google.com.ec/books/about/PROTOZOAN_PHYLUM_APICOMPLEXA.html?id=1qV9QgAACAAJ&redir_esc=y

- López, J. C., Moyano, J. C., Riofrío, A., Quinteros, R., Marini, P. R., & Amazónica, E. (2016). Parasites in Cattle in the Ecuadorian Amazon. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*, 4(6), 320–324.
- López, V., Restrepo, J., Berta, N., Restrepo, I., Lotero, C., Amparo, M., ... Martín, J. (2007). Estudio para evidenciar la presencia de neospora caninum en bovinos de la hacienda san pedro en el municipio de fredonia. *Revista CES Medicina Veterinaria Y Zootecnia*, 2(1), 7–20.
- López Páez, M., Corredor Arjona, A., & Nicholls Orejuela, R. (2012). Atlas de Parasitología (Segunda edición). Colombia: El Manual Moderno, S.A de C.V. Recuperado el 13 de diciembre del 2017 de <https://ebookcentral-proquest-com.bibliotecavirtual.udla.edu.ec/lib/udlasp/reader.action?docID=3226350>
- Manga González, M. (2007). Trematodos. In *Parasitología General* (Primera edición, pp. 79–104). Madrid - España: McGRAW - HILL - INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S.A.U. Recuperado el 10 de noviembre del 2017 de <https://ebookcentral-proquest-com.bibliotecavirtual.udla.edu.ec/lib/udlasp/reader.action?docID=3195520>
- Margolis, L., Esch, G. W., Holmes, J. C., Kuris, A. M., & Schad, G. A. (1982). The Use of Ecological Terms in Parasitology (Report of an Ad Hoc Committee of the American Society of Parasitologists). *The Journal of Parasitology*, 68(1), 131. Recuperado el 12 de diciembre del 2017 de <https://doi.org/10.2307/3281335>
- Márquez L, D. (2003). Nuevas Tendencias para el Control de los Parasitos de Bovinos en Colombia (Primera edición). Colombia: Corpoica. Recuperado el 12 de noviembre del 2017 de <https://books.google.com.ec/books?id=5kIOGzVJZyoC&pg=PA1948&lpg=PA1948&dq=marquez+2003+parasitos&source=bl&ots=37Mh6yVAjm&sig=UWnlhwtGePaDYBgLYfPLanbTFjw&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiS1tKrs6jYAhVB5yYKHZ3DC9gQ6AEIJTAA#v=onepage&q=marquez 2003 parasitos&f=fal>
- Martínez-González, M. A., Sánchez-Villegas, A., Toledo Atucha, E., & Faulín, F. J.

(2014). Bioestadística amigable (Tercera edición). Barcelona - España: Elsevier. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <https://books.google.com.ec/books?id=OmaZoAEACAAJ&dq=bioestadística+amigable&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjJxeHknoDYAhUD5SYKHVR2DNsQ6AEIJTAA>

Mas - Coma, M. S., Esteban, J. G., & Bargues, M. D. (1999). The traditional epidemiological picture of human fascioliasis has changed markedly in recent years, as outlined below. *Bulletin of the World Health Organization*, 77(4), 340–346.

Mateus, G. (1983). *Parásitos internos de los bovinos : su naturaleza y prevención, con énfasis en doble propósito* (Primera ed). Turrialba - Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. CATIE. Recuperado el 8 de noviembre del 2017 de https://books.google.com.ec/books/about/Parásitos_internos_de_los_bovinos.html?id=vW0OAQAAIAAJ&redir_esc=y

Maya, A., & Quijije, J. (2011). Determinación de la carga parasitaria en tres especies zootécnicas (*bos taurus*, *ovis aries* y *equus caballus*) y su relación con las condiciones climáticas”. Universidad de Las Fuerzas Armadas ESPE.

Mille Pagaza, S., Pérez Chi, A., & Villaseñor Córdova, R. (2010). *Biología de protozoarios e invertebrados no artrópodos*. (INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, Ed.) (Primera ed). México, D.F. Recuperado el 10 de noviembre del 2017 de <https://ebookcentral-proquest-com.bibliotecavirtual.udla.edu.ec/lib/udlasp/reader.action?docID=3187705>

Monge-Nájera, J., Gómez Figueroa, P., & Rivas Rossi, M. (2002). *Biología general* (Primera ed). San José - Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia. EUNED.

Müller, S., Cerdan, R., & Radulescu, O. (2016). *Comprehensive analysis of parasite biology : from metabolism to drug discovery*. Weinheim – Alemania: Wiley – VCH Verlag GmbH and Co.

Murillo Parajón, I. J. (2017). Prevalencia de *Eimeria* spp. en el ganado bovino que se

faena en el Matadero Municipal de Guayaquil, entre noviembre y diciembre 2016. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Recuperado el 21 de noviembre del 2017 de <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/7723>

Niilo, L. (1970). Bovine coccidiosis in Canada. *The Canadian Veterinary Journal*. *La Revue Vétérinaire Canadienne*, 11(5).

Nishimura, T., Yamauchi, K., Saitoh, Y., Deguchi, Y., Aoi, T., Tsujimoto, T., & Matsubara, K. (2010). Sex Determination of the Japanese Serow (*Capricornis crispus*) by Fecal DNA Analysis. *Japanese Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 15(2), 73–78. Recuperado el 21 de noviembre del 2017 de <https://doi.org/10.5686/jjzwm.15.73>

Padilla Álvarez, F., & Cuesta López, A. (2003). *Zoología Aplicada (Primera ed)*. Madrid - España: Ediciones Díaz de Santos. Recuperado el 13 de noviembre del 2017 de <https://ebookcentral-proquest-com.bibliotecavirtual.udla.edu.ec/lib/udlasp/reader.action?docID=3173226>

Parra, D. (1990). Los parasitismos en los bovinos de clima frío en el país. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, (39), 171–175.

Pérez - García, J., Álvarez - Sánchez, M., Mainar - Jaime, R., & Rojo - Vázquez, F. (2002). Enfermedades parasitarias del ganado ovino. *Mundo Ganadero*. *Sitio Argentino de Producción Animal*, II, 1–21. Recuperado el 11 de noviembre del 2017 de <http://www.bvcooperacion.pe/biblioteca/bitstream/123456789/2136/1/BVCI0001780.pdf>

Pinedo, R., Chávez, A., Casas, E., Suárez, F., Sánchez, N., & Huamán, H. (2010). Paramphistomatidae en bovinos del Distrito de Yurimaguas, Provincia de Alto Amazonas, Loreto. *Revista de Investigación Veterinaria de Perú*, 21(2), 161–167. Recuperado el 22 de diciembre del 2017 de http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Articulo_PARAMFISTOMOSIS_BOVINA_PINEDO.pdf

Pinilla, J. C., Dasilva, N. D. J., González, C., & Tepper, R. (2005). Prevalencia e Intensidad de Infección de Parásitos Gastrointestinales En Cerdos Alojados

En Diferentes Sistemas De Produccion. Rev. Unell. Cien . Tec., 23(1), 51–61.

Quigley, J. (2001). Revisión sobre la Coccidiosis en Becerros. *Veterinary Immunology*.

Quijada, T., López, G., Marchan, V., & Jiménez, M. (2002). Coccidiosis en becerros en la parroquia moroturo , municipio urdaneta del estado lara. *Revista Científica Vol. XII-Suplemento 2*, 599–600.

Quinga Socasi, M. G. (2012). Estandarización de un protocolo para la extracción de adn de muestras fecales de lobo de páramo (*Lycalopex culpaeus*). Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE. Carrera de Ingeniería en Biotecnología.

Quiroz, H., Figueroa, J., Ibarra, F., & López, E. (2011). *Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos* (Primera ed). México D.F.

Quiroz Romero, H. (2013). *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. (/Grupo Noriega, Ed.) (Primera ed). México D.F.: Limusa.

Radostits, O. M., & Stockdale, P. H. (1980). A brief review of bovine coccidiosis in Western Canada. *Canadian Veterinary Journal*, 21(8), 227–230.

Reinemeyer, C. R. (1990). Prevention of parasitic gastroenteritis in dairy replacement heifers. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* (Vol. 12). USA: [Veterinary Learning Systems]. Recuperado el 11 de noviembre del 2017 de <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19900865997>

Rishniw, M., Liotta, J., Bellosa, M., Bowman, D., & Simpson, K. W. (2010). Comparison of 4 Giardia Diagnostic Test in Diagnosis of Naturally Acquired Canine Chronic Subclinical Giardiasis. *Journal of Veterinary Medicine*, 293–297.

Rodríguez, I., & Juela, E. (2016). Prevalencia de parásitos gastrointestinales en bovinos adultos del cantón Cuenca. Universidad de Cuenca.

Rodríguez Bataz, E. (2008). *Manual de prácticas de parasitología I y II*. Chilpancingo - Guerrero: Universidad Autónoma de Guerrero. Recuperado el 21 de

diciembre del 2017 de <https://ebookcentral-proquest-com.bibliotecavirtual.udla.edu.ec/lib/udlasp/detail.action?docID=3177985>

Rodríguez Rojas, J. (1993). *Las islas Galápagos: Estructura geográfica y propuesta de gestión territorial* (Primera edición). Quito - Ecuador: Ediciones Abya-Yala. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <http://biblioteca.udla.edu.ec/client/default/search/account?>

Rodríguez Vivas, R., Cob Galera, L., & Domínguez Alpizar, J. (2001). Frecuencia de parásitos gastrointestinales en animales domésticos diagnosticados en Yucatan, México. *Rev Biomed*, 12(1), 19–25.

Rossanigo, C. (2009). Primera Comunicación de Casos de Coccidiosis Bovina con Presentación Nerviosa. *Revista Veterinaria Argentina*, 26(256). Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <http://www.veterinariargentina.com/revista/2009/08/primera-comunicacion-de-casos-de-coccidiosis-bovina-con-presentacion-nerviosa/>

Saffo, M. B., McCoy, A. M., Rieken, C., & Slamovits, C. H. (2010). *Nephromyces*, a beneficial apicomplexan symbiont in marine animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(37), 16190–5. Recuperado el 10 de noviembre del 2017 de <https://doi.org/10.1073/pnas.1002335107>

Schnitzler, B. E., Thebo, P. L., Tomley, F. M., Uggla, A., & Shirley, M. W. (1999). PCR identification of chicken *Eimeria*: A simplified read-out. *Avian Pathology*, 28(1), 89–93. Recuperado el 20 de diciembre del 2017 de <https://doi.org/10.1080/03079459995091>

Sevillano Mera, G. F. (2017). Identificación de organismos del Filo Apicomplexa y Orden Rickettsiales en tortugas gigantes (*Chelonoidis* spp.) en las Islas Galápagos. Universidad de las Fuerzas Armada ESPE. Carrera de Ingeniería en Biotecnología. Recuperado el 8 de noviembre del 2017 de <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/12889>

Sixtos, C. (2013). Procedimientos y técnicas para la realización de estudios coproparasitológicos. *Virbac Al Día. Salud Animal. Publicación Trimestral*

No.24, (24).

- Soca, M., Roque, E., & Soca, M. (2005). Epizootiología de los nemátodos gastrointestinales de los bovinos jóvenes. *Redalyc. Org. Pastos Y Forrajes*, 28(3), 175–185.
- Soria, C., & Rodríguez, L. (2017). El levamisol en parasitosis gastrointestinal de bovinos. *Revista Ecuatoriana de Medicina Y Ciencias Biológicas*, 19(2), 79–92. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <http://remcb-puce.edu.ec/index.php/remcb/article/view/164>
- Soulsby, E. (1987). *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos* (Séptima edición). Mexico D.F.: Nueva Editorial Interamericana. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <http://www.worldcat.org/title/parasitologia-y-enfermedades-parasitarias-en-los-animales-domesticos-7a-edicion/oclc/801873211>
- Speer, C., & Hammond, D. (1972). Development of gametocytes and oocysts of *Eimeria magna* from rabbits in cell culture. *Proceedings of the Helminthological*, 39. N°1. Recuperado el 13 de noviembre del 2017 de <http://bionames.org/bionames-archive/issn/0018-0130/39/114.pdf>
- Stromberg, B. E., & Gasbarre, L. C. (2006). Gastrointestinal Nematode Control Programs with an Emphasis on Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 22(3), 543–565. Recuperado el 11 de noviembre del 2017 de <https://doi.org/10.1016/J.CVFA.2006.08.003>
- Stromberg, B. E., Gasbarre, L. C., Ballweber, L. R., Dargatz, D. A., Rodriguez, J. M., Koprak, C. A., & Zarlenga, D. S. (2015). Prevalence of internal parasites in beef cows in the United States: Results of the National Animal Health Monitoring System's (NAHMS) beef study, 2007-2008. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne de Recherche Veterinaire*, 79(4), 290–5. Recuperado el 21 de diciembre del 2017 de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26424909>
- Sudhakara Reddy, B., Sivajothi, S., & Rayulu, V. C. (2015). Clinical coccidiosis in adult cattle. *Journal of Parasitic Diseases : Official Organ of the Indian Society for*

Parasitology, 39(3), 557–9. Recuperado el 8 de noviembre del 2017 de <https://doi.org/10.1007/s12639-013-0395-1>

Surzycki, S. (2000). *Basic Techniques in Molecular Biology*. Springer Berlin Heidelberg.

Tamasaukas, R., Agudo, Leonel, & Vintimilla, M. (2010). Patología de la coccidiosis bovina en venezuela: una revisión -Bovine coccidiosis pathology in Venezuela: a review. *Revista Electrónica de Veterinaria. REDVET.*, 11. Recuperado el 10 de noviembre del 2017 de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070710/071006.pdf><http://www.veterinaria.org/revistas/redvet><http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070710.html>

Urquhart, G. M., Armour, J., Duncan, L., Dunn, A. M., & Jennings, F. W. (2001). *Parasitología veterinaria (Segunda edición)*. Zaragoza - España: Editorial Acribia S.A. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <http://biblioteca.udla.edu.ec/client/default/search/account?>

Vaillant, M., Cepeda, D., Gondard, P., Zapatta, A., & Meunier, A. (2007). *MOSAICO AGRARIO. Diversidades y antagonismos socio - económicos en el campo ecuatoriano*. Ecuador: SIPAE. IRD. IFEA.

Velasteguí, F. J., & Guerra, J. de las M. (2012). Prevalencia de parasitosis por paramphistomum spp. en ganado bovino del cantón el chaco, provincia del napo. Universidad Central del Ecuador.

Verdezoto Moncayo, R. M. (2015). Evaluación de la eficiencia de la tierra de diatomeas como antiparasitario en el control de helmintos gastrointestinales en bovinos de engorde en la estación experimental fátima. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Villegas, V., Sánchez, M., & Chuairé, L. (2009). Reacción en cadena de la polimerasa y diagnóstico molecular. *Scielo. Colombia Médica*, 40, 347–352.

Walker, J., & Rapley, R. (2008). *Molecular Biomechanics Handbook (Segunda ed.)*. Hatfield, Hertfordshire, UK: Springer Science & Business Media. Humana Press.

- Wisnivesky, C. (2003). *Ecología y epidemiología de las infecciones parasitarias* (Primera edición). Costa Rica: Libro Universitario Regional. Recuperado el 9 de noviembre del 2017 de <http://www.worldcat.org/title/ecologia-y-epidemiologia-de-las-infecciones-parasitarias/oclc/84713931>
- Yaeger, R. G. (1996). Protozoa: Structure, Classification, Growth, and Development. In S. Baron (Ed.), *Medical Microbiology* (cuarta edi). University of Texas Medical Branch at Galveston. Recuperado el 13 de noviembre del 2017 de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21413323>
- Zavala, J. E. (2014). *Técnicas moleculares para el estudio de parásitos*. In *Parasitología Médica* (Cuarta edi). México: McGraw-Hill Medical. Recuperado el 13 de noviembre del 2017 de <http://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1483§ionid=102302305>
- Zavala Castro, J. (2005). *Manual de técnicas básicas de biología molecular* (Primera ed). Yucatán - México: Universidad Autónoma de Yucatán, Dirección General de Desarrollo Académico, Coordinación General de Extensión, Departamento Editorial.

ANEXOS

Anexo 1.

Registro realizado por cada finca y muestras tomadas de bovinos de la isla Santa Cruz – Galápagos.

N° MUESTRA	N° FINCA	FECHA		SECTOR	PROPIETARIO	ARETE Y NOMBRE	SEXO	EDAD	RAZA	TRATAMIENTOS			CÓDIGO MUESTRA	NÚMERO
		FINCA	FECHA							ANTIBIOTICOS	DESPARASITANTE	FECHA		
235	45	Solitario	08-09-2017	Salásaca	César Moreno	Gateada	Hembra	3 años	Mestiza	No	Ivermectina 1%	Julio, 2017	A4M1F18	A4F18
236						221	Hembra	5 años	Hoshein				A4M2F18	
237						Milagros	Macho	1.5 años	Mestiza				A4M3F18	
238	46	S/N	08-09-2017	Santa Rosa	Henry Moreno	Cabeza blanca	Macho	1 año	Hoshein	No	Ivermectina 1%	Julio, 2017	A4M1F19	A4F19
239						Jaspeado	Macho	1 año	Mestiza				A4M2F19	
240						Blanca	Hembra	3 años	Brown Swiss				A4M3F19	
241	46	S/N	08-09-2017	Santa Rosa	Henry Moreno	Amarilla	Hembra	11 meses	Simmental	No	Ivermectina 1%	Julio, 2017	A4M4F19	A4F19
242						Dorado	Macho	1 año	Simmental				A4M5F19	
243						Colorada	Hembra	1 año	Simmental				A4M6F19	

