

**Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN-León
Facultad de Ciencias Médicas
Centro de Investigación de Enfermedades Infecciosas**



Tesis para optar al título de Master en Microbiología Medica

TEMA

**Infección por *Trypanosoma spp* en ovinos sintomáticos en el Municipio de León
Marzo - Septiembre 2012.**

AUTOR:

Lic. Brendadel Socorro Mora Sánchez

TUTOR:

Lic. Rosário Palma MSc.
Profesor Titular
Dpto. Microbiología y Parasitología
Facultad de Ciencias Médicas
UNAN-León

Agradecimiento.

A:

Mi padre celestial, principal autor de esta tesis que sin él no hubiera podido llegar hasta acá.

La cooperación Sueca que financio mis estudios de maestría

Mi tutora, **Lic. Rosario Palma**, por su apoyo, por todo el tiempo que dedico a este trabajo, Por haber creído en mis capacidades, y por ser mi ejemplo de lucha y perseverancia a usted mi maestra muchas gracias.

Dr. Fernando Salazar, por sus sugerencias y paciencia.

Agradezco de una forma muy especial a Li. Yahosca Reyes, Msc. colega del departamento de microbiología de la UNAN-León, por todas sus horas de sacrificio y dedicación.

A la Lic. Kenia Castro Msc. por su apoyo para que esto fuera realidad y .por sus consejos

Dr. Samuel Vílchez. Director de Departamento de Microbiología y Parasitología de la UNAN-León.

Dr. Filemón Bucardo. Coordinador de la maestría, por su apoyo y colaboración de este trabajo.

Dr. Willian Jirón Director de la Escuela de Medicina Veterinaria,

Al personal de Biopatología de la Escuela de Medicina Veterinaria por su colaboración en el procesamiento de las muestras. Y de manera muy especial al CEVEDI por el apoyo a esta investigación.

La Dra. Cristiane Duttmann, por darme la oportunidad de emplear los conocimientos adquiridos en mi maestría.

Al Lic. Byron Flores Msc. Por todo su apoyo.

Sra. Cándida Hernández Sra. Antonia Obando

Sra. Yanet Reyes Sr. Edwin Herrera.

A MIS PRIMEROS MAESTROS:

Dra. Aleyda Téllez

Dr. Byron Leiva.

A MI PRIMERA ESCUELA:

Departamento de Microbiología.

Para todos aquellos que estuvieron siempre con migo muchas gracias.

DEDICATORIA

Este esfuerzo es dedicado primeramente a un ser muy especial, que es el principal motor de mi vida, incondicionalmente me ha demostrado su inmenso amor y por eso lo amo.

Para. *Ti Papito Bueno.*

También se la dedico a mi *Madrecita Buena*, que me ha enseñado que siempre que caiga me tengo que levantar, pero con más fuerzas para continuar caminando. Gracias por tu amor y tu dedicación por ser un ser precioso.

Muy especialmente a *Mis hermanas.* Que las amos y a *Mis Sobrinos.* Que son las cinco joyas más preciosas que existen.

INDICE

	Pagina
I.INTRODUCCIÓN	1
1.1 HISTORIA	1
1.2 GENERALIDADES	1
II. ANTECEDENTES	2
III. JUSTIFICACIÓN	3
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
V. OBJETIVOS	5
VI. MARCO TEÓRICO	6
6.1 GENERALIDADES	6
6.1.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	7
6.2 BIOLOGIA	8
6.2.1 CICLO BIOLÓGICO	9
6.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLOGÍA	11
6.4 AGENTE ETIOLÓGICO	12
6.4.1 VECTORES	12
6.5 MECANISMO DE TRANSMISIÓN	12
6.5.1 FORMA DE TRANSMISIÓN SALIVARÍA	14
6.6 PATOLOGÍA Y MANIFESTACIONES CLÍNICO	14
6.6.1 INMUNOPATOLOGIA	15
6.6.2 HEMATOCLITO	16
6.7 DIAGNÓSTICO	16
6.7.1 PARASITOLÓGICO	16
6.7.2 SEROLÓGICO	16
6.7.3 MOLECULAR (PCR)	17
6.8 MEDIDAS DE CONTROL	17
6.9 TRATAMIENTO	18
VII.DISEÑO METODOLÓGICO	19
VIII.RESULTADOS	24
IX. DISCUSIÓN	29
X. CONCLUSIÓN	33
XI. RECOMENDACIONES	34
XII. REFERENCIAS	35
XIII.ANEXOS	39

ABREVIATURAS

Ag: Antígeno

ADNc: Acido Desoxirribonucleico Complementario

AC: Antes de Cristo

ADN: Acido Desoxirribonucleico

CDC: Control Diseases Center

DO: Densidad Óptica

ELISA: Ensayo Inmunoenzimatico

GP: Glicoproteínas

IC: Intervalo de Confianza.

IFI: Inmuno Fluorescencia Indirecta.

OPS: Organización Panamericana de la Salud.

PCR: Reacción en Cadena de Polimerasa.

PCR-RFLP:Reacción en Cadena de Polimerasa Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos de Restricción.

PBS: Buffer Fosfato.

.

.

I. INTRODUCCION

La tripanosomiasis es una enfermedad debilitante y comúnmente fatal de los animales domésticos, especialmente en bovinos y pequeños rumiantes. Es ocasionada por varias especies de *Trypanosomas*, de los cuales el *Trypanosoma vivax* es considerado como el agente causal de mayor importancia en rumiantes domésticos y silvestres en Sur América donde ha sido mayormente estudiada (1).

El *Trypanosoma* en especie animales es un protozoo flagelado, identificado por primera vez como patógeno para los mamíferos animal por Evans Griffithsen 1902(2). En el ovino la enfermedad, es conocida como nagana o n'gana, una palabra zulú que significa "estar deprimido/alicaído". *Trypanosoma vivax* y otros miembros de la familia *Trypanosomatida* como: *T. congolense*, *T. equiperdum*, y *T. brucei* producen en forma aislada o en conjunto una devastadora enfermedad en los rumiantes como vacunos y ovinos, conocida en el África como Nagana(3).

Los pequeños rumiantes pueden ser importantes reservorios de la infección, a partir de los cuales puede pasar al ganado vacuno y, por ser animales de menor costo y más fácil manejo, son también utilizados como modelo experimental para el estudio de la Tripanosomiasis bovina.

La crianza de ovejas africanas en Centro América es reciente según los pocos datos reportados hasta el momento. Estas se introducen a Nicaragua a comienzos de la década de los 80, procedente de dos donaciones que hacen México y Cuba. México donó unos 50 animales, hembras en su mayoría, y Cuba donó una partida similar. Estos rebaños donados fueron ubicados en cooperativas agropecuarias en el centro y norte del país. Las razas más comunes en Nicaragua son: Pelibuey, Kathadín, Black Belly y Dorper, estos animales se distinguen de las europeas porque son de pelo corto(4, 5).

II. ANTECEDENTES

Trypanosomiasis en animal fue introducido en el continente Americano aproximadamente en 1830.

En un estudios de prevalencia utilizando la técnica de ELISA revelan que se han reportado cepas de *T.vivax* con un 10 % de prevalencia tal reporte se hizo en ovinos estudiados de en una región pantanosa de Brasil en la zona de las Antillas por Zapatas y Mesas 2009,(6)desde donde se extendió a los países de la región Latino Americanos. En la región de Pantanal, en Brasil se ha calculado en más de 2,4 millones de dólares las pérdidas económicas anuales causadas por este parásito, considerando tan solo la muerte de los animales(7).

En Venezuela, la *Trypanosomiasis* atribuida a mamífero es provocada por la especie de *Trypanosomavivax*. Está ampliamente distribuida en las diferentes regiones del país y su prevalencia varia del 10- 20%(8).En las sabanas venezolanas reportan una seroprevalencia de 18,7% (Edo. Apure)Garcias y Zerpas 2013 y 24,9% en la zona central (Edo. Miranda) en un estudio en BecerroEspinoza y González en 2011.

Oliveira en el 2007 reportó por primera vez en Costa Rica la prevalencia de *T. vivax* con un 32.1% en el ganado bovino(9). El género *Tripanosoma* no se ha estimado como un agente nosológico importante en pequeños rumiantes domésticos aun cuando estudios epidemiológicos en Venezuela, señalan seroprevalencia variables para *T. vivax*, que oscilan desde 9,75% hasta 62,3%(10, 11).

En un primer reporte realizado en la escuela de Medicina Veterinaria UNAN-LEONNicaragua Tenorio ycol. se identificó *Tripanosoma spp*, en muestras de sangre de rebaños de ovejas con la técnica de tinción de Giemsa, aunque es una prueba de baja sensibilidad, se obtuvo un 37% de resultado positivo(12), sin embargo, es difícil de estimar el impacto económico ya que, adicionada a la pérdida del animal debe considerarse el efecto producido por la reducción de peso, producción de leche y reducción en horas de trabajo de los animales, sumado el costo en asistencia Médica Veterinaria.

III. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

En Nicaragua no se ha realizado estudios para conocer la prevalencia de infección por *Trypanosoma* en rumiantes, como ganado vacuno, ovino y caprino. Sin embargo de manera accidental se han detectado casos de frotis positivos en sangre de ovinos.

De acuerdo a datos bibliográficos los protozoarios del genero *Trypanosoma* pueden provocar infección en diversas especies de rumiantes entre ellos el ganado vacuno y ovinos. En la actualidad la crianza de ovinos en nuestro país ha cobrado importancia económica y comercial, razón por lo que la presente investigación pretende conocer la prevalencia de infección de *Trypanosoma* en ovinos sintomáticos. Este estudio realizado en Nicaragua revelara la frecuencia de esta enfermedad en los ovinos, proporcionando una base para el diagnóstico y control de la *Trypanosomiasis* en esta especie.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la prevalencia de *Trypanosoma* en una población de ovinos sintomático ubicada en el municipio de León?

V. OBJETIVOS

Objetivo general:

Describir la prevalencia de *Trypanosoma* en ovinos sintomáticos en una finca del municipio de León Marzo - septiembre 2012.

Objetivos específicos:

- ❖ Determinar la presencia de los hemoparásito en ovinos (pelibuey) utilizando la técnica de extendido periférico con tinción de Giemsa.
- ❖ Determinar la prevalencia de anticuerpo anti *Trypanosoma* y el título umbral en la población de estudio.
- ❖ Relacionar algunas variables sociodemográficas con signos clínicos de los animales en estudio.

VI. MARCO TEORICO

6.1 HISTORIA: La *Trypanosomiasis* en animales fue publicada por primera vez en las islas de Arauca, Canarias en 1903. El animal había sido importado del área africana donde *T. evansises* altamente prevalente(13) lo que provocó la diseminación de la enfermedad en otros animales como el ganado vacuno de esa región. Son susceptibles los animales sometidos al estrés, embarazo y mal nutrición; observándose edemas en las partes inferior del cuerpo, hemorragias y abortos en las hembras. La enfermedad se presenta algunas veces con fiebre, asociada a la parasitemia junto a una anemia progresiva con pérdida de la condición normal como: desfallecimiento, cansancio, falta de fuerzas(6). En 1903, el inglés David Bruce demostró la habilidad de la mosca tse-tse, *Glossinapalpalis* de transmitir la *Trypanosomiasis*, mientras se alimentaba de sangre, principalmente en animales mamíferos como el ganado bovino, caprino, ovinos y cerdos. En regiones donde esta mosca no está presente como en América Latina el parásito se adapta a una transmisión mecánica por insectos hematófagos, como tabanideos o *Stomoxis* spp, y garrapatas(14). La *Trypanosomiasis* conlleva un impacto económico por las pérdidas en la producción, debidas a bajas en la ganancia de peso, producción lechera, abortos, repetición de celos, como resultado de la acción hemoparasitaria.

6.1.1 GENERALIDADES:

La Trypanosomiasis: Es producida por un protozooario hemoflagelado de importancia veterinaria con distribución mundial. Su introducción en América se cree relacionada con una importación de bovinos cebú, provenientes de Senegal en 1830, traídos a la Guayana Francesa y las islas de Guadalupe infectando una variedad de grandes mamíferos entre los que se incluyen caballos, camellos, búfalos, venados , ovinos caprinos y vacunos causando la enfermedad que es de gran importancia económica en, regiones en las cuales cientos de animales mueren anualmente debido a la infección con este parásito (2).

6.1.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA:

Stomoxys (Tabano):

Reino: Animalia

Phylum: Arthropoda

Clase: Insecta

Orden: Díptera

Suborden: Brachycera.

Familia: Tabanidae

Trypanosoma spp.

Phylum: Sarcomastigophora

Subphylum: Mastigophora

Clase: Zoomastigophora

Orden: Kinetoplastida

Familia: *Trypanosomatidae*

Género: *Trypanosoma*

Phylum Sarcomastigophora; Con flagelos, pseudópodos o ambos, núcleo único, generalmente no forman esporas, reproducción sexual si existe, básicamente singamia.

Subphylum Mastigophora; Trofozoitos con uno o más flagelos, reproducción asexual fusión binaria, en muchos grupos, se desconocen mecanismos de reproducción sexual.

Clase Zoomastigophorea; Son protozoos flagelados, con uno o más flagelos en forma de látigo; El núcleo es de tipo vesicular, carecen de cromátóforos; El aparato neuromotor está constituido por un blefaroplasto granular, o gránulo basal, del que emerge el axonema.

Orden Kinetoplastida; Posee uno o cuatro flagelos; El kinetoplasto contiene ADN, y forma parte de la mitocondria que, en el caso de los *Trypanosomas*, recorre la longitud total del cuerpo.

Familia Trypanosomatidae; Con forma de hoja, pueden ser redondeadas.

Género Trypanosoma; Los miembros de este género se presentan en vertebrados, principalmente en la sangre y tejidos fluidos, aunque unos pocos pueden invadir células

tisulares. Son transmitidos por artrópodos hematófagos, en los que se desarrollan las fases evolutivas de; trypomastigote, epimastigote, promastigote y amastigote. Algunas especies han perdido la capacidad de experimentar desarrollo cíclico en artrópodos, y la transmisión mecánica es el único medio disponible. En muchas especies en el hospedador vertebrado solo aparecen trypomastigote, que se caracterizan por su especial aptitud patógena para el hombre y los animales. Los protozoos a considerar en el presente estudio son del género *Trypanosoma*(15).

Trypanosoma vivax. Es una especie monomórfica, de 20 – 27 μm (media 22.5 μm) por 3 mm. Su porción posterior, más ancha y bulbosa, es inconfundible, el kinetoplasto es grande y terminal y presenta un flagelo libre, corto, de 3-6 mm de longitud. El organismo es muy móvil en sangre fresca, desplazándose rápidamente a través del campo y dejando a un lado a los eritrocitos que encuentra en su camino.⁸

T. vivax causa la forma más importante de tripanosomiasis del ganado vacuno, puede producir una enfermedad asintomática o crónica, aguda o peraguda.

Las infecciones peragudas se caracterizan por una parasitemia alta y persistente, aunque en el momento de la muerte puede ser muy baja. *T. vivax* tienen un período de incubación variable (4 a 40 días); sin embargo, pueden ocurrir mortalidades de más del 50%. Parece haber una variación marcada en la virulencia con diferentes cepas de *T. vivax*; pero sigue siendo la causa más importante de tripanosomiasis en bovinos, borregos y ovejas de África Occidental. Causa también una enfermedad leve en los caballos y una infección crónica en los perros. El *T. vivax* con frecuencia es difícil de encontrar en los frotis sanguíneos y se observa mejor en frotis de ganglios linfáticos(16).

6.2 BIOLOGIA:

Trypanosomas: Son hemoflagelados de la familia *Trypanosomatidae*. Viven en la sangre o los tejidos de los mamíferos como bovino, caprinos, ovino, caballo, camellos, perros, su ciclo vital envuelve a dos huéspedes un insecto y mamíferos. Esta familia posee especies que tienen un solo flagelo, un núcleo y un cinetoplasto (origen del flagelo). Las formas *Trypomastigotas* se dividen por fisión binaria convirtiéndose en: *Tripomastigote*

metacíclico, esta fase se encuentra en glándulas salivales del vector y es transmitido al hospedador vertebrado por la saliva.

Amastigote: Dentro del organismo, los *Tripomastigotes* pasan al torrente circulatorio e invaden las células nucleadas, convirtiéndose en Amastigote (formas redondeadas sin flagelo). Los Amastigote se multiplican por fisión binaria preferentemente en las células del sistema retículo endotelial

Tripomastigotes sanguíneo: Los Amastigote se dividen y multiplican, rompen la célula huésped y salen al torrente sanguíneo como *Tripomastigotes* sanguíneos, que a su vez infectan otras células. Los *Tripomastigotes* no son capaces de multiplicarse en la sangre. Su única forma replicativa en los vertebrados es la forma de Amastigote intracelular.

6.2.1 CICLOBIOLÓGICO

Trypanosomavivax, es el principales agentes causal de la *Trypanosomiasis*, en rumiantes. Esta especie se adaptó, en ausencia de su transmisor natural: las moscas tsé-tsé, a un tipo de transmisión mecánica se lleva a cabo por la intervención de moscas picadoras, tales como *Stomoxys* y Tábanos que se infecta inmediatamente después de alimentarse, pero el *Trypanosoma* infectante permanece en las partes bucales del vector mecánico, sólo durante un corto periodo de tiempo, y tienen que ser rápidamente transmitido(17). Es importante distinguir estos dos tipos de transmisión, mecánica y cíclica debido a que en la transmisión mecánica, los *Trypanosomas* infectantes tienen un corto periodo de vivencia en sus vectores, y por el contrario, en la transmisión cíclica el *Trypanosoma* tiene que pasar un tiempo bastante largo para que alcance su fase infectante, que generalmente requiere de 15 a 35 días. Su presencia ha sido señalada en muchos países de Centro América, Sur América y las Antillas. El principal *Trypanosoma* involucrado en la *Trypanosomiasis* ovina en Centro y Suramérica es *Trypanosomavivaxviennaei*, el cual algunos taxónomos lo diferencian de *T. vivaxvivax*, en su forma de transmisión, que se transmite mecánicamente, como lo hace *T. vivaxviennaei*,

pero puede transmitirse de huésped a huésped, mediante su desarrollo en moscas tsetse (glossinas).

La infección comienza cuando los Trypanosomas son inoculados en la sangre de un mamífero por el insecto vector mientras éste se alimenta del animal. En el hospedador vertebrado las formas delgadas de los parásitos, se reproducen por fisión binaria, hasta conseguir que un gran número de parásitos se acumulen en la sangre. Los Trypanosomas adquieren una forma intermedia, para posteriormente adquirir forma redonda y corta; esta es la que ingiere el hospedador invertebrado y vector mientras se alimenta del animal. En el interior del insecto vector se presentan las formas policíclicas y, se produce la división para que posteriormente los parásitos pasen al proventrículo y, después a las glándulas salivales del insecto donde adquieren la forma de epimastigote y experimenta una división adicional. Finalmente las formas metacíclicas, se presentan en las glándulas salivales del invertebrado. Las formas metacíclicas son las que llegan a infectar a los animales, y se repite el ciclo vital.

Stomoxys. Spp (Tábanos mosca picadora):

Las hembras depositan sus huevos en masa de 400 a 1,000 unidades sobre piedras o vegetales situados en las orillas de pequeñas y pocas profundas agrupaciones de agua. Se inicia una serie de estadios larvarios. Las larvas eclosionan al cabo de una semana, dependiendo de la temperatura y la humedad relativa y caen al agua. Desarrollan una serie de 6-13 mudas larvales y pasan el invierno como larvas. La mayoría de las especies de áreas templadas tienen una sola generación al año, mientras que otras producen dos o más. Las especies particularmente grandes pueden pasar hasta 3 años como larvas. La fase I y la fase II no necesita alimentarse, pero la fase III y fase IV son carnívoras agresivas o saprofágicas, y se alimentan de larvas de insectos, crustáceos, caracoles, lombrices, renacuajos, tejidos vegetales y materia orgánica muerta, dependiendo de la especie del tábano y la disposición de la comida. Una vez que han madurado pasan a ser pupas que se trasladan al fango de las orillas para eclosionar y pasar a la transformación de su etapa adulta. La etapa de pupa puede durar de 4 – 21 días. Algunos tabánidos pueden desarrollarse de huevo a adulto en tan solo 6 semanas y tienen varias generaciones al año.

6.3 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS:

***Trypanosomas vivax*:** Es un pequeño hemoflagelado con un cuerpo alargado, provisto de un flagelo y una membrana ondulante. Fue identificado por el clásico movimiento vibratorio del parásito entre los hematíes, por las características morfológicas en frotis coloreada con Giemsa. Sus características principales son el notorio kinetoplasto terminal o subterminal redondeada, la membrana ondulante poco desarrollada y el pequeño tamaño de los parásitos. Suporción posterior, más ancha y bulbosa, el kinetoplasto es grande y terminal y presenta un flagelo libre, corto, *Tripomastigotes*, 25-40 micras de largo, un movimiento anterior de cinetoplasto hacia el núcleo y algunos que tiene un extremo posterior romo. El epimastigotes mide 40-42 micras de largo(18). La membrana ondulante es poco desarrollada. El núcleo es oval y se orienta longitudinalmente(15, 19).

Stomoxys. Spp (Tábanos mosca picadora):

Existen más de 300,000 especies

Huevos: miden de 1-2 mm de largo, color blanquecino, fusiforme y algo incurvado, presenta una zona de eclosión marcada en su polo posterior.

Larvas: estas moscas pasan a través de 4 a 10 estadios larvarios durante su desarrollo; las larvas miden entre 1,5 a 2,5 mm al abandonar el huevo y alcanzan 1 a 6 cm al completar su desarrollo. Generalmente son de color blanquecino aunque algunas presentan matices de color marrón y verdes. Su cabeza, es pequeña y atenuada apicalmente en su extremo y parcialmente retraible en el protórax. Tienen piezas bucales masticadoras puntiagudas que se mueven según un plano vertical; las mandíbulas son fuertes, paralelas y curvas ventralmente. En el cuerpo se distinguen 3 segmentos torácicos, los cuales están faltos de ornamentación y 8 segmentos abdominales; los siete primeros segmentos del abdomen están provistos, en su zona ventro-lateral, de seis protuberancias de función pseudopódica (pseudo-patas), y el último, provisto de un corto sifón dorsal. La cutícula de la larva tiene estriaciones longitudinales que le dan un aspecto moteado.

Pupas: Son por lo general de color marrón o marrón claro, con ojos, patas y parches alares visibles externamente. Una serie de espinas bordean el margen posterior de muchos segmentos abdominales y presentan además una serie de proyecciones caudales en forma de estrella llamadas áster púpales, las cuales son útiles en la identificación.

Adultos: En general son de cuerpo robusto, cabeza plana y redondeada; el macho se diferencia de la hembra por tener los ojos mas pegados; las hembras poseen aparato bucal cortador-chupador por sus hábitos alimenticios hematófagos, mientras que los machos carecen de este aparato bucal ya que ellos se alimentan del néctar de las flores, savia y heces de pulgones. Las hembras también necesitan estas fuentes de hidratos de carbono además de la sangre. Normalmente son oscuras pero pueden tener líneas o manchas de color amarillento y en algunas ocasiones reflejos metálicos en los ojos de matices verdes, amarillos, naranjas o violetas, su tamaño varia de mediano a grande.

6.4 AGENTE ETIOLOGICO:

La Tripanosomiasis animal: Es causada por *T. evansi*, *T. vivax*, *T. congolense*, *T. equiperdum*, *T. brucei*. Esta enfermedad se encuentra distribuida especialmente en las regiones tropical y subtropical, que por las características de sus ecosistemas favorecen la coexistencia del hemoparásito, vectores y reservorios, estableciéndose así las condiciones para la infección(20).

6.4.1 VECTORES: La mosca del caballo (*Tabanus*spp.) la mosca de la paleta (*Haematobia irritans*) y la mosca de los establos (*Stomoxys*spp.) figuran como los principales vectores de este hemoflagelado. Y en regiones donde esta mosca no está presente, el parásito se adapta a una transmisión mecánica por insectos hematófagos, como los dípteros picadores (Tábanos), como tabanideos *T. vivax* puede ser transmitido también por murciélagos ya que sirve como vector de esta especie. Además este parásito puede ser transmitido directamente a través de la leche madre a hijo o durante el coito(21).

6.5 MECANISMO DE TRANSMISION: Desarrolla una transmisión vectorial biológica, a través de las salivas del insecto transmisor succionador de sangre. Los tábanos son los

principales insectos artrópodos vectores dípteros de la Trypanosomiasis causada por *T. vivaxviennae* en América. La transmisión requiere que no hayan pasado más de quince minutos de alimentación sanguínea interrumpida, para transmitir el parásito al nuevo huésped. Todos los *Trypanosomas* contienen un kinetoplasto que contiene ADN mitocondrial, conformado por maxi y mini círculos (22). La presencia de maxi círculos es considerada necesaria para el *Trypanosoma* de la sección Salivaría, porque los maxi círculos son los que activan a la mitocondria para que ocurra el ciclo biológico del parásito en el vector para que el *Trypanosoma* se vuelva infectivo y pueda contagiar al animal. Esta transmisión cíclica, mantendrá la distribución del *Trypanosoma* y permitirá el intercambio genético dentro de las especies (23). En el proceso de tomar sangre, el insecto deposita saliva infectada con *Trypanosomas* en el tejido conectivo de la piel del animal. Los *Tripomastigotes* son inoculados en el mamífero. Es por eso que se dice que los insectos succionadores de sangre pueden transmitir *T. vivax* de un hospedador infectado a otro sano. En los *Trypanosomas* de transmisión mecánica no existe el intercambio genético, esto solo ocurre en los *Trypanosomas* de transmisión biológica. Se considera que la transmisión mecánica de ambos parásitos es mantenida principalmente por los tábanos. Hall y col. en 1993, reportaron que la estación de mayor abundancia de tábanos está relacionada con las épocas húmedas y hay una menor incidencia de la *Trypanosomiasis* en los animales de mayor edad debido a que estos animales están más tiempos quietos comparados con los animales jóvenes (24). La *Trypanosomiasis* en nuestro medio, es transmitida por la picadura de vectores mecánicos hematófagos, principalmente los Tábanos. Un factor esencial de la transmisión mecánica es la alimentación interrumpida de las moscas, que la especie que comúnmente afecta a Centro y sur América es la *T. vivaxviennae* el parásito se diferencia a una forma sanguínea, que se adapta a vivir en sangre de mamíferos. Otro aspecto muy importante en la diseminación del parásito, es el transporte indiscriminado de animales, entre zonas tropicales, lo que ha conllevado a su diseminación en muchas zonas del país. El transporte de animales contaminado implica un gran riesgo para animales susceptibles. Nunca expuestos al parásito, con graves efectos clínicos y patológicos sobre los mismos. La enfermedad crónica dura meses o años y termina en muerte del animal, estado de portador persistente o cura espontánea (14, 21).

6.5.1 FORMA DE TRANSMISIÓN SALIVARÍA:

Son los que se desarrolla en la probóscide y en las glándulas salivarias, es decir, en la estación anterior de los vectores, y se inyecta con la saliva en el momento de la succión de sangre de sus hospederos definitivos(19).

6.6 PATOLOGÍA Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS:

Tiene un periodo de incubación de 4-40 días en especie de caprino y ovino pero puede variar según las condiciones inmunológicas del animal y patogenicidad de las cepas, al igual que las condiciones ambientales. Consiste esencialmente en la destrucción de las células del sistema retículo endotelial y de otros tejidos del cuerpo, por el crecimiento y multiplicación de los parásitos dentro de las células, particularmente expuestas. La parasitosis puede provocar abortos en etapas tardías de la preñez. Los animales generalmente mueren principalmente por deficiencia de hierro, y se registran ciclos de fiebre intermitente relacionada con los picos de parasitemia. Los principales síntomas observados son palidez de las mucosas, edema, emaciación y aumento del volumen de los ganglios linfáticos y anemia profunda. En ovinos y caprinos la infección se desarrolla de manera crónica y puede persistir por años, presentando los síntomas en la etapa terminal de la enfermedad. Muchas veces las crías muestran una sintomatología clínica acentuada, lo que lleva a pensar que conviven con el parásito, se adaptan a él y lo toleran hasta cierto grado(25). La enfermedad causada por los miembros del género *Trypanosoma* se caracteriza por presentar formas agudas, crónicas y subcrónicas, en las que el animal puede morir súbitamente(18). En estudios con ovinos infectados por *Trypanosoma vivax* se ha establecido que la muerte se debe a las combinaciones de alteraciones microcirculatorias, daños cardíacos y anemia. Igualmente, como resultado de la infección crónica se pueden producir abortos, descenso de la producción láctea, reducción del rendimiento y mala calidad del semen lo que conlleva a pérdidas económicas elevadas. Se debe tener presente que la patogenia de la infección depende de la virulencia de la cepa, la susceptibilidad del hospedador, factores no específicos que

afecten al hospedador mamífero como lo pueden ser estrés, co-infecciones y condiciones epizootológicas regionales en ovinos, caprino y bovino(26).

6.6.1 INMUNOPATOLOGIA: la enfermedad tiende a estabilizarse cerca de 4-6 semanas post-infección, después de las cuales presentan anemia crónica. En las áreas endémicas, donde los animales están obligados a caminar para comer y beber y son picados repetidamente por los vectores, sobreviene un deterioro en pocos días hasta morir por falla cardíaca debido a la anemia. Aunque los cambios en sangre y tejidos que ocurren en la *Trypanosomiasis* están bien caracterizados, la anemia que ocurre durante la *Trypanosomiasis* aguda es debida principalmente a la remoción de gran número de células rojas por los macrófagos. Se han sugerido mecanismos responsables de la remoción excesiva por las células del sistema fagocítico mononuclear, de esta manera la membrana de las células rojas puede ser dañada físicamente durante la infección. El antígeno del *Trypanosoma* spp. y complejos anticuerpos-parásito pueden unirse a las células rojas. Por otra parte se señalan diversos factores del parásito como responsable del daño a las células rojas (hemolisinas, proteasas, neuraminidasas, fosfolipasas), además que los anticuerpos aberrantes (auto anticuerpos) pudieran unirse a las propias células rojas del hospedero por lo que las células rojas son fagocitadas por macrófagos activados(27). Este fenómeno, reconocido por Ross y Thompson en 1910, se manifiesta en oleadas sucesivas de parasitemia con intervalos de pocos días, cada una de las cuales representa la multiplicación de una población de un nuevo tipo antigénico. Su fase decreciente se corresponde con la destrucción de esta población por anticuerpos. Así, la persistencia de una infección se debe a la evasión de la respuesta inmune por un cambio repetido en su carácter antigénico(28). Los *Trypanosomas* tienen la capacidad de hacer variaciones antigénicas, donde cada período de parasitemia máxima corresponde al desarrollo de una población de *Trypanosomas* de un nuevo tipo antigénico. Cuando ocurre la eliminación de una población de un único tipo antigénico provoca una caída en los niveles sanguíneos de parásitos. No obstante, una cierta proporción del grupo de sobrevivientes desarrolla nuevos antígenos de superficie, y se origina una población nueva, la cual produce una vez más un período de parasitemia elevado. Esta fluctuación cíclica en los niveles de parásitos, donde cada valor máximo refleja en la aparición de una

población que tiene una nueva variante antigénica, que puede proseguir durante varios meses. Los antígenos variantes que se producen en las primeras etapas de la infección tienden a desarrollarse en una secuencia, la cual se puede predecir con facilidad. No obstante, a medida que la infección progresa, los antígenos variantes empiezan a producirse de una manera más aleatoria. Cuando se produce el cambio, antigénico, las glucoproteínas de la cubierta antigua se desprenden y se reemplazan por una proteína diferente desde el punto de vista antigénico. El análisis de la genética de este proceso indica que los *Trypanosomas* tienen gran cantidad de genes para las proteínas de la cubierta, y que la variación antigénica se produce como resultado de un re arreglo y selección de genes, producido al azar.

6.6.2 HEMATOCRITO: De acuerdo a Igbokwe, la variación de hematocrito refleja la presencia de material antigénico derivado de los *Trypanosomas* sobre los glóbulos rojos, lo que sugieren que la fagocitosis de los eritrocitos en órganos del sistema retículo endotelial(29). Los *Trypanosomas* producen un factor hemolítico que contribuye a la lisis de eritrocitos. Otras propuestas describen que ocurre un efecto traumático directo de los *Trypanosomas* sobre las células rojas, incremento de la fragilidad osmótica de los eritrocitos por efecto de la fiebre, auto-anticuerpos a eritrocitos adhesión de antígenos del *Trypanosoma* o complejos antígeno anticuerpo en la superficie del eritrocito y dishemopoyesis(30-32).

6.7 DIAGNÓSTICO

6.7.1 PARASITOLÓGICO

Los métodos parasitológicos están basados en la identificación de los *Trypanosomas* durante su fase sanguínea, pero tienen el problema de poseer una baja sensibilidad, no detectando hasta un 50% de animales infectados con baja parasitemia.

6.7.2 SEROLÓGICO:

Los métodos serológicos son importantes en el diagnóstico rápido de la *Trypanosomiasis*, especialmente, cuando ocurren focos de la enfermedad, posibilitando

de estemodo la reacción inmediata para el control de los focos. Los demás métodos darían un poco y tienen un mayor costo, siendo mayormente empleados en estudios epidemiológicos, con una mayor especificidad y sensibilidad en el diagnóstico de la enfermedad.

6.7.3 MOLECULAR (PCR)

Poseen una alta sensibilidad y especificidad, basada en la detección del ADN del parásito. El método Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), consiste en la amplificación de material genético (ADN de virus, bacterias, parásitos etc.), con la ayuda de reactivos específicos (Primers), basado en la acción de la polimerasa, que es la enzima que dirige la síntesis de ADN. Las ventajas más significativas de la PCR son, especificidad, donde se establecen condiciones de la reacción muy estrictas, de manera que sólo se pueda amplificar el microorganismo que estamos buscando detectar, siendo esta una gran ventaja sobre otros métodos(33). Puede detectar la presencia de parásitos con 5 días de infección y detecta la infección en fases finales de la enfermedad y en estados crónicos, cuando los niveles antigénicos y de parasitemia son indetectables por los métodos parasitológicos y serológicos(33, 34). Los *primers* para el diagnóstico de *T. vivax* fueron desarrollados usando como blanco de secuencias de satélites del ADN del parásito específicos del mismo (TVWA/B)(35) o ADN codificado (TWJ1/2), el cual codifica un gen de un antígeno expresado por *T. vivax* (Tv27)(33).

6.8 MEDIDAS DE CONTROL

Por el momento no se dispone de vacunas o algún otro medio inmunogeno capaz de prevenir la enfermedad, debido a la capacidad del patógeno de desarrollar nuevos antígenos de superficie. Sin embargo se recomienda, utilizar medicamentos preventivos como Isometamidium.

La lucha contra la *Trypanosomiasis* es difícil pues no solo los animales enfermos sino también los aparentemente sanos, son portadores de parásitos habiendo la posibilidad de un recrudecimiento de la sintomatología de la enfermedad en los animales, que posiblemente van acompañados de una elevación de los niveles de parasitemia suficientes para infectar los vectores hematófagos, siendo los tábanos los más

importante, diseminando la infección entre los animales del área. Los métodos de control a emplearse estarían destinados al tratamiento de los huéspedes infectados, y el ataque a los vectores se enfocan a las moscas picadoras que transmiten el hemoparásito en forma mecánica y a los animales que padecen la infección y pueden transmitirla a los animales sanos en sus zonas de origen o distantes cuando se movilizan o son transportados por el hombre(17). Se puede considerar que los métodos principales para evitar la diseminación es controlar los vectores, siendo lo más indicado el uso de insecticidas como las deltametrinas, en su presentación. Además de la vigilancia epidemiológica constante de los focos endémicos, promoviendo el uso de inmunostimulantes en los animales susceptibles. Ante la ocurrencia de una epidemia, medicar a los animales afectados y en riesgo con fármacos de eficiencia comprobada.

6.9 TRATAMIENTO

El Dimenazene, Homidium y el isometamidium son usados para el tratamiento y profilaxis de la *Trypanosomiasis* en bovinos, ovinos y caprinos. La Quinapiramina, Suraminy la melarsominason usados como agentes terapéuticos para infecciones, que de acuerdo a las observaciones obtenidas, parece ser el medicamento de elección y también ha demostrado ser efectiva para establecer estrategias de prevención contra *T. vivax* en regiones con alto riesgo(17).

VII.DISEÑO METODOLÓGICO

Tipo de estudio: Descriptivo de corte transversal

Población: Lo constituyeron 465 pelibuey ubicados en una finca de estudio Km 8 carretera a PoneLOYA.

Área de estudio: finca Km 8 carretera a PoneLOYA, departamento de León Nicaragua.

Muestra: se calculó por Muestreo no probabilístico por conveniencia. Una cantidad de 100 muestras pertenecientes al lote que presentaba esta sintomatología.

Criterios de inclusión: Fueron los pelibuey con signo de emaciación, que estaban ubicados en la finca de estudio, y que pertenecían al mismo lote.

Criterio de exclusión: Fueron todos los pelibuey que no presentaban signo de emaciación, y que no estaban ubicados en la finca de estudio, y los que no pertenecían al mismo lote.

Recolección de la información y de la muestra: Se le informó al dueño de los animales el objetivo del estudio y se solicitó su consentimiento. Se procedió a llenar ficha que consta de datos generales y específicos de cada animal. Se llenó la ficha y procedió a la recolección de la muestra que posteriormente se trasladó, al laboratorio de Microbiología y Parasitología de la facultad de Medicina de la UNAN-LEON, en donde se le realizaron las técnicas de extendido periférico tinción con Giemsa y la técnica de Inmunofluorescencia indirecta

Identificación del parásito por método directo o extendido de sangre: Para la realización de las técnicas parasitológicas se recolectaron muestras de sangre de la vena yugular de los animales, utilizando EDTA (1 mg/ml sangre) como anticoagulante y se

realizó un extendido periférico el cual fue teñido con colorante de Giemsa para identificar a los parásitos en base a las características morfológicas reportadas en la literatura(36).

Procedimiento de la Tinción de Giemsa: Se coloca una gota de sangre de 20 ul en el extremo de un portaobjeto limpio, y se prepara una extensión fina. La extensión se deja secar y se fija por dos minutos con alcohol metílico, se seca y luego se tiñe por 25 minutos con Giemsa (1 gota de Giemsa más 1ml de PBS PH 7.2); pasado el tiempo se escurre, se lava con agua del grifo y se seca, luego se le coloca una gota de aceite de inmersión y se observa al microscopio con lente de 100x. La detección del parásito, conduce a un diagnóstico parasitológico positivo(15, 17)

Procedimiento para la determinación del Hematocrito: Se llenó el capilar con sangre con anticoagulante, se llena por capilaridad 3/4 partes del capilar, con el dedo índice se tapó el extremo limpio del capilar, se limpia el exceso de sangre por fuera del capilar. Se le coloca el sello de plastilina en el extremo, se colocó el capilar en la microcentrífuga con el extremo de la plastilina hacia afuera, y se le colocó un contrapeso (otro capilar en el lado opuesto), se centrifuga a 3.000 rpm. durante 5 minutos, se lee el capilar confrontándolo con la tabla lectora(8).

Evaluación de la condición corporal: Esto fue evaluados según estándares internacionales establecidos para cada tipo de especie animal en este caso en el ovino. Se realiza en base a una técnica fácil de aplicar, con base a una escala los animales se caracterizan desde sub-nutridos ("flacos, y/o con caquexia"), hasta sobre-alimentados ("gordos, obesos"). Esto indica el balance del animal entre entrada, (consumo, digestión y metabolismo) y salida nutrientes, (crecimiento, gestación, producción, enfermedad). Esto significa una herramienta de diagnóstico nutricional general del animal. Las medidas corporales que se realizan fueron: Ancho, largo y profundidad de la cabeza; Ancho, largo y profundidad del tórax; Ancho anterior, ancho posterior y largo de la grupa; Altura de la cruz y largo del cuerpo y Perímetro torácico, abdominal y de la caña, o simplemente se colocan en una balanza considerándose peso óptimo del animal 30-40 kilogramos además se evalúan algunos signos clínicos como temperatura considerándose normal

39°C menor a este valor , se considera hipotermia y por encima de este valor se considera proceso febril. Se considera que más de tres evacuaciones diarias son síntomas de diarrea.

Prueba de Inmunofluorescencia indirecta

Preparación del antígeno.

La detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma* en este estudio se realizó mediante IFI, la cual fue desarrollada y optimizada en el laboratorio. Con el fin de obtener el antígeno óptimo.

Procedimiento 1.

Se inocularon en las venas de dos conejo con 4 ml de sangre obtenida de pelibuey clínicamente enfermo con *Trypanosoma* confirmados por método directo y extendido periférico, Ocho días posteriores a la inoculación los conejos eran llevados al laboratorio para extraer sangre venosa y detectar por método directo y tinción de Giemsa, la presencia del parasito esta observación se realizó durante un periodo de cuatro semanas, obteniendo resultados negativos en todos los conejos inoculados. Estos procedimientos fueron realizados en su estudio por (Martínez, Machado, Cáceres y Troyer).(37, 38)

Procedimiento 2.

Se extrajo 200 ml de sangre venosa de un conejo sano y se homogenizó con perlas de vidrio neutro paradesfibrinar la sangre y ser utilizada en el medio HEMIN específico para cultivo y crecimiento de *Trypanosoma*. Al medio se le agrego 3ml de sangrepositivas con *Trypanosoma* de pelibuey extraída con EDTA y confirmado por método directo y extendido periférico, se revisaron los tubos cada 3 días por medio de un examen directo, observando cada tubo en el microscopio de luz invertida al igual que se observó microscópicamente, por preparación al fresco de la sangre cultivada por un periodo de 15 días obteniendo resultados negativos. Estos procedimientos fueron realizados en su estudio por (Espinoza, Tolero, Sandoval).(39, 40).

Procedimiento 3.

Inoculamos 200ul de sangre de pelibuey con *Trypanosoma* confirmado positivo por método directo y extendido periférico a 6 ratones, en el área del peritoneo. Luego cada 4 días la sangre de los ratones era revisados por preparación al fresco de la muestra de sangre obtenida del extremo de la cola. Este procedimiento se realizó por un periodo de 20 días sin obtener resultado positivo. Estos procedimientos fueron realizados en su estudio por (Mancebo, Monzón). (7, 41).

Procedimiento 4.

A 5 pelibuey infectado con *Trypanosoma* confirmado por método directo y extendido periférico se le extrajeron 50 ml de sangre con EDTA. Para separar los parásitos de la sangre completa, se utilizó la técnica de centrifugación extrayendo la capa de glóbulos blancos entre los glóbulos rojos y el plasma, estos se lavaron cuatro veces con solución de PBS, (pH 7.2) por 10 minutos a 3000 rpm. En cada lavada se descartaba el sobrenadante y se resuspendía el sedimento con 5 ml de solución de PBS hasta obtener un antígeno limpio, se realizó dilución 1:5 se fijó el antígeno en la láminas colocando 10 ul de la dilución las láminas, se secaron, y se almacenaron a -20°C hasta su uso, Estos procedimientos fueron realizados en su estudio por (Wood Ronger, Kuanz).(42).

Procedimiento de la técnica de IFI:

Se colocó 10ul de las diluciones 1/4, 1/6, 1/8 en una lámina que contenía el antígeno fijado, se dejó reaccionar durante 60 minutos a 37° c en cámara húmeda. Se lavó tres veces sucesivas con PBS durante 5 minutos cada vez. Se añadió un conjugado específico anti IgG anti cabra más azul de Evans como colorante contraste. Se dejó durante 60 minutos a 37°C en cámara húmeda, los portas se vuelven a lavar en PBS, tres veces por 5 minutos cada vez y se colocó una gota de glicerina bufferada para proceder a examinar en microscopio de fluorescencia.

Para descartar reacciones cruzadas: Se seleccionaron sueros de referencias entregados por el MAGFOR central al laboratorio de CEVEDI de Medicina Veterinaria

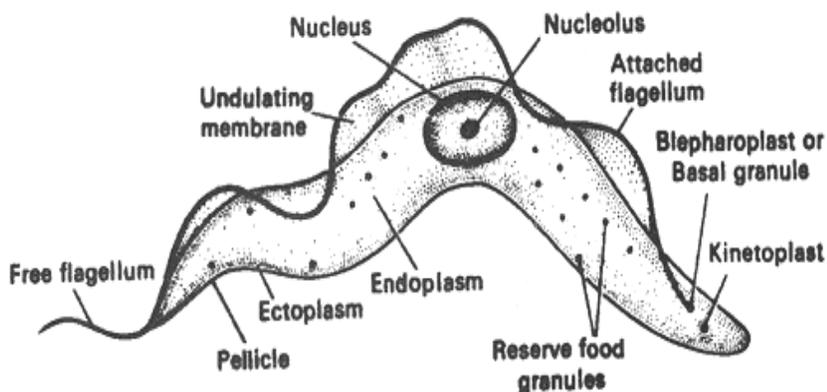
UNAN-LEON que pudieron haber dado reacciones cruzadas, 10 sueros positivos para Babesia , 10 positivos para Anaplasmosis, y 10 positivos para *Leptospirosis*, 10 sueros de humanos negativos para *Trypanosoma Cruzi*. Se procesaron los sueros positivos a Trypanosoma, por Tinción de Giemsa, los treinta sueros de referencia y los 10 sueros de humanos negativos a Trypanosoma Cruzi, en una (diluciones 1/4, 1/6, 1/8) considerándose positivos aquellos con lecturas de dilución mayor o igual a 1/4 y negativos aquellos por debajo de esta dilución.

Para estandarizar el conjugado específico anti IgG anti cabra más azul de Evans como colorante contraste, se realizó diluciones de 1/64 hasta 1/512 siendo la dilución 1/128 la que permitió observar claramente el contraste del parásito, además se estandarizó el azul de Evans en una dilución 1/20 lo que permitió ver claramente la morfología del parásito con fluorescencia (43). Luego de estandarizada la técnica se procedió a analizar los sueros recolectados para este estudio. Habiendo utilizado también como sueros controles positivos aquellos que en el extendido periférico se pudo identificar claramente la morfología del parásito.

Procesamiento y análisis de los resultados: Los datos obtenidos fueron procesados utilizando el programa SPSS versión 16.

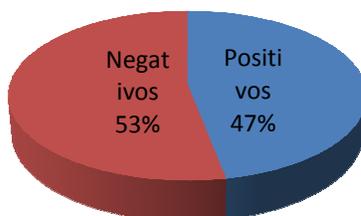
VIII. RESULTADOS

Las observaciones microscópica de los frotis sanguíneos de los animales infectados permitió reconocer y observar las características morfométricas de los *Trypanosomas* observados: extremo posterior romo o redondeado, kinetoplasto grande, membrana ondulante poco desarrollada, flagelo corto; y medidas que variaban de 30µm a 39 µm, lo que corroboró que el hemoparásito observado corresponde a una especie de *Trypanosoma spp.*



El estudio Microscópico de los frotis sanguíneos teñidos con colorante de Giemsa, permitió la identificación morfológica de *Trypanosoma* en 47% de las muestras estudiadas.

GRAFICO No. 1 Prevalencia de *Trypanosoma spp* en los frotis sanguíneos teñidos con colorante de Giemsa.



Fuente Primaria

Al analizar el hematocrito de las muestras obtenidas se observó que. La media del hematocrito de los ovinos que presentaban *Trypanosoma* por medio de la Tinción de Giemsa fue del 22% (DE=8.9). La media del hematocrito de los ovinos con ausencia de *Trypanosoma* por medio de la Tinción de Giemsa fue de 18% (DE=5.3).

Tabla No.1 Media y Desviación estándar del Hematocrito en muestras con presencia y ausencia de *Trypanosoma spp*

	HEMATOCRITO	
	Presencia de <i>Trypanosoma spp</i> en la Tinción	Ausencia de <i>Trypanosoma spp</i> en la Tinción
MEDIA	22%	18%
DE	8.9	5.3

Fuente Primaria

En la evaluación de la condición corporal, los ovinos positivos tanto a la tinción con Giemsa como a la técnica de IFI, la hipotermia presenta una frecuencia moderada además de presentar significancia estadística, (Tinción 19% $p=0.0028$), (IFI 32% $p=0.0147$) el siguiente signo fue la debilidad aunque en la técnica de Tinción, no presenta significancia estadística, podemos observar que tiene una frecuencia alta de (87%), en cambio en la Técnica de IFI se observa frecuencia alta de (88% $p=0.000$) y significancia estadística, de igual manera, la desnutrición no presenta significancia estadística pero si alta frecuencia (Tinción 40%), (IFI 45%) .

TablaNo.2. Evolución de la condición corporal de los ovinos positivos y sus signos clínicos.

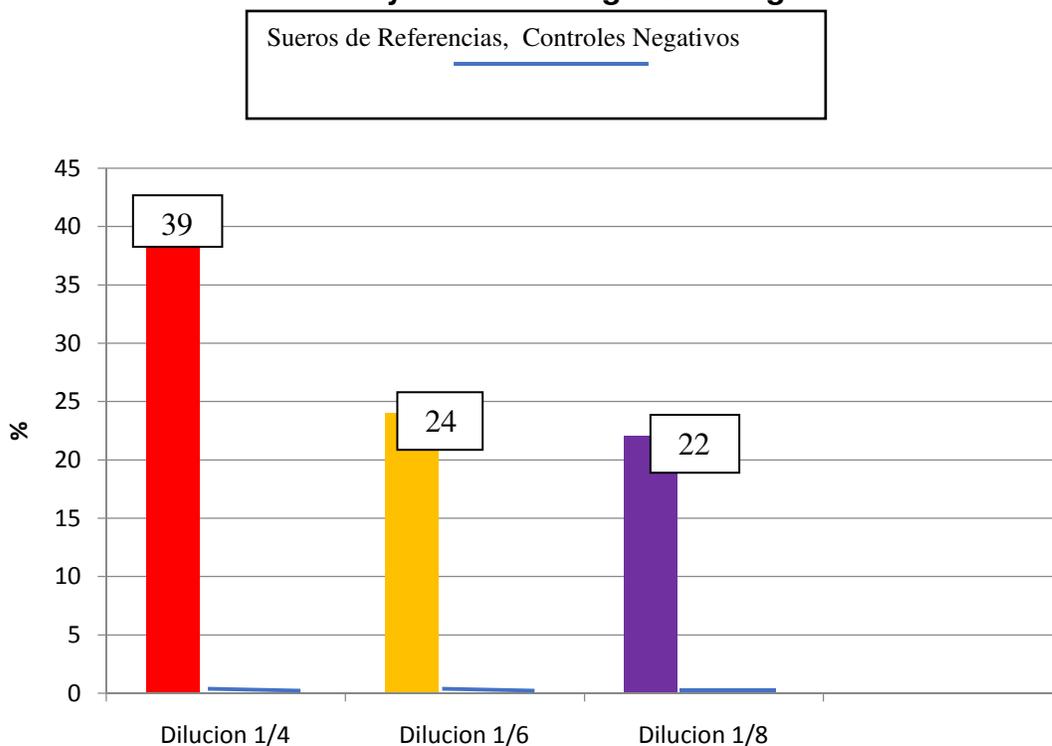
Parámetros	TINCION GIEMSA			IFI		
	Positivos (%) n=47	IC (95%)	Valor de <i>p</i>	Positivos (%) n=85	IC (95%)	Valor de <i>p</i>
Temperatura						
Hipotermia ($T < 37^{\circ}\text{C}$)	9 (19)	0.10 – 0.65	0.0028	27 (32)	0.07 – 0.72	0.0147
Fiebre ($T \geq 39^{\circ}\text{C}$)	14 (30)	0.59 – 3.55	0.2791	22 (26)	0.27 – 3.32	0.5865
Pérdida del apetito	16 (34)	0.51 – 2.76	0.4212	25 (29)	0.15 – 1.45	0.1537
Debilidad	41 (87)	0.94 – 7.66	0.474	75 (88)	5.50 – 77.2	0.000
Diarrea	2 (4)	0.09 – 3.11	0.3979	3 (4)	0.02 - 0.81	0.0420
Grado de nutrición*						
Nutrido	8 (17)	0.23 – 1.69	0.2511	20 (24)	0.53 – 34.8	0.1244
Sobre- nutrido	20 (43)	1.06 – 6.01	0.0275	26 (31)	0.21 – 2.04	0.3300
Desnutrido	19 (40)	0.27 – 1.34	0.1492	39 (45)	0.24 – 2.22	0.3993

Fuente Primaria

Los resultados positivos obtenidos por medio de la técnica de IFI reflejaron un 85% de seroprevalencia de las muestras procesadas.

Al compararlos resultados de la dilución de la IFI se encontró que los que resultaron positivos para la dilución 1/4 fueron 39 sueros, para la dilución 1/6 fueron positivos 24 sueros para la dilución 1/8 fueron positivos 22 sueros. Por lo que la mayoría de las muestras de sueros tenían menor concentración de anticuerpos.

Gráfico No.2Ovinos Positivos a Inmunofluorescencia Indirecta, sueros de referencias y controles negativos según la dilución.



Fuente Primaria

Al Compararlos resultados de la tinción de Giemsa con los resultados de la IFI según el sexo, se encontró que el 49% de las hembras resultaron positivos, y en los machos solo el 30%, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. ($p=0,256$).Al relacionar el sexo de los ovinos y los resultados de la técnica de Inmunofluorescencia se encontró que el 91% de las hembras resultaron positivos mediante esta técnica mientras

que en los machos solo el 30% resultaron positivos, mostrando una relación estadísticamente significativa ($p=0.00$)

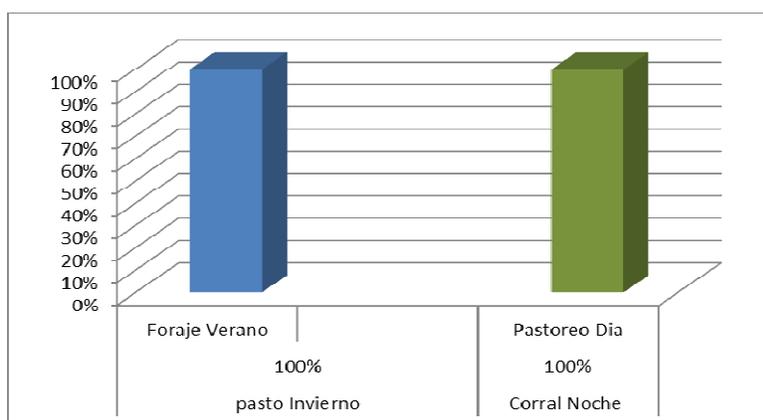
Tabla No. 3. Frecuencia de ovinos positivos según sexo por Tinción de Giemsa e Inmunofluorescencia Indirecta

Sexo	Muestras (n)	Animales positivos			
		T. Giemsa ($p= 0.256$)		IFI ($p=0.00$)	
		n	%	n	%
Machos	10	3	30	3	30
Hembras	90	44	49	82	91
Total	100	47		85	

Fuente Primaria

En la alimentación y desplazamiento, también cabe mencionar que durante las primeras horas del día los animales se encontraban en el campo (pastoreo) y a final de la tarde regresaban (corral). Por lo que de igual manera se alimentaban durante el invierno de pasto y por el verano de forraje.

Gráfico.3. Alimentación y Desplazamiento de los ovinos estudiados



Fuente Primaria

IX. DISCUSIÓN:

En Nicaragua no se ha reportado estudios que permitan conocer la prevalencia de infecciones de *Trypanosoma* spp en pelibuey. Este estudio presenta los resultados de *Trypanosoma* spp en un rebaño de pelibuey en el municipio de León, Nicaragua.

El estudio microscópico de los frotis sanguíneos coloreados reveló la presencia de *Trypanosoma* spp, en base a las características morfológicas y hábitat de esta especie parasitaria. Las características morfométricas de los *Trypanosoma* encontrados por la técnica del frotis se analizaron en base a lo que la literatura refiere tales como; extremo posterior romo o redondeado, kinetoplasto grande, membrana ondulante poco desarrollada, flagelo corto; y medidas que variaban de 30µm a 39 µm, lo que corroboró que la especie de *hemoparásito* observada en el método directo corresponde a *Trypanosoma* spp (15, 44). Según un estudio realizado por Hoare en 1972 en Lima Perú, el rango de largo del *Trypanosoma vivax* de 32µm a 39µm, (incluyendo el flagelo libre) (19). Igualmente en un estudio realizado en la provincia de Formosa, Argentina en Agosto del 2010 la especie pudo ser confirmada por el clásico movimiento vibratorio de los parásitos entre los hematíes; a los que se le agregaron estas mismas características morfológicas en frotis coloreada con Giemsa (41). (1).

El estudio microscópico de los frotis sanguíneos teñidos con colorante de Giemsa, permitió la identificación morfológica en 47% de las muestras estudiadas para *Trypanosoma* spp. Un estudio en ovinos realizado por primera vez en Costa Rica por Oliveira y cols. en el 2007 mostró una prevalencia semejante a la encontrada en el presente estudio (49.1%), en el que se utilizó los mismos criterios para la identificación y clasificación de los parásitos (9). Sin embargo debe tomarse en cuenta que el frotis de extendido periférico tiene baja sensibilidad.

Con respecto al hematocrito en los ovinos muestreados, se encontró que la media del hematocrito fue mayor en los ovinos con presencia de parásitos (22%) con una desviación estándar de (DE. 8.9) que la media en aquellos con ausencia de parásitos de

(18%), con una desviación estándar de (DE. 5.3) al hacer la comparación de media se refleja que tal diferencia no es estadísticamente significativa ($p > 0.279$). Se definió como animales anémicos aquellos que presentaron un valor del hematocrito inferior a 40% (determinado en los tubos capilares para la técnica del hematocrito). Ya que las literaturas consultadas mencionan que todo ovino joven y con un peso promedio de 45-55 Kg, debe presentar un hematocrito promedio de 40% - 45%. Estas observaciones son similares a los informados en otras investigaciones sobre *Trypanosomiasis* en rumiantes causada por el *T. vivax*(45)(46)(47). Suárez en el 2000 realizó un estudio experimental. Lima Perú cuyo objetivo fue determinar el comportamiento parasitológico y hematológico en pelibuey infectado con *Trypanosoma vivax*, los resultados demostraron que el 86%(43/50) resultaron positivas a *Trypanosomas*, y mostraban valores bajos de Hematocrito (16 a 23%)(48). Igualmente un estudio realizado por García y cols. En el 2006 en el estado de Yucatán, México el valor del hematocrito era inferior al 20% en un rebaño de ovejas con 75% de seropositivas.

En este estudio, el signo clínico cardinal observado en los ovinos positivos fue la debilidad, en segundo lugar la desnutrición seguido de la hipotermia(10, 49-51). En un estudio realizado por Pellin y cols. en el 2003 en Venezuela los signos clínicos fueron más evidentes en el segundo mes de la infección, período en el cual los animales presentaron una condición física deteriorada, con desnutrición que lo llevaba a una debilidad presentando elevadas parasitemias antes de la muerte(52). Las manifestaciones clínicas de la enfermedad, y la muerte de 2 ovinos infectados, presentando síntomas como: niveles bajos del hematocrito, hipotermia, decaimiento y debilidad, reflejaron que esta cepa de *T. vivax*, presentó una moderada patogenicidad. Un comportamiento patogénico similar fue observado en ovinos y caprinos infectados experimentalmente con aislados venezolanos de *T. vivax* en 1994 por Sandoval.(40). Estas observaciones contrastan con lo observado por Shaw y Lainson (1972), quienes afirman que en Sur América la enfermedad ocasionada por el *T. vivax* en los rumiantes es predominantemente crónica, con manifestaciones clínicas referidas a emaciación progresiva, anemia, aumento variable de nódulos linfáticos, con muerte observadas solo ocasionalmente(53).

La técnica de IFI mostró una prevalencia del 85% de Anticuerpos anti- *Trypanosoma*. Este dato es comparable a un estudio realizado en Venezuela en donde se reportan seroprevalencia variables de anticuerpo anti-*Trypanosoma* en rebaño de ovinos y caprinos para *T. vivax*, (*vivaxvivax*, *vivaxviennae*) que oscilan entre el 75,7% al 82,3%(10). En un estudio realizado por González y cols. en el 2007, se obtuvo una seroprevalencia de 84,5% en ovinos del estado Carabobo de Venezuela(54). En otro estudio realizado por Duno y cols. En 1992, en la región nororiental del estado Falcón Venezuela, se diagnosticó el parásito por la Tinción de Giemsa solamente en 1% de los ovinos, mientras que 57,8% presentaron anticuerpos anti-T. Vivax. Similarmente, Guillén y cols. en el 2001 encontró un 87% de prevalencia a *T. vivax* en ovinos de los llanos Venezolanos en comparación con otras regiones(55, 56).

Al comparar el sexo de los ovinos y resultados de la Tinción de Giemsa se encontró que el 49% de las hembras resultaron positivos, y los machos solo el 30%, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativa. Al relacionar el sexo de los ovinos y los resultados de la técnica de Inmunofluorescencia se encontró que el 91% de las hembras resultaron positivos, mientras que solo el 30% de los machos resultaron positivos y presentaban significancia estadística. Estos resultados son semejantes a los estudios de Sandoval y cols. en el Valle de Aroa en 1998 y en un estudio experimental en la Universidad Central de Maracay en Venezuela Duno y cols. en 1992, quienes señalan que en las tasas de infección se presentaron diferencias entre machos y hembras siendo estas quienes presentan mayor infección(55, 57). Otro estudio realizado por Claribel Suarez y cols. en el 2009 en cuatro hatos ganaderos distribuidos en cuatro llanos orientales y occidentales de Venezuela, demostró que el sexo no era un factor de riesgo asociado a la *Trypanosomiasis* sin embargo, las hembras presentaban mayor porcentaje de infección(58).

Al preguntar acerca de la alimentación y la forma de ambular por la finca de los animales, nos informaron que estos durante las primeras horas del día se encontraban en el campo (pastoreo) y a final de la tarde regresaban al (corral). Por lo que de igual manera se alimentaban durante el invierno de pasto y por el verano de forraje. Según

estudios realizados en el Dpto. de Santa Cruz Paraguay, se demuestra que la época lluviosa representa el período de mayor riesgo para la transmisión de la Trypanosomiasis, debido a la abundancia de tábanos que son los vectores que transmiten la enfermedad, aunque para el animal es más ventajoso salir a pastorear y alimentarse de pasto(24). En un estudio de cohorte prospectivo, realizado por Espinoza y González en las sabanas del Estado de Guárico en 1999(59) se pudo relacionar menor incidencia de la enfermedad cuando los animales no pastoreaban, la mayor frecuencia se obtuvo en los meses de lluvias, lo cual podría explicarse por la concentración de los rebaños dada la abundancia de pasto y de agua en esta época. Mateus y González en 1991 en Colombia encontraron que el número de animales enfermos se incrementaba a medida que el período lluvioso era más intenso (60). Desque y García en 1993 relacionaron la infección con la presencia de abundantes vectores tábanos, situación que ocurre en el período lluvioso, de igual manera estos mencionan que durante el inicio del período lluvioso, se presentaban nuevos casos de animales infectados, pero que al final del período en los últimos dos meses, que las lluvias eran más intensas la incidencia aumentaba a un más. (58).

X. CONCLUSIONES

1. Se identificó la presencia de *T. vivax* en el 47% de las muestras de sangre de ovinos enfermos mediante la técnica de tinción de Giemsa.
2. Se identificaron anticuerpos anti-*Trypanosomas* en el 85% de las muestras mediante la técnica IFI, se determinó como título umbral la dilución 1/4.
3. Las hembras resultaron más afectadas que los machos según las dos técnicas aplicadas; En tanto que la característica clínica más relevante que presentaron los especímenes estudiados fue la debilidad.

XI. RECOMENDACION

1. Realizar estudios aleatorios en diferentes zonas y épocas del año con el fin de establecer curvas de endemidad y poder determinar si existe brotes o epidemias de esta Trypanosomiasis en el país.
2. Identificar al vector específico de este parásito.
3. Continuar con la preparación del antígeno para, estandarizar pruebas de Tamizaje para ser utilizadas como prueba de campo.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Davila AM, Silva RA. Animal Trypanosomiasis in South America: Current status, partnership, and information technology. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000;916(1):199-212.
2. Gibson W. Species concepts for trypanosomes: from morphological to molecular definitions? *Kinetoplastid Biol Dis*. 2003 Oct 28;2(1):10. PubMed PMID: 14613500.
3. Tamarit A, Gutierrez C, Arroyo R, Jimenez V, Zagalá G, Bosch I, et al. Trypanosoma evansi infection in mainland Spain. *Veterinary parasitology*. 2010;167(1):74-6.
4. INEC CNA. 2002. Available from: <http://www.inec.gob.ni/>.
5. Ugarte P. La oveja Pelibuey en Nicaragua, su historia.2004. Available from: <http://pelibueynicaragua.galeon.com>.
6. Batista J, Oliveira A, Rodrigues C, Damasceno C, Oliveira I, Alves H, et al. Infection by Trypanosoma vivax in goats and sheep in the Brazilian semiarid region: From acute disease outbreak to chronic cryptic infection. *Veterinary parasitology*. 2009;165(1):131-5.
7. OIE. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Capítulo 2.5.15. -Tripanosomiasis. 2004.
8. Reyna-Bello. *Parasitología animal*.2008.
9. Oliveira JB, Hernández-Gamboa J, Jiménez-Alfaro C, Zeledón-Araya R, Blandón-Naranjo M, Urbina-Villalobos A. First report of Trypanosoma vivax infection in dairy cattle from Costa Rica. Primer informe de infección de Trypanosoma vivax en ganado lechero de Costa Rica. *Veterinary Parasitology*. 2009;163(1/2):136-9.
10. ROA N CF, R. ORDOÑEZ, L. SOLER, A. RIVAS, R. TAMASAUkas, H. RUIZ, M. COBO y A. AGUIRRE. Relación entre la prevalencia del Trypanosoma vivax y la respuesta reproductiva en hembras gestantes en un rebaño cerrado de ovinos en Aragua, Venezuela. I Simposium Nacional Hemoparásitos y sus Vectores Maracay Venezuela. 1998:64 p.
11. Tamasaukas R, ROA N, ASO P, Ruiz H, Aguirre A, ORDÓÑEZ LSYR. Diagnóstico por QBC e IFI de Trypanosoma vivax en ovinos estabulados en un rebaño cerrado del estado Aragua, Venezuela. I Simposium Nacional Hemoparásitos y sus Vectores Maracay Venezuela. 1998.
12. I. T. Primer reporte de Trypanosoma en León, Nicaragua. 2010.
13. Desquesnes M, Bossard G, Patrel D, Herder S, Patout O, Lepetitcolin E, et al. First outbreak of Trypanosoma evansi in camels in metropolitan France. *Veterinary Record*. 2008;162(23):750-2.
14. Gibson W, Bailey M. The development of Trypanosoma brucei within the tsetse fly midgut observed using green fluorescent trypanosomes. *Kinetoplastid biology and disease*. 2003
15. Soulsby E. *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*1987. 823 p.
16. Osório ALAR, Madruga CR, Desquesnes M, Soares CO, Ribeiro LRR, Costa SCGd. Trypanosoma (Duttonella) vivax: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World-a review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2008;103(1):1-13.
17. Aguilar Machado S R. Trypanosoma evansi y Trypanosoma vivax: Biología, Epizootiología y Métodos Diagnósticos1996.
18. Gutierrez C, CORBERA JA, Juste MC, Doreste F, Morales I. Clinical, hematological, and biochemical findings in an outbreak of abortion and neonatal mortality associated with Trypanosoma evansi infection in dromedary camels. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006;1081(1):325-7.

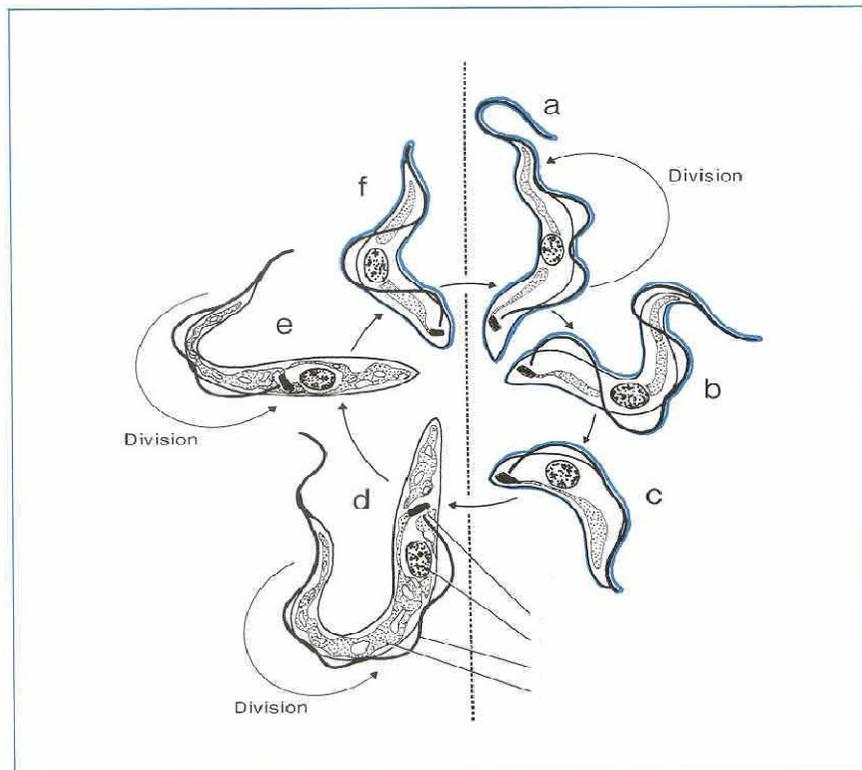
19. Hoare CA. The trypanosomes of mammals. A zoological monograph. The trypanosomes of mammals A zoological monograph. 1972.
20. Gibson W. Resolution of the species problem in African trypanosomes. International journal for parasitology. 2007;37(8):829-38.
21. Peacock L, Ferris V, Sharma R, Sunter J, Bailey M, Carrington M, et al. Identification of the meiotic life cycle stage of *Trypanosoma brucei* in the tsetse fly. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2011;108(9):3671-6.
22. Borst P, Fase-Fowler F, Gibson WC. Kinetoplast DNA of *Trypanosoma evansi*. Molecular and biochemical parasitology. 1987;23(1):31-8.
23. Stevens JR, Gibson W. The molecular evolution of trypanosomes. Parasitology Today. 1999;15(11):432-7.
24. Hall BF, editor *Trypanosoma cruzi*: mechanisms for entry into host cells. Seminars in cell biology; 1993: Elsevier.
25. Hasan MU, Muhammad G, Gutierrez C, Iqbal Z, Shakoor A, Jabbar A. Prevalence of *Trypanosoma evansi* Infection in Equines and Camels in the Punjab Region, Pakistan. Annals of the New York Academy of Sciences. 2006;1081(1):322-4.
26. Espinosa E, Sandoval E, Mavare M, González N, Rangel L. Comparación de la serie eritrocítica y leucocítica en ovejas y cabras infectadas con *Trypanosoma vivax*. Vet Tropical. 2000;1(25):29-39.
27. Murray M, Dexter TM. Anaemia in bovine African trypanosomiasis. A review. Acta tropica. 1988;45(4):389-432.
28. Lumsden W. Principles of viable preservation of parasitic protozoa. International journal for parasitology. 1972;2(3):327-32.
29. Igbokwe I. Mechanisms of cellular injury in African trypanosomiasis. Veterinary Bulletin. 1994;64(7):611-20.
30. Suliman H, Feldman B. Pathogenesis and aetiology of anaemia in trypanosomiasis with special reference to *T. brucei* and *T. evansi*. Veterinary Bulletin (United Kingdom). 1989.
31. Assoku R, Gardiner P. Detection of antibodies to platelets and erythrocytes during infection with haemorrhage-causing *Trypanosoma vivax* in ayrshire cattle. Veterinary Parasitology. 1989;31(3):199-216.
32. ILRAD. Why do livestock infected with trypanosomes develop anaemia? International Laboratory for Research on Animal Diseases. 1990;8:1-6.
33. Masake R, Majiwa P, Moloo S, Makau J, Njuguna J, Maina M, et al. ole-MoiYoi, OK, Nantulya, VM, 1997. Sensitive and specific detection of *Trypanosoma vivax* using the polymerase chain reaction. Exp Parasitol.85(2):193-205.
34. Artama W, Agey M, Donelson J. DNA comparisons of *Trypanosoma evansi* (Indonesia) and *Trypanosoma brucei* spp. Parasitology. 1992;104(01):67-74.
35. Masiga DK, McNamara JJ, Gibson WC. A repetitive DNA sequence specific fo *Trypanosoma* (*Nannomonas*) *godfreyi*. Veterinary parasitology. 1996;62(1):27-33.
36. Monzón C, Mancebo O. Diagnostico parasitologico de *Trypanosoma equinum* Voges, 1901 en establecimiento ganaderos del area subtropical Argentina. Vet Argent. 1986;3:997-1000.
37. Machado FS, Martins GA, Aliberti JC, Mestriner FL, Cunha FQ, Silva JS. *Trypanosoma cruzi*-infected cardiomyocytes produce chemokines and cytokines that trigger potent nitric oxide-dependent trypanocidal activity. Circulation. 2000;102(24):3003-8.
38. Cáceres AG, Troyes L, González-Pérez A, Llontop E, Bonilla C, Heredia N, et al. Enfermedad de Chagas en la región nororiental del Perú. I. Triatomos (Hemiptera, Reduviidae) presentes en

- Cajamarca y Amazonas. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 2002;19(1):17-23.
39. Espinoza E, Tortolero E. Un método simple de conservación de *Trypanosoma vivax* para su uso en infecciones experimentales. Hemoparásitos: Biología y Diagnóstico Universidad Simón Bolívar Caracas. 1990.
40. Sandoval E. Variaciones fisiopatológicas de la anemia en ovejas infectadas experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. Trabajo de Grado de Maestría Maracay, Ven Universidad Central de Venezuela Facultad de Ciencias Veterinarias Postgrado en Medicina Veterinaria. 1994.
41. Monzón CM, Mancebo OA, Roux JP. Comparison between six parasitological methods for diagnosis of *Trypanosoma evansi* in the subtropical area of Argentina. veterinary Parasitology. 1990;36(1):141-6.
42. Woo P, Rogers D. A statistical study of the sensitivity of the haematocrit centrifuge technique in the detection of trypanosomes in blood. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 1974;68(4):319-26.
43. Mkunza F, W. M. Olaho, et al. . Partial protection against natural trypanosomiasis after vaccination with a flagellar pocket antigen from *Trypanosoma brucei rhodesiense*. Vaccine. 2005;13(2) 151-4.
44. Dwinger R, Hall M. Trypanosomosis due to *Trypanosoma vivax* in ruminants in Latin America. Animal Tripanosomosis: Diagnosis and Epidemiology. 2000:50-5.
45. Anosa V, Isoun T. Haematological studies on *Trypanosoma vivax* infection of goats and intact and splenectomized sheep. Journal of comparative pathology. 1980;90(1):155-68.
46. Maikaje DB. Some aspects of the epidemiology and drug sensitivity of bovine trypanosomoses in Kaura Local Government Area of Kaduna State. PhD Thesis, Ahmadu Bello University, Zaria, Nigeria. 1998:147 pp.
47. García F, Rivera M, Ortega M, Suárez C. Trypanosomiasis equina causada por *Trypanosoma evansi* en tres hatos ganaderos del Estado Apure, Venezuela. Rev Fac Cs Vet. 2000;41:91-9.
48. Suarez PC. Evaluación de los parámetros de la coagulación sanguínea en ovinos infectados experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. Division de Postgrado FCV-UCV (Trabajo de grado). 2000:109 pp.
49. Martínez N, Herrera P, Birbe B, Domínguez C, González C, Madrid-Bury N, et al. Relación entre la condición corporal y la respuesta reproductiva de hembras bovinas de doble propósito. Mejora de la Ganadería Mestiza de Doble Propósito Astro Data, Maracaibo, Venezuela. 1998;398:412.
50. Ordoñez J, Bastardo, J., Chanto, C., Betancourt, R., Brito, C. Observaciones preliminares sobre la evaluación de condición corporal mediante contajes de costillas y su efecto sobre la tasa de concepción. . II Congreso Venezolano de Zootecnia. 1980:96 - 7 pp.
51. Menendez M, Wiltbank, J. H. Calificación subjetiva de condición física y zoometría en vacas de vientre para carne. Técnicas pecuarias en México. 1985a;48:68 - 77.
52. Pellín CES, González FAG, Baldizán G, Linarez FFM. Comportamiento parasitológico, clínico y hematológico em ovinos infectados experimentalmente con un aislado venezolano de *Trypanosoma vivax*. Vet Tropical. 2003;28(1).
53. Lainson RaS, J. J. Leishmaniasis of the New World: Taxonomic problems. Brit medo Buli. 1972;28:44.
54. González JR, Meléndez RD. Seroprevalencia de la Tripanosomosis y Anaplasmosis Bovina en el Municipio Juan José Mora del Estado Carabobo, Venezuela, Mediante la Técnica de Elisa. Revista Científica. 2007;17(5):449-55.
-

55. DUNO F, F. GARCÍA y M. RIVERA. Prevalencia de la tripanosomiasis bovina en la Región Nor-Oriental del estado Falcón. Acta Cient Venezolana. 1992; 43 (Supl. 1):256.
56. Guillén AT, León EA, Aragort W, Silva M. Diagnóstico de hemoparásitos en el Instituto de Investigaciones Veterinarias. Período 1986-2000. Centro. 2001;317:440.
57. Sandoval E, Espinoza E, González N, Morales G, Montilla W, Jiménez D. Encuesta serohematológica en bovinos tripanosusceptibles de dos unidades agro-ecológicas del Valle de Aroa. Rev Cient FCV-LUZ VIII. 1998;3.
58. Suárez C, García F, Román D, Coronado A, Perrone T, Reyna A, et al. Factores de riesgo asociados a la tripanosomosis bovina en explotaciones ganaderas de Venezuela. Zootecnia Trop. 2009;27:363-72.
- 59.R. Espinoza, E. González incidencia serológica de Trypanosoma en becerro a pastoreo en sabanas del estado de Guárico Vet. Trop1999
60. Mateus y González características de un brote de Trypanosoma vivax en Colombia 1991 Cuba de Ciencias Veterinaria.CU.Vol.22

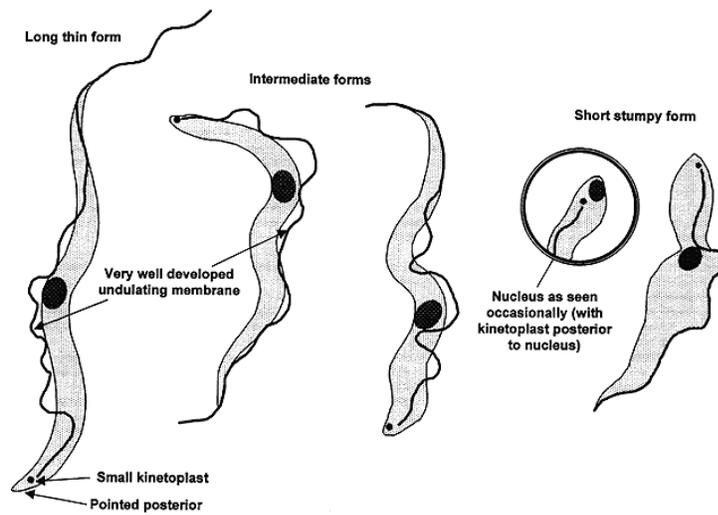
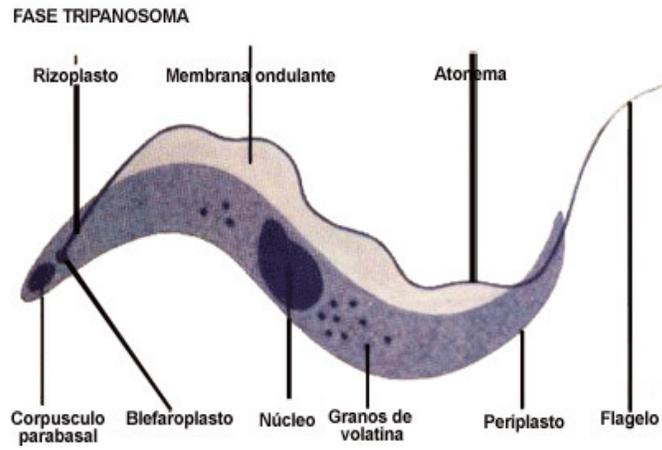
XIII. ANEXOS

CICLO BIOLÓGICO DE *TRYPANOSOMA spp*

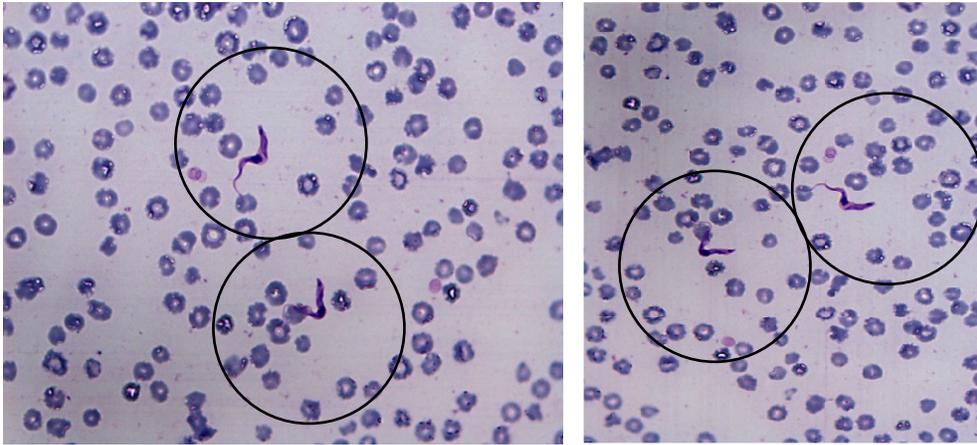


La infección comienza cuando los *Trypanosomas* son inoculados en la sangre de un mamífero por el insecto vector mientras éste se alimenta del animal. En el hospedador vertebrado las formas delgadas de los parásitos (a) se reproducen por fisión binaria, hasta conseguir que un gran número de parásitos se acumulen en la sangre. Los *Trypanosomas* adquieren una forma intermedia (b) para posteriormente adquirir forma rechoncha; esta es la que ingiere el hospedador invertebrado y vector mientras se alimenta del animal. En el interior del insecto vector se presentan las formas policíclicas (d) y se produce la división para que posteriormente los parásitos pasen al proventrículo y después a las glándulas salivales del insecto donde adquieren la forma de epimastigote (e) y experimentan una división adicional. Finalmente las formas metacíclicas (f) se presentan en las glándulas salivales del invertebrado. Las formas metacíclicas son las que llegan a infectar a los animales, y se repite el ciclo vital.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICA DEL *TRYPANOSOMA SPP.*

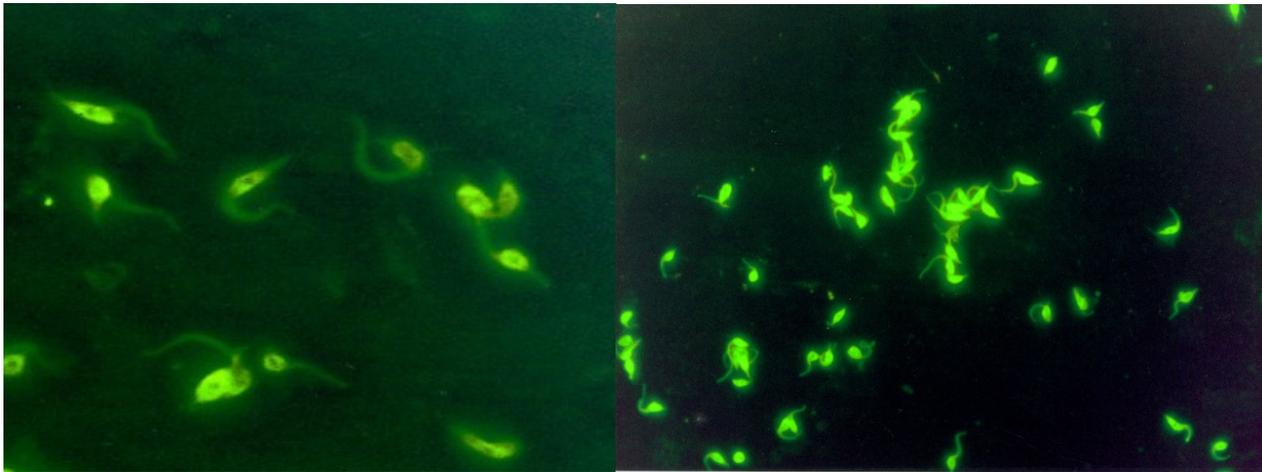


CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL PARASITO EN FROTIS TEÑIDO CON TINCIÓN DE GIEMSA.



Lente de 100x Fotos: Profesor. William Morales.

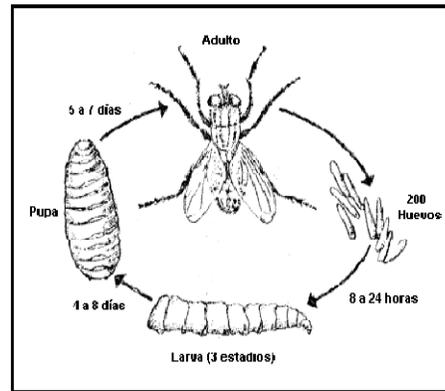
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL PARASITO POR MEDIO DE LA TÉCNICA DE INMUNO FLUORESCENCIA INDIRECTA



Lente de 40x. Fotos: Profesor. William Morales.

Lente de 10x

CICLO BIOLÓGICO DE STOMOSYS SPP (TÁBANO)



Las hembras (1) realizan sus puestas (2) en las piedras o vegetales de las orillas de pequeñas y poco profundas colecciones de agua, seguidas por una serie de estadios larvarios (3-4) variables en número que, una vez han madurado, dan paso a las pupas (5), también acuáticas que pasan al fango de las orillas para eclosionar.

Primer procedimiento para la obtención de antígeno de *Trypanosoma spp.*



Inoculación de sangre con parásitos de *Trypanosoma* en la vena de un conejo y obtención de muestra de sangre para observar el comportamiento parasitológico.

Segundo procedimiento para la obtención de antígeno *Trypanosoma Spp.*



Medio de Cultivo de crecimiento para *Trypanosoma spp* preparado con sangre de conejo

Tercer procedimiento para la obtención de *Trypanosoma spp.*

antígeno



Inoculación de parasito de *Trypanosoma spp* en el espacio peritoneal del ratón

Cuarto procedimiento para la obtención de antígeno *Trypanosoma spp.*



Obtención de sangres de pelibuey infectado con parasito de *Trypanosoma spp.*



Infección por *Trypanosoma spp* en ovinos sintomáticos en el Municipio de León Marzo - Septiembre 2012.
Departamento de Microbiología y Parasitología

Faculta de Ciencias Médicas, UNAN-León

Hoja de resultados

Código del animal: _____

Fecha de realización de muestra: _____

Resultados de Examen de laboratorio:

Tinción de Giemsa para identificación de *Trypanosoma*:

Positivo: _____ negativo: _____

Técnica de IFI:

Seropositiva: _____ seronegativa: _____

Técnica de PCR para la identificación de genes:

Nombre de cepa identificada: _____

Positivo: ____ negativo: ____

Nombre y firma del responsable del análisis de laboratorio:



Departamento de Microbiología y Parasitología
Faculta de Ciencias Médicas, UNAN-León

Consentimiento Informado, voluntario para el participante

**Estudio: Infección por *Trypanosoma spp* en ovinos sintomáticos en el Municipio de León
Marzo - Septiembre 2012.**

Estimado participante: Usted están siendo invitados a participar en un estudio de *Trypanosomiasis* en pelibuey producida por una cepa desconocida de *Trypanosoma* por lo que se les pide Por favor lea con mucho cuidado la hoja de información, tiene derecho hacer cualquier pregunta si no le entiende a algo o si desea más información.

De antemano le agradecemos por tomarse su tiempo y leer la información.

Objetivo principal del estudio: Determinar la prevalencia de *Trypanosoma* en pelibuey.

Participación:

Su participación es completamente voluntaria, Una vez que reciba la información sobre el estudio, y decide no participar, es libre de hacerlo, simplemente no firme el documento y se puede retirar sin darnos ninguna justificación.

Es importante que conozca que este estudio ha sido aprobado por el comité de ética de la Escuela de Medicina Veterinaria de la UNAN- León y se llevara a cabo conforme leyes Nicaragüenses y normas internacionales para la realización de estudios en animales.

Si decide ser parte de nuestro estudio, le pedimos llenar un formulario el cual contiene preguntas sencillas, pero básicas para el estudio y firmar su consentimiento voluntario, seguido de esto se le tomara una muestra sanguínea a su animal, la cual se guardara por el tiempo necesario para estudios que se está realizando.

Confidencialidad de los resultados:

Todos los datos e información serán estrictamente confidenciales respetando su privacidad. Los datos serán guardados en una computadora y papel, solo para la evolución de los mismos. Estarán a cargo del investigador principal y se archivarán por el tiempo que sea necesario para el estudio, no serán de acceso a nadie ajeno al estudio. Con su firma está aceptando participar en el estudio, y nos autoriza de manera voluntaria al uso de los datos de su animal y además declara que fue informado(a) de la naturaleza del estudio y de los objetivos de este.

Potenciales riesgos: En muy raros casos la extracción de muestra puede causar daños como reacciones adversas que son: hematoma, alergia o infección. Es importante mencionar que la extracción se ha probado en más de 100 fincas y en estudios previos se ha demostrado que la técnica de extracción de sangre ha sido en un 100% exitosa.

Beneficios: El estudio es completamente gratis, y las pruebas de laboratorio también serán completamente gratis, estas pruebas nos brindaran información de su condición de salud y diagnóstico de la enfermedad. Los resultados de las pruebas de Biometría Hemática y química se los entregaremos 8 días después de la toma de muestra.

Donde Localizarnos: Para cualquier problema o información adicional que requiera acerca del estudio, puede contactarnos en la escuela de medicina veterinaria de la UNAN- LEON o en el Campus Medico de la UNAN- LEON el encargado del estudio es Lic. Brenda Mora Sánchez o puede llamarnos al teléfono: 2311 1 779 o 2311 1780.

Participante No. _____

Nombre del participante(dueño del animal)	Fecha	Firma
Nombre de la persona que llena el consentimiento	Fecha	Firma
Nombre del Investigador principal	Fecha	Firma



**Infección por *Trypanosoma spp* en ovinossintomáticos en el Municipio de León
Marzo - Septiembre 2012.**

Departamento de Microbiología y Parasitología
Faculta de Ciencias Médicas, UNAN-León

Ficha

El presente estudio será realizado por un estudiante de Maestría en Microbiología y tiene como objetivo la recolección de datos mediante un cuestionario directo al dueño del animal que participara en determinado estudio el cuestionario consta de una serie de preguntas cerradas que el investigador debe de llenar según corresponda, los datos obtenidos son confidenciales y su utilización son para fines de investigación.

1. Datos generales del animal:

Dirección de la finca: _____
Donde fue realizada la compra del lote: _____
Código del animal: _____
Edad del animal: _____
Peso aproximado del animal: _____
Sexo del animal: _____

2. signos clínicos:

Diarrea: si _____ no _____
Vomito: si _____ no _____
Pérdida del apetito: si _____ no _____
Debilidad: si _____ no _____
Temperatura: _____
Cuando fue la última fecha que se le realizo examen parasitológico

3. tipo de alimentación:

Pasto: si _____ no _____
Forraje: si _____ no _____

4. asiste frecuente mente a talleres de capacitación:

Si _____ no _____

5. cuáles son los vectores más frecuentes: _____

6. estilo de hábitat del animal:

Pastoreo: si _____ no _____
Corral: si _____ no _____

Nombre y apellido del entrevistador:

Nombre y apellido del entrevistado:

Fecha de la entrevista: _____

Firma del entrevistador: _____

Firma del entrevistado: _____

