



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

MODALIDAD: PROYECTO DE DESARROLLO

Título:

Estudio Morfológico del *Cysticercus tenuicollis* en Ovinos Faenados en Mataderos

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Magíster en Ciencias Veterinarias.

Autor:

MVZ. Aguilera Vizuete Mauricio Rafael

Tutor:

Dr. Rafael Alfonso Garzón Jarrín, PhD.

LATACUNGA – ECUADOR
2021

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Titulación “Estudio Morfológico del *Cysticercus tenuicollis* en Ovinos Faenados en Mataderos” presentado por Aguilera Vizuite Mauricio Rafael, para optar por el título Magíster en Ciencias Veterinarias.

CERTIFICO

Que dicho trabajo de investigación ha sido revisado en todas sus partes y se considera que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación para la valoración por parte del Tribunal de Lectores que se designe y su exposición y defensa pública.

Latacunga, junio 22, 2021.

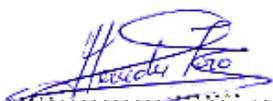


.....
PhD. Rafael Alfonso Garzón Jarrín
CC. 0501097224

APROBACIÓN TRIBUNAL

El trabajo de Titulación: Estudio Morfológico del *Cysticercus tenuicollis* en Ovinos Faenados en Mataderos, ha sido revisado, aprobado y autorizada su impresión y empastado, previo a la obtención del título de Magíster en Ciencias Veterinarias; el presente trabajo reúne los requisitos de fondo y forma para que el estudiante pueda presentarse a la exposición y defensa.

Latacunga, junio 22, 2021.



.....
MSc. Blanca Mercedes Toro Molina
CC. 0501720999
Presidente del tribunal

.....
PhD. Edilberto Chacón Marcheco
CI. 1756985691
Lector 2



.....
MSc. Lucía Monserrath Silva Deley
CC. 0602933673
Lector 3

DEDICATORIA

A mi familia

Por ser las personas que siempre y en cada momento de mi vida me han brindado un abrazo, su bendición, su sabiduría y amor, para seguir cumpliendo con mis objetivos personales y profesionales.

Mauricio

AGRADECIMIENTO

A mis padres Rafael Aguilera y Meri Vizuite, por ser el pilar fundamental de enseñanza, aprendizaje y sabiduría en mi vida.

A mi esposa Mónica Núñez, por su apoyo y amor incondicional para culminar cada etapa de mi vida.

A mi hermana Mireya Aguilera, por sus consejos, cariño y haber sido ejemplo de esfuerzo y dedicación.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi, por su gran colaboración con los laboratorios y sus equipos para los análisis de las muestras.

A mi Director de tesis. Dr. Rafael Alfonso Garzón Jarrín PhD, por su paciencia, consejos y apoyo en el transcurso de la investigación.

Mauricio Rafael Aguilera Vizuite

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Quien suscribe, declara que asume la autoría de los contenidos y los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación.

Latacunga, junio 22, 2021.



.....
Mvz. Mauricio Rafael Aguilera Vizuet
CC. 0502952872

RENUNCIA DE DERECHOS

Quien suscribe, cede los derechos de autoría intelectual total y/o parcial del presente trabajo de titulación a la Universidad Técnica de Cotopaxi.

Latacunga, junio 22, 2021.



.....
MVZ. Mauricio Rafael Aguilera Vizuet
CC. 0502952872

AVAL DEL VEEDOR

Quien suscribe, declara que el presente Trabajo de Titulación: Estudio Morfológico del *Cysticercus tenuicollis* en Ovinos Faenados en Mataderos, contiene las correcciones a las observaciones realizadas por los lectores en sesión científica del tribunal.

Latacunga, junio 22, 2021.



.....
MSc. Blanca Mercedes Toro Molina
CC. 0501720999

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

Título: ESTUDIO MORFOLÓGICO DEL *Cysticercus tenuicollis* EN OVINOS FAENADOS EN MATADEROS

Autor: Aguilera Vizuete Mauricio Rafael, MVZ.

Tutor: Garzón Jarrín Rafael Alfonso, PhD.

RESUMEN

La producción de ovinos en Ecuador la desempeñan pequeños productores o el campesinado en general, con un deficiente manejo sanitario. En la presente investigación se realiza un estudio mediante la inspección post mortem sobre las características morfológicas, moleculares, prevalencia y distribución del *Cysticercus tenuicollis* en ovinos faenados en mataderos. Se tomaron muestras de 200 ovinos faenados desde enero a diciembre 2020, dando como resultado 82 casos positivos al parásito (28 hembras y 54 machos); su condición corporal es de 2 a 3 sobre 5 y sus edades de 11 meses a 3 años; los órganos afectados y cantidad de quistes encontrados fueron epiplón con 191, hígado con 92, pulmón con 47, aparato reproductor de la hembra 5 y corazón 1. El tamaño del quiste varía de 2cm hasta 15cm; los pesos de 2gr hasta 16gr y las características observadas en laboratorio son membrana cerosa, transparente, irrigación sanguínea, líquido transparente con contenido proteico, un solo escólex, cuatro ventosas, doble corona de ganchos, en el hígado y pulmones forman trayectos de migración hemorrágica. En el estudio molecular del *Cysticercus tenuicollis* se mantuvo la integridad de las muestras, garantizando la extracción, valoración y cuantificación del ADN, lo que refleja satisfactoriamente la secuencia de 20 muestras analizadas que representa el 100%. Como resultado se refleja la correlación de la amplificación de los primers NAD-COX1 que fueron específicos y su identificación fue óptima. Los primers utilizados son específicos para cisticercos, en este caso 5'CARTTTCGTAAGGGBCCWAAWAAGGT directo y 5'-CCAATTCYTGAAGTTAACAGCATCA inverso; manteniendo el comportamiento para cestodos.

PALABRAS CLAVE: Ovinos; Parasitosis; *Cysticercus*; Mataderos; *Tenuicollis*; Morfología; Hydatigena.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
DIRECCIÓN DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS

Theme: MORPHOLOGIC STUDY OF THE *Cysticercus tenuicollis* IN SLAUGHTERED SHEEP IN SLAUGHTERHOUSES.

Author: Aguilera Vizuete Mauricio Rafael, MVZ.

Tutor: Garzón Jarrín Rafael Alfonso, PhD.

ABSTRACT

The production of sheep in Ecuador it is carried out by small producers or the peasantry in general, with poor sanitary management. In the present research a study is carried out through an inspection post mortem about the morphological, molecular, prevalence and distribution characteristics of the *Cysticercus tenuicollis* in slaughtered sheep in slaughterhouses. Samples were taken from 200 slaughtered sheep since January to December 2020, resulting 82 positive cases to the parasite (28 females and 54 males); your bodily condition is of 2 to 3 over 5 and their ages from 11 months to 3 years; the affected organs and number of cysts found were omentum with 191, liver with 92, lung with 47, female reproductive system 5 and hearth 1. The cyst size varies from 2 cm to 15cm; the weight of 2gr to 16gr and the observed characteristics in the laboratory are serous membrane, transparent, blood supply, transparent liquid with protein content, a single scolex, four suction cups, double hook crown, in the liver and lungs they form hemorrhagic migration paths. In the molecular study of the *Cysticercus tenuicollis* integrity was maintained of the samples, guaranteeing extraction, assessment and quantification of the DNA, which satisfactorily reflects the sequence of 20 analyzed samples which represent 100%. As a result the correlation is reflected of the amplification of the primers NAD_COX1 that were specific and its identification was optimal. The used primers were specific for cysticerci, in this case 5' CARTTTCGTAAGGGBCCWAAWAAGGT direct and 5'- CCAATTCYTGAAGTTAACAGCATCA reverse keeping the behavior for cestodos.

KEYWORDS: Sheep; Parasitosis; Cysticercus; Slaughterhouses; Tenuicollis; Morphology; Hydatigena.

MSc. Estuardo Vladimir Sandoval Vizuete con cédula de identidad número: 050210421-9 Licenciado en: Ciencias De la Educación especialidad Inglés con número de registro de la SENESCYT: 1010-04-477716; **CERTIFICO** haber revisado y aprobado la traducción al idioma inglés del resumen del trabajo de investigación con el título: Estudio Morfológico del *Cysticercus tenuicollis* en Ovinos Faenados en Mataderos de: Mauricio Rafael Aguilera Vizuete, aspirante a Magíster en Ciencias Veterinarias.

Estuardo Vladimir Sandoval Vizuete
050210421-9

Latacunga, junio 22, 2021.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Justificación.....	4
1.2. Planteamiento del problema	5
1.2.1. Formulación del Problema	6
1.3. Hipótesis	6
1.4. Objetivos de la investigación.....	7
1.4.1. Objetivo General	7
1.4.2. Objetivos Específicos.....	7
CAPITULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	8
2.1 Antecedentes	8
2.2. Bases teóricas	14
2.2.1. Clasificación taxonómica.....	18
2.2.2. Ciclo evolutivo del <i>Cysticercus Tenuicollis</i>	21
CAPITULO III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
3.1 Materiales de campo.....	27
3.2 Materiales de laboratorio.....	28
3.3 Materiales de oficina	28
3.4 Lugar de investigación	29
3.5 Población.....	30
3.6 Perfil Genético.....	31
3.6.1 Extracción orgánica de ADN: a partir de Fenol – Cloroformo.....	33
3.6.2 Cuantificación y dilución de muestras de extractos de ADN.....	34
3.6.3 Amplificación de fragmentos por PCR.....	35
3.6.4 Secuenciación.....	35
3.6.5 Análisis Molecular del Gen Nad1 del ADN Mitocondrial de <i>Cysticercus tenuicollis</i>	36
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
4.1 Variabilidad genética.....	50

4.2	Identificación molecular	51
4.3	Análisis Filogenético	51
4.4	Verificación de la amplificación	52
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		58
5.1	Conclusiones	58
5.2	Recomendaciones	59
CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		61
6.1	Referencias Bibliográficas.....	61
CAPÍTULO VII. ANEXOS		61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Proceso de faenamiento de ovinos en la EMRAQ-EP.....	10
Tabla 2. Número de ovinos faenados, período febrero a noviembre 2020	30
Tabla 3. Características generales de ovinos faenados desde Enero 2020 hasta Diciembre 2020.....	31
Tabla 4. Características generales de ovinos faenados con presencia de <i>Cysticercus tenuicollis</i>	31
Tabla 5 . Muestras de CT para envío a Laboratorios UDLA	32
Tabla 6. Diluciones Cisterco	34
Tabla 7. Componentes para un PCR	35
Tabla 8. Muestras en el termociclador	35
Tabla 9. Diluciones muestras de ADN de <i>Cysticercus tenuicollis</i>	37
Tabla 10. Componentes para la PCR de amplificación del gen nad1	39
Tabla 11. Ubicación y morfología del <i>Cysticercus tenuicollis</i> en ovinos.....	43
Tabla 12. Características físicas del <i>Cysticercus tenuicollis</i>	43
Tabla 13. Muestras para revisión microscópica 28/09/2020.....	46
Tabla 14. Muestras para revisión microscópica 30/09/2020.....	48
Tabla 15. Características observadas del <i>Cysticercus tenuicollis</i>	49
Tabla 16. Parámetros de la variabilidad en 641 pb del gen Nad1-Cox1, de secuencias de <i>Cysticercus tenuicollis</i>	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo evolutivo del <i>Cysticercus tenuicollis</i>	21
Figura 2. Quiste de C.t. cubierto por capa cerosa e irrigación sanguínea	44
Figura 3. Quiste de C.t. en el hígado	44
Figura 4. Vesícula de C.t. en ovino	45
Figura 5. Escólex o cabeza del C.t.	46
Figura 6. Escólex visto en el microscopio	47
Figura 7. Escólex o cabeza del C.t	48
Figura 8. Escólex visto en el microscopio	49
Figura 9. Relaciones filogenéticas de los aislados <i>Cysticercus tenuicollis</i> basados en las secuencias del gen Nad1 (454 pb). Los números sobre las ramas indican los valores de Bootstrapping en % para cada agrupamiento. Los haplotipos obtenidos del GenBank: MN175	51
Figura 10. Resultados de amplificación de muestras: CT001 - CT020 con el par de primers NAD- COX1 Fw/Rv, CT021 - CT040 con el par de primers NAD-COX1.2 Fw/Rv.	52
Figura 11. Resultados Nad-Cox1-Fw y Rw -CT001_A06_01 Primers no amplificado.....	53
Figura 12. Resultado Nad-Cox1-Fw y Rw -CT001_A06_01 Primers amplif.....	55
Figura 13. Resultados Nad-Cox1-Fw y Rw -CT001_A06_01 Final del Primers .	56

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas tanto en la parte de sanidad animal como de salud pública, es que la producción ovina a nivel mundial mantiene un deficiente manejo en el caso de las parasitosis tanto internas como externas (1). En este sentido, en las regiones semiáridas, secas y subtropicales de clima templado, tienen un excelente potencial para la cría, engorde y producción de cabras y ovejas de diferentes razas que son adaptables al medio, las cuales tienen condiciones ambientales favorables y con amplia disponibilidad de diferentes forrajes debido a que la mayoría de estos rebaños se crían de una forma extensiva. La producción de ovejas es accesible para los medianos y pequeños productores, dado que la adquisición de este tipo de animales puede financiarse a través de programas gubernamentales y privados (2).

Actualmente, la influencia de la mano del hombre es lo que ha permitido que estos ovinos sigan evolucionando y desarrollando características, con el fin de obtener provecho de este animal que normalmente es utilizado para conseguir productos y subproductos como venta de animales, carne para consumo familiar e incluso de forma industrial, piel (cueros) y lana para prendas de vestir, entre otros. En forma similar, en la Provincia de Cotopaxi los ovinos están sujetos a diferentes variaciones en el manejo, la producción y reproducción, debido a la influencia del fenómeno ecuatorial denominado fotoperíodo, la cual está determinada en las dos estaciones del año en el Ecuador (verano que inicia en mayo hasta el mes de octubre e invierno que inicia en el mes de noviembre hasta el mes de abril).

Además, los rebaños de ovinos en producción, están distribuidos en diferentes sectores y comunidades de la provincia, las cuales se mantienen con diferentes altitudes, topografías, climas y latitudes; por tal motivo, la ubicación geográfica representa un papel importante al obtener registros de horas luz (heliofanía). Sin embargo, luego de varios reportes y estudios realizados se concluye que las épocas

de invierno es donde más prevalece las cargas parasitarias tanto internas como externas, por incremento de la humedad, exceso de pastos tiernos y la decreciente cantidad de horas luz, lo que afecta tanto al tipo y calidad del pelaje, condiciones corporales, períodos reproductivos y productivos en general (3).

En tal sentido, el *Cysticercus tenuicollis* es conocido como la fase larvaria de la tenia del perro llamada *tenia hydatigena*; por lo tanto, la tenia es el parásito adulto que vive en el intestino de los perros, zorros y gatos; y, cuando los ovinos ingieren este tipo de huevos se produce una parasitosis localizada que afecta diversos tejidos a nivel de pleuras, hepático, riñones, peritoneo, vejiga, pulmones entre otros órganos susceptibles a la infestación de cisticercos; produciendo leves pérdidas de peso entre -100 g/d conduciendo a la muerte del animal. Así mismo, este parásito adulto libera los huevos en las heces de los huéspedes definitivos, facilitando de una manera más rápida la ingesta por parte de los ovinos mientras estos pastan en los potreros contaminados; además, una vez ingeridos los huevos o proglotis, estos eclosionan en el intestino delgado y comienzan a formar una fase migratoria los cuales van hacia diferentes órganos viscerales serosos; esto causa principalmente la pérdida de apetito, por ende la pérdida de peso, condición corporal y por lo tanto, reducción de la producción ya sea en los casos de carne, leche y lana (4). Estos parásitos van soltando pequeños fragmentos de su organismo denominados proglotis que contienen los huevos que son liberados al exterior junto con las heces del perro, contaminando pastos, forrajes, pajonales, agua y bebederos, entre otros alimentos que consumen los ovinos.

Entonces, cuando las ovejas ingieren alimentos que están adheridos los huevos, se produce la disolución de la cubierta de los mismos y a este proceso se lo denomina embrióforo que es el proceso en el cual se libera una larva conocida como la oncósfera que penetra en los diferentes vasos sanguíneos del intestino delgado de los ovinos, llegando por vía sanguínea y específicamente por la vena porta al hígado, que perforan los vasos sanguíneos y migran a través del tejido hepático, hacia la superficie del mismo. En este paso van formando unos trayectos sinuosos y sanguinolentos las cuales son las lesiones que principalmente se aprecian en los ovinos destinados a la ceba o engorde; en el caso de que los ovinos vivieran más tiempo, ocurriría que la mayor parte de esas oncósferas perforarían la cubierta que

rodea el hígado y llegarían a la cavidad abdominal donde se convertirían en los cisticercos típicos con las características comunes como un cuello delgado, alargado y que es justamente donde proviene el apellido “*Tenuicollis*” y que por lo general puede llegar a medir hasta 15 cm de largo.

Además, cuando los perros comen los cadáveres, vísceras, restos y residuos de mataderos de ovinos, están ingiriendo los cisticercos que literalmente se enganchan al intestino delgado del perro, continuando su evolución hasta convertirse en un parásito adulto y así cerrándose completamente el ciclo evolutivo; es decir que cuando el perro consume vísceras de ovinos infectados, vuelve a cerrarse el ciclo. Así mismo, los huéspedes intermediarios son los que se pueden detectar durante la inspección sanitaria de las canales en los mataderos, es decir post mortem; por ello no es necesario decomisar toda la carne faenada y parasitada; en el caso de la cisticercosis bovina, las canales que se encuentren infectadas por este tipo de parásito se procede a la congelación durante 48 horas para matar a los parásitos y después de este tiempo y del tratamiento, la carne es apropiada para el consumo humano (5).

En estudios realizados se puede observar que hay dos tipos de cisticercos, uno que es el cisticerco muscular como es el caso del *Cysticercus cellulosae* y el *Cysticercus bovis* y *ovis* generalmente. En el caso del hepatoperitoneal son dos principales: el *Cysticercus tenuicollis* y el *Cysticercus pisiformis* el cual se lo descarta porque se produce principalmente en los conejos; mientras que el *Cysticercus tenuicollis* se lo analiza dado que es más abundante en bovinos, porcinos y especialmente en los ovinos. Cabe mencionar que el *Cysticercus tenuicollis* es un parásito heteroxeno de distribución mundial y es un estadio larvario que se encuentra en los rumiantes domésticos y silvestres, mientras que el estadio adulto llega a formarse en la *Taenia Hydatígena* que se encuentra en el intestino delgado de los cánidos domésticos o silvestres, incluso se han encontrado hallazgos de *Cysticercus tenuicollis* en osos, felinos salvajes y domésticos.

La diferencia entre un Quiste Hidatídico y *Cysticercus Tenuicollis* es que el primero normalmente tiene la característica de mantener una capa fibrosa la cual recubre el Cisticerco, pero es demasiado gruesa dado que no se puede apreciar el escólex a

simple vista; además, se puede considerar que el quiste hidatígeno produce una grave lesión y mucho más profunda en órganos sensibles como el hígado. En cambio el *Cysticercus Tenuicollis* tiene una membrana mucho más fina, delgada y transparente, que permite observar un solo escólex y por ende se encuentran en una forma más superficial en los diferentes órganos, formando así trayectos hemorrágicos mientras se van ubicando en lugares estratégicos para poder obtener su propia irrigación.

Finalmente, la presente investigación está encaminada a la realización de un diagnóstico morfológico del *Cysticercus tenuicollis* en los ovinos destinados al faenamiento y por ende al expendio y consumo de carne en las diferentes provincias a nivel nacional y con los resultados permitirá a los productores, centros de faenamiento y consumidores tener una mejor perspectiva real sobre la situación de los agentes que intervienen en la cadena productiva como son los ganaderos, los intermediarios y sobre todo los consumidores quienes impulsarán a un incremento de la producción de carne ovina y su consumo.

Como ha sido descrito por Zhang, la *Taenia multiceps* y *Taenia hydatigena* son tenias de caninos ampliamente distribuidas en el mundo (6). Particularmente, en el caso de Ecuador la información existente es escasa o nula, por ello el presente trabajo aborda el estudio de la información genética sobre la *Taenia hydatigena*, a partir de quistes de *Cysticercus tenuicollis* de ovejas faenadas en mataderos, mediante la amplificación del gen mitocondrial (nad1).

1.1. Justificación

En la mayoría de fincas que se dedican a la crianza, engorde y reproducción de ovinos se realizan diversos programas de desparasitaciones sin tener el conocimiento necesario para efectuar este tipo de actividades; así también, al tener inexperiencia en determinar el grado de parasitismo que tienen los animales e incluso qué parásitos específicos son los que están afectando y provocan una reducción en la producción. En este sentido, se siguen utilizando de forma inadecuada un mismo producto (desparasitante, antibiótico, entre otros), lo que produce resistencia de los parásitos ante un fármaco; esta problemática ocasiona

grandes pérdidas tanto económicas, de producción, así como en el bienestar animal (7).

En tal sentido, no es sencillo calcular las pérdidas que producen las infecciones o infestaciones por cargas parasitarias dado que tienen que ver en el curso de las diferentes ganaderías; en algunos casos es posible cuantificar los daños cuando se producen bajas como consecuencia de un determinado proceso. Sin embargo, la mayoría de las enfermedades parasitarias cursan de forma sigilosa que hace que las pérdidas sólo se calculen en una forma aproximada (8).

De manera similar, la crueldad a los animales son acciones encaminadas a inducir daño y en la actualidad existe gran cantidad de animales con diversas enfermedades parasitarias, bacterianas e incluso virales que ocasionan un peligro hacia la salud de las personas por el expendio de carne de ovinos. En tal sentido, el *Cysticercus Tenuicollis* no es un parásito zoonótico, pero por su singular y característico aspecto desagradable y repugnante hacen que en los mataderos o centros de faenamiento al encontrar órganos con este parásito, sean decomisado en su totalidad.

Con estos antecedentes, se determina la importancia de realizar un estudio Morfológico del *Cysticercus tenuicollis* en Ovinos Faenados en Mataderos debido a que lamentablemente en la actualidad el técnico de campo aún no tiene establecido una norma protocolaria que sea un sustento o apoyo para un diagnóstico más certero, como por ejemplo las pruebas copro parasitarias que le permitan diseñar y elaborar programas de prevención, control y erradicación parasitaria siendo eficaces para los diferentes tratamientos que se emplean en el campo (9).

1.2. Planteamiento del problema

Existen zonas en la Provincia de Cotopaxi en donde se desarrolla la cría, engorde, producción y reproducción de ovinos y por tal razón surge la necesidad de aplicar un control sanitario eficiente, dado el desconocimiento y poca información que tiene el personal encargado del manejo parasitario en ovinos. Además, no se cuenta con un conocimiento correcto sobre los diferentes tipos de parásitos y en especial el *Cysticercus tenuicollis* que afecta totalmente a los ovinos y a los seres humanos que sirven como un hospedador intermediario (10).

En nuestro país las vísceras de los animales es un plato típico de los ecuatorianos, y por cultura y tradición los hemos consumido; es por ello, la importancia de conocer los tipos de parásitos en especial el *Cysticercus tenuicollis* y cómo afecta a la producción nacional y al bienestar animal; por lo tanto, es nuestra responsabilidad como médicos veterinarios garantizar los diferentes tipos de alimentos para que sean inocuos y de calidad para el consumo humano. Es así que el *Cysticercus tenuicollis* es un tipo de parásito cosmopolita que afecta a la salud de animales domésticos como porcinos, bovinos, ovinos, cánidos, entre otros; sin embargo, los mayores hallazgos se han encontrado especialmente en los ovinos. Este parásito puede llegar a afectar al ser humano y ocasiona grandes pérdidas económicas a nivel nacional y mundial, llegando a ser considerado como un nuevo problema en salud animal y salud pública.

Finalmente, el *Cysticercus tenuicollis* puede generar una tendencia a la baja de la producción y de su rendimiento, debido a que los signos que se presentan generalmente son pérdida de peso y diarrea; por este motivo, ciertos animales afectados se encuentran en una fase de caquexia (11). Además, este parásito afecta a órganos específicos y por ello se realizan decomisos de dichos órganos y muchas veces de la canal completa, lo que ocasiona pérdidas económicas para los productores.

1.2.1. Formulación del Problema

¿Cómo contribuye el estudio morfológico de la fase larvaria (*Cysticercus tenuicollis*) en ovinos faenados en mataderos en la salud animal y pública?

1.3. Hipótesis

El estudio del *Cysticercus tenuicollis* contribuye en la salud animal y pública mediante inspecciones post mortem de ovinos en mataderos considerando su prevalencia y morfología.

1.4.Objetivos de la investigación

1.4.1. Objetivo General

- Generar un estudio referente al *Cysticercus tenuicollis* en mataderos de ovinos para establecer su prevalencia y morfología en la fase larvaria mediante la inspección post mortem.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Describir la presencia y prevalencia del *Cysticercus tenuicollis* mediante la inspección post-mortem en ovinos faenados en mataderos tomando en cuenta las edades, razas y sexos.
- Determinar la ubicación y distribución del *Cysticercus tenuicollis* en los órganos y estructuras de los ovinos afectados.
- Identificar y evaluar las características morfológicas y moleculares del *Cysticercus tenuicollis*.

CAPÍTULO II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1 Antecedentes

En la actualidad, el ovino es un mamífero muy apreciado en nuestra región, especialmente en la Sierra Centro Ecuatoriana, su distribución geográfica es amplia debido a que estos animales existen por todo el mundo, su adaptabilidad le permite estar constantemente en un manejo rústico y en todo tipo de clima y ecologías; por lo tanto, esta especie ha sido producida y explotada en extensas áreas de pasturas (12). Además, los ovinos tienen hábitos alimenticios muy demarcados y particulares, que a diferencia de la mayoría de especies, éstos se niegan a comer o beber de comederos o bebederos sucios. Necesitan alimento y agua limpia, sin heces o contaminantes de algún otro tipo (13).

Así mismo, la conducta animal es la máxima expresión sobre la capacidad de adaptabilidad o ajustar condiciones del medio interno hacia el exterior, tomando en cuenta que la respuesta del cuerpo animal reacciona como un todo ante un estímulo; es decir que, toda manifestación de conducta está encaminada hacia la satisfacción de una de las tres necesidades básicas de vida como la alimentación, la defensa y la reproducción. En el caso de los ovinos, los requerimientos alimentarios son más fuertes que los defensivos y los defensivos más fuertes que los reproductivos (14).

En tal sentido, a la mayoría de las ovejas se las encuentran infestadas por parásitos externos y sobre todo por parásitos internos, los cuales tienen unos ciclos secundarios de vida que transcurren por los diferentes pastizales; si no se tiene un buen programa de control de parásitos o un calendario de desparasitaciones, los ovinos pueden ser parasitados gravemente, lo que ocasionan una deficiencia en el incremento de peso sobre todo en los corderos y en los animales adultos destinados a la reproducción, se observan claramente cuadros complicados de anemias,

diarreas y en los casos más descuidados la muerte de los ovinos a cualquier edad en que estos se encuentren.

Bajo este contexto, según el último censo se registraron 1'127.468 ovinos censados en 178.995 UPAs de los cuales 1'052.891 son criollos criados en 171.315 UPAs; ovinos mestizos son 64.286 que se registraron en 8.515 UPAs, animales pura sangre son 10.291 ubicados en 162 UPAs. Estos resultados del último censo en ovinos nos indican que existen 186.601 cabezas nacidas, 27.812 madres abortadas, 49.221 cabezas perdidas por muerte, ovinos perdidos por otras causas 10.727 y se sacrifican un total de 140.489 ovinos (15).

Entonces, se puede realizar una caracterización comparativa del ovino con otro mamífero; es decir, se tiene claro que el ganado ovino posee una serie de ventajas ante los bovinos, que son los mamíferos mayormente explotados por la demanda de productos a nivel mundial que existe. Una de estas ventajas es que poseen una mayor capacidad reproductiva (dos partos por año), manteniendo un intervalo entre partos de 6 y 7 meses, a diferencia de los bovinos que estos por lo general tienen mayor número de crías por parto, siendo normal gemelos o trillizos. También, el ganado ovino posee la mayor capacidad de conversión alimenticia; es decir, comer menos en volumen y producir más en carne, lana o leche y al ser un animal rústico las ovejas tienden a ser más resistentes a las alturas, producen un menor precio de compra por animal, cuentan con la posibilidad de usarse para el consumo de la familia por su fácil sacrificio, mayor calidad en la carne y leche para derivados especialmente el queso, y tienen una mayor calidad en la piel para procesos de curtiembre debido a los pocos tratamientos inyectables que se les realiza (16).

Con estas consideraciones, podemos mencionar que en el faenamiento de ovinos es donde el proceso se lo realiza de una forma ordenada sanitariamente para el sacrificio, con el objetivo de obtener su carne en unas condiciones óptimas tanto para el expendio como para el consumo humano. Por lo tanto, el faenamiento se debe llevar a cabo siguiendo las normas específicas y técnicas sanitarias (17).

Tabla 1. *Proceso de faenamiento de ovinos en la EMRAQ-EP*

PROCESO	DESCRIPCIÓN
1.- RECEPCIÓN	Se recibe a los animales según la documentación de la Guía de Movilización emitido por AGROCALIDAD; los animales son identificados, pesados y ubicados en los corrales para cumplir con las medidas sanitarias de prevención, durante el tiempo que determina la ley.
2.- CORRALAJE Y REVISIÓN VETERINARIA	Los animales cumplen un tiempo de estancia normado por la ley, que es de 2 a 4 horas en el que son hidratados y pasan por un proceso de descanso y relajación muscular, tiempo en el que se realiza un control veterinario ante mortem.
3.- ARREO	Cumplido con los tiempos sanitarios acordados y habiendo aceptado y cancelado las tasas correspondientes por el servicio de faenamiento de los animales, se trasladan los mismos a las mangas de producción.
4.- NOQUEO	El noqueo del animal es físico, mediante el uso de amperaje, se insensibiliza al animal a ser sacrificado, para evitarles sufrimiento a la hora del degüello.
5.- IZADO	El ovino se lo cuelga de las extremidades posteriores mediante un gancho unido a una riel para hacer más sencilla su movilidad en el trascurso de desangrado y demás procedimientos de faena.
6.- SANGRADO Y DEGÜELLO	Se aplica un corte en las arterias del cuello del animal (estando boca abajo) para que se desangre; la sangre

es recolectada en un canal específico para luego ser procesada y convertirla en harina de sangre.

- 7.- CORTE DE PATAS Y CABEZA Se procede a cortar las patas y la cabeza del animal
- 8.- INFLADO Procedimiento que se lo realiza aplicando aire a presión entre el cuero o piel y la carnosidad, para facilitar el desollado del animal.
- 9.- EVISCERADO Procedimiento en el que se extrae los órganos internos de cada animal, llamado vísceras.
- 10.- INSPECCIÓN VETERIANARIA POST MORTEM Una vez faenados los ovinos, su carne es revisada por veterinarios especialistas para establecer sus cualidades, características y su estado sanitario.
- 11.- HIGIENE Y DESINFECCIÓN Para desinfectar a los ovinos de ciertas contaminaciones por el manipuleo y eviscerado, se aplica el agua a presión y/o ácido orgánico sobre las estructuras del animal.

Fuente. Empresa Pública Metropolitana de Rastro Quito. Proceso de faenamiento de ovinos en la EMRAQ-EP. Quito; 2020.

Respecto al control veterinario, se menciona que en el departamento de médicos veterinarios se desarrollan diferentes técnicas de inspección tanto ante mortem como post mortem, así como la supervisión sanitaria entre los procesos operativos relacionados con el faenamiento de las diferentes especies de animales de abasto. También, la metodología de inspección veterinaria que se realiza en el área de médicos veterinarios ejerce sobre todo la acción profesional, tomando como base, los principios de las universidades de inspección de la carne y paquetes viscerales, tipificados en leyes y reglamentos vigentes para mataderos o centros de faenamiento. (18).

Así mismo, el examen que se lo realiza ante mortem que en su mayoría se lleva a cabo poco antes o durante el proceso de faenamiento, el cual consiste en la

ejecución de un examen eminentemente clínico - físico, con las características apropiadas para determinar las diferentes condiciones de sanidad o enfermedades que puede tener o no el animal; de esta forma se puede establecer o negar la idoneidad para el proceso productivo al cual está predestinado. El faenamiento de emergencia sanitaria o de rechazo al sacrificio del animal tiene que ver con las medidas orientadas a evitar riesgos innecesarios de contaminación tanto para los animales como para el personal, la infraestructura y los diferentes procesos establecidos en cada centro de faenamiento. Por lo tanto, el examen post mortem, consiste en un proceso de evaluación minuciosa de todas las condiciones organolépticas que presenta la carne, su estado de limpieza, pureza, presencia de anomalías y corrección in situ de las desviaciones técnicas de los diferentes protocolos establecidos para estos procesos.

Adicionalmente, el objetivo de la inspección post mortem de las carnes, es determinar qué productos y subproductos cárnicos cumplen con los estándares de inocuidad ya establecidos y sobre todo de descartar aquellos que representen riesgos para la salud humana, salud animal, medio ambiente, fauna silvestre y también animales domésticos en general (19). De forma similar, la inspección de las carnes post mortem ayuda a identificar las distintas enfermedades causadas por parásitos, entre las que se destacan: distomatosis hepática, echinococcosis, cisticercosis, sarcocistiosis, ascaridiosis, oestrosis, teniasis y dermatobiosis que son las que se encuentran entre las más principales.

Además, es necesario prevenir la contaminación cruzada de las diferentes enfermedades infecciosas las cuales pueden ser de tipo bacteriana, viral, y protozoárica, entre las que frecuentemente se encuentran en los centros de faenamiento son las septicemias, neumonías, tuberculosis, brucelosis, leptospirosis, mastitis, metritis, erisipela, cólera porcino, estomatitis, piroplasmosis, entre otras enfermedades que provocarían los posibles decomisos de órganos específicos o las canales. Así también, como la detección oportuna de varias enfermedades metabólicas como cetosis, carotenosis, lipoxantosis, ictericia, leucocis, etc; estas enfermedades que producen lesiones traumáticas están representadas por anasarcas, diferentes tipos de edemas, hematomas, fracturas de todo tipo, muertes prematuras, evisceración tardía, asfixias, entre otras.

Hasta la actualidad no se encuentra un tratamiento farmacológico adecuado aplicable a los corderos y ovejas en periodos reproductivos, para prevenir o controlar estos tipos de enfermedades parasitarias (20). Es así que las diferentes alternativas utilizadas en ciertos países, se basan sobre todo en la interrupción del ciclo biológico del parásito en sus diferentes etapas tanto en sus fases larvianas como adultas y estos procesos son descritos a continuación como un ejemplo para evitar la propagación del *Cysticercus tenuicollis*:

- Con el objetivo de impedir que los perros domésticos o salvajes, zorros y otros animales carnívoros, tengan acceso a los parásitos, se debe eliminar, enterrar o cocinar los restos y vísceras de los animales muertos o faenados que son utilizados para el consumo humano.
- Es necesario desparasitar a los perros cada 60 días, suministrándoles tenidas y se debe mantenerlos atados por 2 a 3 días con el fin de impedir la dispersión de huevos de los parásitos en los pastos y en los huertos familiares.
- Se debe evitar que los corderos ingieran alimentos que posiblemente se encuentren contaminados con heces de perros u otros animales portadores de parásitos; sin embargo, en determinadas zonas existe la presencia de zorros y felinos silvestres que también podrían ejercer como hospedadores definitivos del parásito adulto, lo cual dificultaría las diferentes acciones de prevención y erradicación de la enfermedad en la Patagonia y por ende en otros lugares a nivel mundial que se dediquen a la producción de ovinos (21).

Finalmente, los hallazgos patológicos identificados son registrados en cada jornada de faenamientos y en cada matadero; estos datos una vez consolidados son reportados a la entidad correspondiente como lo es AGROCALIDAD, tal y como está establecido en la Ley y en el Reglamento a la Ley de Centros de Faenamientos y Mataderos. Los cisticercos son la fase larvaria o metacéstodo de los parásitos conocidos como taenias o gusanos planos, a estos parásitos se los encuentra en los hospedadores intermediarios que lo describimos a continuación:

- Fase larvaria: *Cysticercus Tenuicollis*.

- Fase parásito: *Taenia Hydatígena*.
- Hospedador definitivo: Perro (cánidos).
- Hospedador intermediario: Ovinos, caprinos, bovinos, porcinos y equinos.
- Hallazgos en mataderos: Vesículas transparentes en la superficie del hígado, epiplón y otras vísceras cerosas abdominales.

Este tipo de vesícula llena de líquido se evagina en agua caliente y se observa claramente un cuello alargado con la presencia de un solo escólex, el cual contiene cuatro ventosas desarrolladas y una doble corona de ganchos que son identificados claramente al observarlos en el microscopio y se puede encontrar en el parénquima hepático varios trayectos de migración hemorrágica que son producidos por el *Cysticercus tenuicollis*. Además, la incidencia en porcinos está relacionada con la presencia de rebaños de ovinos y caprinos que se mantengan cerca a las instalaciones, comederos o bebederos de los porcinos (22).

2.2. Bases teóricas

Según la OIE, la cisticercosis en animales salvajes y domésticos está provocada por formas larvarias (metacéstodos) de los cestodos (tenias), dichas fases adultas se ubican en el intestino de perros y cánidos salvajes e inclusive existen hallazgos en los gatos. Este tipo de cisticercosis produce especialmente pérdidas económicas por el decomiso de carnes y residuos que se encuentren infectados con estos tipos de parasitosis, así como también varios órganos específicos como hígados e inclusive pulmones (23). Así mismo, basados en diferentes investigaciones y estudios sobre el *Cysticercus tenuicollis*, se determina que, parásito es todo ser vivo que pasa toda su vida, o parte de su vida a expensas de otro ser vivo, al cual se lo denomina huésped (intermediario o definitivo) del cual el parásito vive haciendo daño o no y del cual tiene una dependencia obligada. De la misma manera, se puede mencionar que parásito es un organismo animal o vegetal el cual vive solo a expensas de otro organismo, es decir, sobre él o dentro de él (24).

En tal sentido, existen actualmente dos tipos de parásitos; los parásitos internos que se mantienen una cierta parte de su ciclo en el organismo de los animales y

eventualmente en el hombre, produciendo trastornos (25) y los parásitos externos en cambio son los que viven fuera de un organismo animal como las pulgas, garrapatas, piojos, entre otros, los cuales son más fáciles de detectar con algunas excepciones, por ejemplo los agentes productores de la sarna pero que con un fácil diagnóstico clínico se podría brindar un tratamiento efectivo sobre los parásitos que aquejan y disminuyen a la producción de ovinos (26).

En efecto, el agente etiológico que provoca cisticercosis hepatoperitoneal en ovinos y que habitualmente afecta a otros animales mamíferos incluido el ser humano es el *Cysticercus tenuicollis*, que es el metacéstodo de la *Taenia Hydatigena* (27). Según estudios recientes en donde se ha observado que el tipo de parásitos *Taenia Hydatigena* y en sus fases larvarias como el *Cysticercus tenuicollis* y el *Toxocara canis*, en ciertas ocasiones puede ser transmitido hacia el ser humano y pueden ser ampliamente distribuidos en las células del parénquima, la membrana basal del tegumento y la superficie apical de las células epiteliales, estas son las que rodean y recubren los ciegos; este tipo de cisticercos en grandes cantidades puede llegar a causar graves infecciones parasitarias que pueden inducir a un desarrollo de un cáncer específico (28).

En el caso del *Cysticercus tenuicollis* se lo ha encontrado también en el pudú, el cual es un ciervo nativo de Sudamérica que se lo encuentra frecuentemente en países como Chile y Argentina. Este parásito se lo ha observado en los bronquios de este ciervo, tanto en machos como en hembras jóvenes y adultas; estos casos están entre los primeros registros de ciervos actuando como hospedador, debido al establecimiento de poblaciones de ciervos europeos en el sur de Chile, lo que se presume que el contagio del *Cysticercus tenuicollis* es por compartir varios sitios de pasturas que prácticamente causan un alto impacto adicional, tanto en mamíferos exóticos, como en los mamíferos de granja (29). En el caso de los bovinos, el diagnóstico al igual que en los ovinos se lo realiza normalmente en la inspección post mortem, los cisticercos (vesículas) que se los encuentran, presentan vesículas blanquecinas o ligeramente turbias, donde se reconoce claramente un solo escólex, estos en ciertos casos, pueden presentar vesículas de una tonalidad rojiza, con el escólex difícilmente de identificar debido a su coloración, también en algunos

Cysticercus tenuicollis se encuentran con formaciones redondeadas y ya encapsulados o calcificados en órganos específicos como el hígado y pulmones (30).

En estudios realizados, por primera vez se obtiene la prevalencia de *Cysticercus tenuicollis* en ovinos faenados en el centro de faenamiento de Ballesta que provienen de zonas del Departamento de Bolívar - Colombia. Los lugares más frecuentes en donde se ha reportado el quiste, son las partes serosas tanto del rumen como el abomaso, tomando referencia que el hígado es el órgano más afectado. Estos resultados evidencian la gran importancia del procedimiento de la inspección a la canal, así sea en los diferentes sistemas de faenamiento como Centros de faenamiento autorizados o ya sea el caso de sistemas pecuarios que realizan procedimientos de faenamiento artesanal. En el caso de no disponer de un centro de sacrificio para ovejas en la zona norte del Departamento Bolívar, podría estar en riesgo la salud de las personas así como de los animales que se encuentran en contacto con canales o vísceras de los ovinos sacrificados. Como resultado de la recolección de datos es prescindible la disposición adecuada y concluyente de las vísceras que mantengan este tipo de quiste, con el fin de prevenir que sean consumidos por los cánidos domésticos y salvajes que rondan los mataderos. También es necesario, hacer estudios que evalúen los factores de riesgo que existen en cada zona y la prevalencia de la *Taenia hydatigena* sobre todo en los perros de estas regiones. Para estos casos se recomendó la realización de pruebas de diagnóstico coprológico y consecuentemente las desparasitaciones controladas de los caninos del lugar (31).

Tenemos el caso del ciervo colorado en la Patagonia y el rol epidemiológico que este desempeña debido a su alta densidad en ciertos lugares donde su distribución y patrones de movimientos es un potencial epidemiológico como reservorio y vector de parásitos como es el caso del *Cysticercus tenuicollis*, así como también las diferentes enfermedades infecciosas con posibles consecuencias tanto para la fauna silvestre, doméstica e incluso pudiendo afectar a la salud del ser humano. En estos hallazgos, identificados solamente mediante la realización de las necropsias en este ciervo, se concluyó que existen diferentes cargas parasitarias, una de las

cuales es el *Cysticercus tenuicollis*, el cual causaba grandes lesiones hepáticas como comúnmente se han descrito en otras especies y sobre todo identificando enfermedades pulmonares como la neumonía, con distinto grado de prevalencia y afecciones sobre todo en los órganos de los ciervos de mayor edad tanto hembras como machos (32).

Estudios realizados recientemente y mediante pruebas de diagnósticos de laboratorio, se describe por primera vez una prueba de neurocisticercosis, utilizando los protocolos de absorción de suero de tres ovejas parasitadas por *Cysticercus tenuicollis*, en estas pruebas los resultados fueron para la ayuda de búsquedas de anticuerpos, lo cual dará como una base para la diferenciación de saber cuál es la más efectiva en pacientes identificados con presencia de *Cysticercus cellulosae*, pero lamentablemente su uso para este tipo de diagnóstico de comprobación, fue limitada debido a su baja o muy poca sensibilidad, es decir que obtuvo un porcentaje de solamente el 48% (33).

Por lo tanto, la cisticercosis en las diferentes especies, es causada comúnmente por las formas larvarias (metacéstodos) de los cestodos (tenias), este tipo de ciclo adulto evolucionan y se desarrollan tanto en el intestino de los perros domésticos y también en especies silvestres como son los coyotes, zorros y lobos, de los cuales existen documentaciones y también posibles procesos infecciosos en los gatos y también en el ser humano. En este sentido, la cisticercosis de las ovejas y cabras está provocada especialmente por la *Taenia ovis*, *T. multiceps* y *T. hydatigena*, de las cuales se reconoce algunos antígenos vacunales para el metacéstodo de *T. ovis*, pero aún no se halla un antígeno adecuado para fases adultas. Existe el caso de Nueva Zelanda, en donde se ha registrado para su aprobación un tipo de vacuna específica para el control y disminución de *T. ovis*, pero hasta la actualidad aún no se encuentra disponible en el mercado. En el caso de la *Taenia hydatigena* es uno de los casos más especiales debido a que estos parásitos son los más importantes en ovinos y caprinos, encontrando a este parásito en un gran número de producciones pecuarias dedicadas a la cría, engorde y reproducción de ovinos alrededor de todo el mundo (34).

Además, según la FAO, OMS y OIE, (1971-1995) reportan la presencia del parásito en el Ecuador, entre 1971 y 1972; es decir que desde 1973 hasta 1984 se señala que la incidencia de *Cysticercus bovis* es extraña y solo en ciertos casos han sido identificados, pero a partir de 1985 hasta 1995 que es la última publicación, se menciona que la información ya no estaba disponible. Según las organizaciones antes señaladas, las cuales mencionan que para 1995, en América del Sur, se ha reportado sobre la identificación de metacéstodos de *T. saginata* en diferentes países como Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay, Uruguay, Venezuela y Colombia (35). Así mismo, se encuentra información muy interesante como la de algunos países insulares, como por ejemplo Islandia, que a mediados del siglo XIX lograron la total erradicación de hidatidosis, como también de su fase larvaria el *Cysticercus tenuicollis*, esto se desarrolló mediante el control total de los cánidos existentes tanto en las ciudades como en el campo, debido a este pequeño proceso pero de gran importancia sobre el control sanitario para el proceso de faenamiento de animales específicamente para el consumo humano. Siguiendo este ejemplo y ya para finalizar el siglo XX, se logró un control masivo, casi absoluto en territorios insulares como es Tasmania, Groenlandia y Nueva Zelanda (36).

Los programas sobre la erradicación y el control del ciclo oveja/perro en el caso del *Cysticercus tenuicollis*, han tomado un giro exitoso para algunas áreas mundiales, especialmente en islas específicas como Islandia, Nueva Zelanda y Tasmania. Aquí existe un efecto positivo de estos programas dado que su objetivo es identificar al parásito en perros domésticos, mediante el seguimiento periódico y el tratamiento oportuno y adecuado. También, como base específica se desarrollan campañas educativas, conjuntamente con programas de manejo explícitamente para un control adecuado de los perros. Otro factor primordial fue la eliminación del proceso de faenamiento de ovejas en las granjas o mataderos clandestinos, lo cual reduce casi en su totalidad el riesgo de que los perros se infecten y los parásitos cumplan con su ciclo de vida (37).

2.2.1. Clasificación taxonómica

Según IBUNAM (38) la clasificación taxonómica del *Cysticercus tenuicollis* se basa en los diferentes aspectos como son:

Reino: Animalia
Phylum: Platyhelminthes
Clase: Céstoda
Orden: Cyclophyllidea
Familia: Taeniidae
Género: *Cysticercus*
Especie: *tenuicollis*
Nombre Científico: *Cysticercus tenuicollis*

Según Vasco (39) presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Animal
Rama: Helmintos
Tipo: Platelmintos
Clase: Cestodos
Subclase: Cestoda
Orden: Ciclophylata
Suborden: Ciclophylata
Superfamilia: Taenoidea
Familia: Taenidae
Subfamilia: Taeninae
Género: *Taenia*
Especie: *Hydatígena*

Con estos antecedentes, el ciclo biológico evolutivo se inicia con la eliminación de los proglotis grávidos en las fecas (heces) de los perros en el medio ambiente, manteniéndose al aire libre los huevos; es aquí donde interviene el factor primordial que son los hospedadores intermediarios como la oveja, los cuales se infestan cuando ingieren los huevos por medio de los diferentes pastizales y aguas contaminadas. A continuación, en el intestino de los ovinos queda libre la oncósfera, la cual atraviesa la pared intestinal, llegando así a la corriente sanguínea, es decir mediante la vía porta es capaz de llegar a varios órganos como es el caso del hígado, en el cual va perforando, encapsulándose y de a poco se difunde en las vísceras del hospedador formándose los quistes.

Además, los quistes también llamados cisticercos, tienen un aspecto característico de vesícula piriforme, mantienen una fina pared transparente la cual encierra además un líquido de igual forma transparente, debido a la membrana transparente se puede observar que fijado a la pared se encuentra un solo escólex invaginado. Estos quistes o vesículas se encuentran ubicados en las partes serosas como el mesenterio, epiplón, pleura, entre otros. Mediante varios de los reportes mencionados por Quiroz, la *Taenia hydatigena* es un cestodo que se encuentra específicamente tanto en el intestino delgado de los perros domésticos y salvajes, zorros, coyotes y lobos; sin embargo, la fase larvaria conocida como *Cysticercus tenuicollis* se localiza en lugares cerosos tanto en el hígado, mesenterio y epiplón, de hospedadores intermediarios como los bovinos, caprinos, cerdos y especialmente los ovinos de todas las razas y edades (40).

Según lo descrito, el *Cysticercus tenuicollis* es la fase larval de la *Taenia hydatigena*, este cisticerco es una vesícula abultada que va desde unos 2 a 5 cm de diámetro y que también puede llegar a poseer unas grandes dimensiones que puede pasar el tamaño hasta una manzana, estas vesículas normalmente estarán alojándose en diferentes áreas de la cavidad abdominal tanto de los ovinos como también de otros mamíferos. Este quiste se encuentra recubierto por una pared muy fina y delgada, la cual contiene un líquido translucido y en ciertas ocasiones un color grisáceo. En términos vulgares y en la mayoría de comunidades también se le denomina “bola de agua”. En la parte interna de la vesícula consta una invaginación cefálica, la cual contiene un solo escólex que se mantiene con un largo cuello, el cual flota en el líquido vesicular (41).

Excepcionalmente y solo en ciertas ocasiones el *Cysticercus tenuicollis* puede producir vesículas hijas internas, de similares características, las cuales van a permanecer unidas en el interior del cisticerco primario. En el caso del ciclo biológico de este parásito se desarrolla solamente cuando un perro es alimentado con vísceras de ovinos y las cuales contengan el cisticerco viable, en donde los protoescoleces se van a transformar en parásitos adultos, y comienza nuevamente el ciclo biológico del parásito (42).

2.2.2. Ciclo evolutivo del *Cysticercus Tenuicollis*

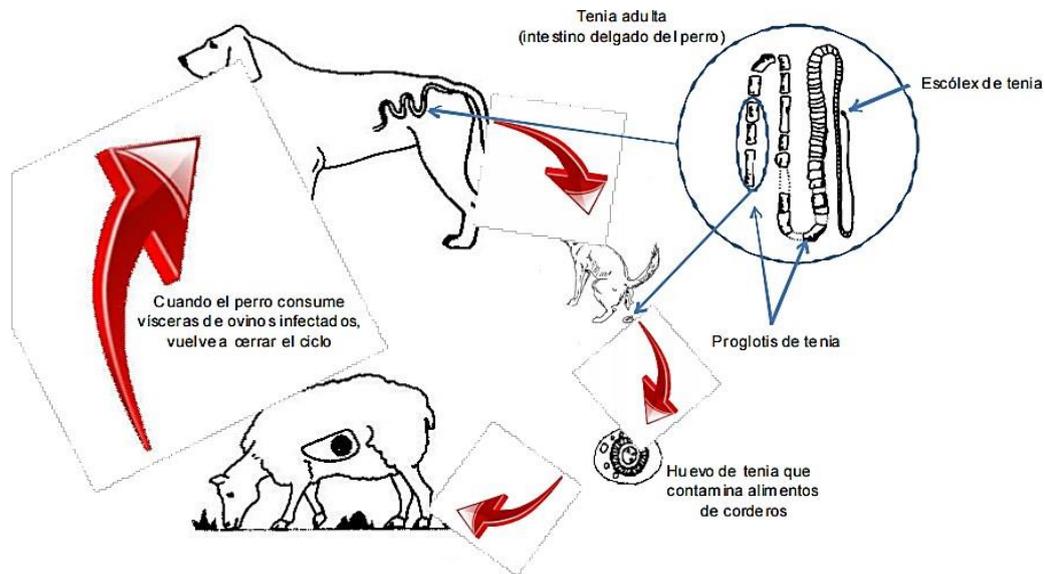


Figura 1. Ciclo evolutivo del *Cysticercus tenuicollis*

Fuente. Hanse J, Perry B. The Epidemiology, Diagnosis and Control of Helminth Parasites of Ruminants; 1994

Adicionalmente, las principales fuentes de infección, infestación y métodos de transmisión hacia los seres humanos es la convivencia con los animales domésticos de producción, este es un punto clave para adquirir estos tipos de parásitos que a través del contacto directo y estrecho hacia ellos, descuidamos la higiene con las mascotas como: perros y gatos los cuales podrían estar con una alta carga parasitaria; en tal razón, la etapa de la vida que habitualmente se originan mayores infecciones, es la niñez; situación similar se produce en el ganado.

La mayoría de los autores que estudian los casos de *Cysticercus tenuicollis*, mencionan que la cisticercosis visceral ovina se produce por el paso de la oncósfera de *Taenia hydatigena* (*Cysticercus tenuicollis*), la cual sigue su curso atravesando el hígado, lo que ocasiona una gran variedad de lesiones en toda su trayectoria. Esta oncósfera tiene la capacidad de poder atravesar la cápsula ya sea en un solo punto o también serpenteando por debajo de ésta hasta que la traspasa en su totalidad. Cuando esta llega a alcanzar su etapa de oncósfera, en la superficie comienza a formarse la vesícula parasitaria o quiste vesicular. Varias de estas vesículas terminan siendo no viables, con lo cual van a permanecer enquistadas y parecidas

a unos botones de color blanquecino amarillento, cuando se tiene la presencia de estas vesículas, irritan totalmente las láminas peritoneales, lo que provoca una grave inflamación la cual posteriormente y regularmente suele fibrosarse sobre todo en aquellas zonas donde se localizan las vesículas ocupando áreas mucho más extensas que de la cápsula hepática.

La cisticercosis causada por el estadio larvario metacestodo de *Taenia hydatigena* es una enfermedad de importancia veterinaria y económica. Se ha documentado un nivel considerable de variación genética entre aislamientos de diferentes hospedadores intermedios y ubicaciones. En general, los datos sobre la estructura genética de la población de *T. hydatigena* son escasos y deficientes. Mientras tanto, hallazgos similares en otros cestodos como *Echinococcus* spp. se ha encontrado que son de importancia epidemiológica (43).

De igual manera, algunos de los cisticercos pueden llegar a ubicarse con mayor proporción en las partes serosas de los prestómagos y abomaso. Estas vesículas tienen la característica de ser redondeadas, mantienen un tamaño variable y contienen una formación blanquecina con la capacidad de desplazarse, la cual corresponde directamente con el protoescólex del futuro cestodo. Es conocido que las oncósferas tienen como preferencia su ubicación y trayectoria hacia la cavidad abdominal, éstas también pueden ocasionar varias lesiones en forma de trayecto en la superficie de órganos sensibles como el pulmón.

El *Cysticercus tenuicollis* puede también producir ciertos abscesos hepáticos que en el examen postmortem de superficie en los órganos y especialmente los abscesos hepáticos pueden confundirse con las lesiones de cisticercos debido a que estos pueden formar también varios tipos de inflamaciones y sobre todo adherencias en la superficie del hígado. En ciertas ocasiones las vesículas de los cisticercos se desarrollan en el interior del parénquima hepático en donde posiblemente puede ocasionar confusiones con un absceso, debido a su singular similitud. En este caso si se trata de una vesícula intraparenquimatosa, en el centro de esta formación se mantiene como hueco e inclusive podremos apreciar un pequeño protoescólex. Pero en el caso de que se trate de un absceso, en este se descubre una cantidad significativa de pus en su interior.

Normalmente se producen varias lesiones que causan o que son producido por los trayectos parasitarios de cisticercos también encontrados en el pulmón de los ovinos, es muy frecuente encontrar en el examen post mortem de matadero algunas lesiones con formaciones de trayectos numerosos en la superficie pulmonar. Estos trayectos o surcos aparecen como formaciones alargadas o redondeadas en cualquier lugar de la superficie pulmonar en el caso de poder analizarlas más de cerca y detalladamente podremos ver como se caracterizan haciendo diferentes relieves y formas sobre la pleura, pero estas no logran romperla pero si producir irritaciones. En estos casos que en el hígado se observan también las lesiones más comunes de *Cysticercus tenuicollis*. Encontrando las vesículas parasitarias que permanecen alojadas en el mesenterio, se puede observar que cada una de las vesículas contiene un solo protoescólex en su interior, la cual se caracteriza por tener una formación redondeada y un color típico blanquecino.

En algunas ocasiones los *Cysticercus tenuicollis* se los puede identificar también en el músculo esquelético, es rara vez que ocurre este caso, porque generalmente estos cisticercos se los va a encontrar de una forma calcificada debido a su estructura en donde trata de ubicarse. Este cisticercos tiene la característica de poseer una forma semi redondeada, un color blanquecino y sobre todo una consistencia dura.

2.2.3 Método de PCR para parasitología

En diferentes países altamente desarrollados e industrializados donde los porcentajes de infección causadas por parásitos en la población animal autóctona de un lugar delimitado son relativamente bajas, la sensibilidad de las técnicas o pruebas de detección adquiere un papel muy importante. Esto implica elevados costes laborales, el aumento invariable de los diferentes tipos y los grandes volúmenes de muestras, pero sobre todo la gran cantidad de pedidos para efectuar diagnósticos, lo que conlleva a extender fuentes de trabajo para los laboratorios clínicos; por lo tanto, surge la necesidad de implementar estrategias adecuadas para diagnosticar procesos patológicos sobre las parasitosis (44).

Así también, la microscopía convencional está siendo rápidamente reemplazada por técnicas moleculares, las cuales están establecidas específicamente sobre la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) como diagnóstico práctico en los

laboratorios clínicos más modernos y especializados, principalmente en Estados Unidos y algunas regiones de Europa. Esta tecnología mejora ampliamente el rendimiento de varios diagnósticos; además, permite una automatización que conlleva a viabilizar la comparación directa entre varios laboratorios. En tal sentido, representan un específico avance ante el conocimiento de los mecanismos que influyen sobre el control de infecciones parasitarias y del equilibrio que desencadena en el análisis de una sintomatología más sensible (45).

Las pruebas de PCR utilizan iniciadores, cebadores o “primers” para delimitar la amplificación de un segmento determinado del ADN utilizando una ADN polimerasa termoresistente. El resultado de la prueba es la amplificación de un fragmento de ADN específico, de tamaño conocido, detectado a través de la electroforesis en geles de agarosa donde es visualizado como una banda discreta mediante la fluorescencia a la luz UV luego del tratamiento del gel con compuestos fluorescentes intercaladores de ADN seguido por un registro fotográfico (46).

También el beneficio de las pruebas PCR (reacción en cadena de polimerasa) se basa sobre la sencibilidad, robustez, especificidad, reproducibilidad y sobre todo, en la cantidad posible de ADN amplificado, lo cual tiene como utilidad más efectiva y práctica ante el diagnóstico clínico, la caracterización molecular de aislados, cifrado de muestras en estudios epidemiológicos mediante cada protocolo que sugiera PCR, ésta prueba va a depender del formato adecuado para su utilización y funcionabilidad, dependiendo de factores como el tipo de gen, la región establecida a la cual se debe ejecutar la amplificación, el tipo y diseño de los cebadores y específicamente la calidad de los reactivos que van a ser utilizados, como por ejemplo la polimerasa (47).

En la actualidad existe una variada gama de pruebas de reacción en cadena de polimerasa (PCR) para la detección de diversas etapas de parásitos y especies, las más prácticas y establecidas en los laboratorios son PCR directas, anidadas, semi anidadas, en tiempo real (qPCR, únicas o múltiples), las cuales están fuertemente relacionadas con el análisis del polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (PCR - RFLP) y establecidas convenientemente en los mecanismos de amplificación isotérmica mediada por bucle (PCR - LAMP), entre otras. Así

mismo, el procedimiento del PCR consiste en llevar la reacción hasta una temperatura de 94-96 °C (ó 98 °C si se está usando una polimerasa termoestable extrema), que se mantiene durante 1-9 minutos 35; esto sólo es necesario para ADN polimerasas que requieran activación por calor 31. En el proceso de desnaturalización, las dos cadenas del ADN se separan una de la otra y permiten que la matriz (“template”) se encuentre como cadena simple, necesaria para la actividad llevada a cabo por la polimerasa termoestable durante los pasos de amplificación (48).

Durante los últimos diez años, se ha producido un progreso notable en el estudio de la evolución; entre los factores más importantes que son responsables de este progreso se encuentran los desarrollos de nuevos métodos estadísticos y avances en tecnología computacional. En particular, el análisis filogenético de secuencias de ADN o proteínas se ha convertido en una herramienta poderosa para estudiar la evolución molecular (49). De la misma forma, existen programas informáticos y de archivos que se utilizan para analizar y procesar electrónicamente muestras conforme los avances en tecnología informática (50).

Por lo tanto, la taxonomía numérica en sentido amplio es el mayor avance en sistemática puesto que ha estimulado varias áreas nuevas de crecimiento, incluida la filogenética numérica, la taxonomía molecular, la morfometría y la identificación numérica puesto que tiene una amplia aplicación fuera de la biología sistemática (51).

En tal sentido, los signos y síntomas de los parásitos en general pueden deberse al efecto masa del quiste, su sobreinfección o reacciones de anafilaxia secundarias a su ruptura (52). La variación genética ha sido bien estudiada en la mayoría de las especies de cestodos, por ejemplo *Echinococcus granulosus*, y se correlaciona con la morfología del parásito, la infectividad del huésped, el desarrollo de fármacos y vacunas y, en última instancia, el control (53). De manera similar, algunos estudios determinan que los resultados de los análisis forman un grupo monofilético estrechamente relacionado con un subgrupo de géneros australasiáticos (*Paranephrops* y *parastacoides*); además, los resultados respaldan la actual asignación de géneros sudamericanos (54).

La UDLA ha desarrollado técnicas alternativas y efectivas para la identificación molecular como es la PCR la cual es la más solicitada por motivos de protocolos, también está en tiempo real (qPCR), con la cual se identifican muestras de una forma rápida y específica del ADN en diferentes especies y de zonas endémicas. En la institución se estandarizó un tipo de PCR en tiempo real, el cual está basado en el uso de cebadores diseñados in situ, en donde se generalizó por medio de gradientes de temperatura de hibridación y denaturación, también entre la diversificación de la concentración de los cebadores (55).

Sin embargo, en el caso de las curvas de calibrado que se obtiene mediante estas pruebas de PCR, las cuales mantienen una eficiencia mayor al 90% y con un coeficiente de correlación (R^2) mayor al 0,98, lo cual indica que el nivel de confiabilidad de la técnica es alta. Continuando con la especificidad, esta se determina comparando el ADN de muestras, para encontrar que los cebadores fueron los específicos para X muestras (56).

Por lo tanto, para la realización de las pruebas de PCR en la UDLA es necesario recurrir al siguiente proceso de investigación:

- Extracción de ADN: Extracción orgánica a través de fenol – cloroformo
- PCR de amplificación: PCR / punto final / convencional
- Electroforesis: Gel de agarosa al 2%
- Secuenciación: Se divide en tres fases, la Purificación (purificación enzimática), Matriz (secuenciación Sanger / BigDye 3.1 / analizada en electroforesis capilar), y purificación para secuenciación (protocolo basado en la resina de filtración en gel), mediante la secuenciación en Sanger (fwd y rev) (57).

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la investigación del estudio morfológico del *Cysticercus tenuicollis* se utilizó una serie de materiales y equipos, con el fin de recolectar información clara, confiable y organizada; por lo tanto, se detalla lo siguiente:

3.1 Materiales de campo

- *Cysticercus tenuicollis* (quistes - vesículas)
- Cámara fotográfica
- Esferográfico
- Botas
- Ovinos para faenamiento
- Alcohol al 70%
- Gel refrigerante
- Regla
- Overol
- Fundas desechables
- Mascarilla
- Gafas de protección
- Cinta métrica
- Bisturíes
- Guantes de látex
- Etiquetas de identificación de muestras
- Mangos de bisturí
- Cooler

3.2 Materiales de laboratorio

- *Cysticercus tenuicollis*
- Cámara fotográfica
- Esferográfico
- Alcohol al 70%
- Jeringas de 5, 10 y 20 ml
- Microtubos Eppendorf para muestras
- Gel refrigerante
- Regla
- Bisturíes
- Guantes de látex
- Tijeras
- Gazas
- Algodón
- Papel limpión
- Tinturas Dip Quick Stain (verde, roja y azul)
- Gotero
- Microscopio
- Porta y cubre objetos
- Ácido acético
- Etiquetas de identificación de muestras
- Tubos estériles sin anticoagulante
- Mangos de bisturí
- Cooler
- Mortero
- Tasa
- Balanza – Gramera
- Pinzas

3.3 Materiales de oficina

- Cámara fotográfica

- Esferográfico
- Marcador
- Regla
- Escuadra
- Hojas de registros
- Hojas de recolección de datos
- Paquete de hojas redMax
- Computadora
- Impresora
- Cinta métrica
- Etiquetas de identificación de muestras

Además, se realizó una investigación descriptiva que nos ayuda a conocer las situaciones particulares, actividades, procesos, características y actitudes predominantes a través de la descripción exacta de fenómenos, objetos, procesos y personas, con el fin de establecer el comportamiento del objeto de estudio. En este sentido, implica el observar y describir sobre el comportamiento, sin influir sobre él de ninguna manera. Este tipo de investigación descriptiva permite analizar de la manera más específica las características sobre los procesos, personas, objetos o cualquier otro fenómeno que sea sometido al análisis de dicha investigación (58).

Al respecto, se utilizó el nivel descriptivo debido a que se recolectó información con respecto a los *Cysticercus Tenuicollis* en ovinos faenados en mataderos. Además, permitió describir la problemática sobre las repercusiones que produce la fase larvaria (*Cysticercus tenuicollis*) en la producción de ovinos y sus factores de riesgo.

3.4 Lugar de investigación

Empresa Pública Metropolitana de Rastro Quito (EMRAQ-EP), ubicada en la Provincia de Pichincha, Cantón Quito, Parroquia Turubamba de Monjas, Ciudadela la Ecuatoriana.

Empresa Pública Metropolitana de Rastro Quito (EMRAQ-EP), ubicada en la Provincia de Pichincha, Cantón Mejía, Parroquia Machachi.

Comunidades del Cantón Pujilí y Saquisilí – Provincia de Cotopaxi, dedicadas a la producción de ovinos.

3.5 Población

Para el análisis se tomó como población los ovinos que son faenados en la Empresa Pública Metropolitana de Rastro Quito (EMRAQ-EP) y en las comunidades de los Cantones Pujilí y Saquisilí en la Provincia de Cotopaxi, en consecuencia, la población considerada para esta investigación son 220 ovinos, los cuales representan una población finita, dado que se conoce con certeza el número de elementos de estudio que se mencionan en la Tabla 2.

Tabla 2. Número de ovinos faenados, período febrero a noviembre 2020

Empresa Pública Metropolitana de Rastro Quito (EMRAQ-EP)	NÚMERO DE OVINOS FAENADOS
Parroquia Turubamba de Monjas	100
Parroquia Machachi	100
Comunidades Pujilí - Saquisilí	20
TOTAL	220

A partir de estos datos anteriormente mencionados se obtuvo una muestra total post mortem de que 82 ovinos tenían *Cysticercus tenuicollis*; por lo tanto, una vez recopilada dicha información se llegó a las conclusiones establecidas en relación a la hipótesis. Estos resultados se representan utilizando las siguientes representaciones:

- Escrita o textual, cuando los datos no fueron numerosos.
- Tabular, cuando los datos numéricos requirieron ser ordenados en filas y columnas.
- Gráficas, con el objetivo de presentar la información en forma comparativa y entendible.

Finalmente, la tabulación de datos y la representación de resultados se realizaron mediante el programa Microsoft Excel, con la aplicación de fórmulas propias del programa logrando una cuantificación rápida, ordenada y efectiva de los datos ya establecidos.

Según la información recolectada en los mataderos o centros de faenamiento, dan como resultado para el observador que, los ovinos que ingresan son revisados por un médico veterinario que caracteriza ante mortem las razas, edades, sexos, condiciones corporales, si posiblemente tiene o no algún tipo de patología que sea visible y si tiene o no parásitos externos; dando como resultado un adecuado manejo de los animales y registros de datos óptimos una vez que ingresan al centro de faenamiento como se establecen en la Tabla 3.

Tabla 3. Características generales de ovinos faenados desde Enero 2020 hasta Diciembre 2020

C.C.	EIDADES AL SACRIFICIO	PRESENCIA		SEXO/HEMBRAS-MACHOS	PROMEDIO DE VIDA
		DE ENFERMEDADES	PARÁSITOS EXTERNOS		
Prom. 2 - 3 / 5	11 meses - 3 años	No	No	H 40 – M 180	15 años

Una vez faenado el ovino de una forma adecuada y siguiendo los procesos estandarizados de las Buenas Prácticas de Mataderos, se procede con la revisión de órganos para la identificación de posibles patologías las cuales harán que ciertos órganos sean decomisados o puestos en estudio para un posible análisis y toma de muestras, con lo cual se podrá descartar cualquier tipo de alteración que pueda o no modificar o repercutir con la salud humana en general.

Tabla 4. Características generales de ovinos faenados con presencia de *Cysticercus tenuicollis*

OVINOS FAENADOS CON PRESENCIA DE <i>Cysticercus tenuicollis</i>					
Condición Corporal	Edades al sacrificio	Presencias de enfermedades	Parásitos externos	Sexo/Hembras -Machos	Promedio de vida
prom. 2 - 3 / 5	11 meses - 3 años	No	No	H 28 - M 54	15 años

3.6 Perfil Genético

Siguiendo con el estudio morfológico y como dato general sobre el *Cysticercus tenuicollis* hemos visto la necesidad investigativa de realizar un estudio sobre el perfil genético de este parásito.

Tabla 5 . Muestras de CT para envío a Laboratorios UDLA

ESTUDIO MORFOLÓGICO DEL <i>Cysticercus tenuicollis</i> EN OVINOS FAENADOS EN MATADEROS				
MUESTRAS PARA ENVÍO A LABORATORIOS UDLA ESTUDIO MOLECULAR (PERFÍL GENÉTICO)				
DRA. MERCEDES TORO. / MVZ. MAURICIO AGUILERA.				
FECHA: LUNES 11/01/2021				
CÓDIGO	MEDIDA	PESO	COLOR	CONSISTENCIA
CT 001	0.2 mm	18.5 mg	Blanco	Dura
CT 002	0.3 mm	32.1 mg	Blanco	Dura
CT 003	0.3 mm	22.6 mg	Blanco	Dura
CT 004	0.3 mm	36.1 mg	Blanco	Dura
CT 005	0.2 mm	41.2 mg	Blanco	Blanda
CT 006	0.3 mm	38.0 mg	Blanco	Blanda
CT 007	0.2 mm	16.1 mg	Blanco	Dura
CT 008	0.2 mm	25.4 mg	Blanco	Dura
CT 009	0.2 mm	44.5 mg	Blanco - Gris	Dura
CT 010	0.3 mm	32.2 mg	Blanco	Dura
CT 011	0.4 mm	39.6 mg	Blanco - Amarillento	Dura
CT 012	0.3 mm	17.7 mg	Blanco	Blanda
CT 013	0.2 mm	19.7 mg	Blanco	Dura
CT 014	0.3 mm	41.5 mg	Blanco	Dura
CT 015	0.3 mm	20.6 mg	Blanco	Dura
CT 016	0.2 mm	22.3 mg	Blanco	Dura
CT 017	0.2 mm	10.8 mg	Blanco	Dura
CT 018	0.3 mm	41.5 mg	Blanco	Dura
CT 019	0.3 mm	26.6 mg	Blanco	Blanda
CT 020	0.2 mm	28.8 mg	Blanco	Dura

Para la realización de este estudio y dentro de los resultados, está basado en la producción de la PCR (Prueba de Proteína C reactiva) y la Electroforesis, para poder ampliar la secuencia de esta región conservada o esta región específica del gen como tal, que nos ayuda a la identificación de la especie parasitaria, en este caso el estudio está basado en NAD (Nicotinamida Adenina Dinucleótido) y COX (Ciclooxigenasa).

- Los genes que van a ser amplificados con las muestras de *Cysticercus tenuicollis*: NAD – COX 1 Forward y Reverse.

- En la amplificación por PCR de los genes mitocondriales NAD 1 y COX 1 se utilizarán los siguientes pares de cebadores (primers) específicos para parásitos cestodos: 5´CARTTTCGTAAGGGBCCWAAWAAGGT directo y 5´-CCAATTCYTGAAGTTAACAGCATCA inverso.

3.6.1 Extracción orgánica de ADN: a partir de Fenol – Cloroformo

- Diseccionar 2 mm de la muestra de tejido y transferirla a un nuevo tubo de 1.5 mL.
- Añadir 500 µL de Buffer de Extracción y macerar con una punta de pipeta o pistilo por 5 minutos al interior de un bloque frío.
- Realizar vortex por 1 minuto y colocar 5 µL de Proteinasa K (20 mg/mL).
- Incubar las muestras a 56°C toda la noche en agitación, a 300 rpm.
- Sacar las muestras del termobloque, dejar reposar 5 minutos a temperatura ambiente.
- Añadir 750 µL de Fenol/Cloroformo/Isoamílico y realizar vortex hasta formar una emulsión lechosa.
- Centrifugar 10 minutos a 4°C a máxima velocidad. Transferir toda la fase acuosa a un nuevo microtubo de 1.5 mL.
- Añadir a esa fase, 500 µL de Cloroformo: Isoamílico, homogenizar en vortex.
- Centrifugar 10 minutos a 4°C a máxima velocidad. Transferir toda la fase acuosa a un nuevo microtubo de 1.5 mL.
- Añadir al nuevo microtubo, 400 µL Isopropanol 100% y 40 µL de NaCl 3M.
- Agitar bien y dejar reposar a temperatura ambiente por dos horas.
- Centrifugar por 30 minutos a 4°C a 15000 rpm.
- Descartar el sobrenadante con mucho cuidado de no alterar el pellet.
- Agregar 1000 uL de Etanol 70% helado y centrifugar por 15 min a 15000 rpm.
- Descartar el sobrenadante y dejar secar.
- Re suspender en 40 µL de Agua Milli Q o TE e incubar la muestra a 37°C por dos horas.
- Cuantificar la concentración de ADN

3.6.2 Cuantificación y dilución de muestras de extractos de ADN:

Cuantificar mediante espectrofotómetro – nanodrop las concentraciones de ADN obtenidos en el procedimiento anterior, y diluir hasta alcanzar una concentración final de 5 ng/uL, almacenando ambas muestras (ADN concentrado y ADN diluido):

Tabla 6. *Diluciones Cisterco*

DILUCIONES CISTICERCO			
	VOLÚMEN FINAL (µL)		20
	CONCENTRACIÓN FINAL (ng/µL)		5
ID MUESTRA	C. INICIAL	V. ADN	V. AGUA
C001	73,3	1,3	18,64
C002	212,8	0,47	19,53
C003	305,4	0,33	19,67
C004	215,5	0,46	19,54
C005	150	0,67	19,33
C006	275,5	0,36	19,64
C007	126,2	0,79	19,21
C008	273,5	0,37	19,63
C009	236,5	0,42	19,58
C010	109,3	0,91	19,09
C011	136,3	0,73	19,27
C012	73,1	1,37	18,63
C013	124,8	0,8	19,2
C014	155,2	0,64	19,36
C015	107	0,93	19,07
C016	76,8	1,3	18,7
C017	101,6	0,98	19,02
C018	95,9	1,04	18,96
C019	109,3	0,91	19,09
C020	126,4	0,79	19,21

3.6.3 Amplificación de fragmentos por PCR

1. Ensamblar los componentes para una PCR bajo las siguientes condiciones:

Tabla 7. Componentes para un PCR

COMPONENTE	C. Inicial	C. Final	Vol. 1 Rx (µL)	Vol. 60 Rx (µL)
Agua MQ			8,8	528
Buffer	10X	1X	1,5	90
MgCl ₂	50 mM	1,5 mM	0,45	27
dNTP Mix	10 mM	0,2	0,3	18
Primer Fw	20 µM	0,5 µM	0,375	22,5
Primer Rv	20 µM	0,5 µM	0,375	22,5
Taq Polimerasa*	10 U/uL	2 U/uL	0,2	12
ADN	5 ng/µL	1 ng/µL	3	
Volumen Final			15	

Fuente. Universidad de las Américas. Componentes para un PCR. Quito: 2021

2. Colocar las muestras en el termociclador, estableciendo los siguientes parámetros:

Tabla 8. Muestras en el termociclador

Paso	T (°C)	Tiempo	No. Ciclos
Denaturación Inicial	94.0	0:02:00	1
Denaturación	94.0	0:00:30	35
Annealing	58.0	0:00:30	
Elongación	72.0	0:01:00	
Elongación final	72.0	0:05:00	1
Reposo	4.0	0:10:00	1

Fuente. Universidad de las Américas. Muestras en el termociclador. Quito; 2021

3.6.4 Secuenciación

Purificar los productos de PCR mediante purificación enzimática; y realizar la secuenciación Sanger, matriz BigDye 3.1, según recomendaciones del fabricante.

Para la secuenciación específica se toma como resultado tres aspectos que correlacionan a la obtención de los resultados como son:

Purificación: Purificación enzimática

Matriz: Secuenciación Sanger (BygDye – 3.1) analizada en electroforesis capilar.

Purificación para secuenciación: Protocolo basado en resina de filtración en gel.

3.6.5 Análisis Molecular del Gen Nad1 del ADN Mitocondrial de *Cysticercus tenuicollis*

Muestreo y extracción de ADN

Fueron recolectadas 20 muestras de quistes (de 2 a 5 cm de tamaño) de hígado de ovejas faenados en la Empresa Pública Metropolitana de Rastro Quito (EMRAQ-EP) y en las comunidades de los Cantones Pujilí y Saquisilí en la Provincia de Cotopaxi.

El análisis molecular de las muestras se realizó en el Laboratorio de Investigación de la Universidad de las Américas, UDLA.

Se extrajo ADN de una porción de tejido de cada cisticerco mediante el método Fenol-Cloroformo:

- Diseccionar 2 mm de la muestra de tejido y transferirla a un nuevo tubo de 1.5 mL.
- Añadir 500 µL de Buffer de Extracción y macerar con una punta de pipeta o pistilo por 5 minutos al interior de un bloque frío.
- Realizar vortex por 1 minuto y colocar 5 µL de Proteinasa K (20 mg/mL).
- Incubar las muestras a 56°C toda la noche en agitación, a 300 rpm.
- Sacar las muestras del termobloque, dejar reposar 5 minutos a temperatura ambiente.
- Añadir 750 µL de Fenol/Cloroformo/Isoamílico y realizar vortex hasta formar una emulsión lechosa.
- Centrifugar 10 minutos a 4°C a máxima velocidad. Transferir toda la fase acuosa a un nuevo microtubo de 1.5 mL.
- Añadir a esa fase, 500 µL de Cloroformo: Isoamílico, homogenizar en vortex.
- Centrifugar 10 minutos a 4°C a máxima velocidad. Transferir toda la fase acuosa a un nuevo microtubo de 1.5 mL.
- Añadir al nuevo microtubo, 400 µL Isopropanol 100% y 40 µL de NaCl 3M.

- Agitar bien y dejar reposar a temperatura ambiente por dos horas.
- Centrifugar por 30 minutos a 4°C a 15000 rpm.
- Descartar el sobrenadante con mucho cuidado de no alterar el pellet.
- Agregar 1000 uL de Etanol 70% helado y centrifugar por 15 min a 15000 rpm.
- Descartar el sobrenadante y dejar secar.
- Re suspender en 40 µL de Agua Milli Q o TE e incubar la muestra a 37°C por dos horas.
- Cuantificar la concentración de ADN

Cuantificación y dilución de muestras de ADN

La cuantificación de las concentraciones de ADN se realizó mediante espectrofotómetro – nanodrop, posteriormente se procedió a diluir hasta alcanzar una concentración final de 5 ng/uL (Tabla 6). Las muestras fueron almacenadas en Freezer a -20oC hasta su uso.

Tabla 9. Diluciones muestras de ADN de *Cysticercus tenuicollis*

DILUCIONES			
VOLÚMEN FINAL (µL)			20
CONCENTRACIÓN FINAL (ng/µL)			5
ID MUESTRA	C. INICIAL	V. ADN	V. AGUA
C001	73,3	1,3	18,64
C002	212,8	0,47	19,53
C003	305,4	0,33	19,67
C004	215,5	0,46	19,54
C005	150	0,67	19,33
C006	275,5	0,36	19,64
C007	126,2	0,79	19,21
C008	273,5	0,37	19,63
C009	236,5	0,42	19,58
C010	109,3	0,91	19,09
C011	136,3	0,73	19,27

C012	73,1	1,37	18,63
C013	124,8	0,8	19,2
C014	155,2	0,64	19,36
C015	107	0,93	19,07
C016	76,8	1,3	18,7
C017	101,6	0,98	19,02
C018	95,9	1,04	18,96
C019	109,3	0,91	19,09
C020	126,4	0,79	19,21

Amplificación de los fragmentos

En el estudio fueron secuenciados un total de 454 pb de la subunidad 1 de la NADH deshidrogenasa (Nad1) del ADN mitocondrial de *T. hydatigena* aislados de ovinos.

La amplificación por PCR del gen mitocondrial nad1 se realizó utilizando el siguiente par de cebadores (primers) específicos para parásitos cestodos, descritos por (Muku et al., 2020):

5'-CARTTTCGTAAGGGBCCWAAWAAGGT-3' directo

5'-5'-CCAATTCYTGAAGTTAACAGCATCA-3' inverso,

Las reacciones de PCR fueron realizadas a un volumen final de 15 µl para cada muestra (Tabla 10), compuesta de:

Tabla 10. Componentes para la PCR de amplificación del gen *nad1*

COMPONENTE	C. Inicial	C. Final	Vol. 1 Rx (μ L)	Vol. 60 Rx (μ L)
Agua MQ			8,8	528
Buffer	10X	1X	1,5	90
MgCl₂	50 mM	1,5 mM	0,45	27
dNTP Mix	10 mM	0,2	0,3	18
Primer Fw	20 μ M	0,5 μ M	0,375	22,5
Primer Rv	20 μ M	0,5 μ M	0,375	22,5
Taq Polimerasa*	10 U/uL	2 U/uL	0,2	12
ADN	5 ng/ μ L	1 ng/ μ L	3	
Volumen Final			15	

*: Platinum® Taq DNA polymerase, Ref: 10966-034

Los fragmentos fueron generados por PCR mediante el uso de termocicladores, con las siguientes condiciones: temperatura inicial de desnaturalización de 94°C por 2 min (1 ciclo), seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94°C por 1 min, acoplamiento de los primers a 58°C por 30 seg, extensión a 72°C por 1 min y una extensión final de los productos a 72°C por 5 min, finalizado con 10 min de reposo a 4°C.

Los productos de las amplificaciones fueron visualizados en geles de agarosa 2 % para identificar posibles fallas. Los geles fueron coloreados con SYBR Safe, analizados sobre luz ultravioleta y fotografiados. En cada caso se corrió un control negativo para verificación de contaminación. En cada caso se corrió un control negativo para verificación de contaminación.

Purificación de la PCR y reacción de secuenciación

El producto amplificado fue secuenciado con kit de secuenciación BigDye v3.1 (Applied Biosystems). Las reacciones de secuenciación fueron purificadas mediante purificación enzimática, protocolo basado en resina de filtración en gel. Se empleó la matriz de secuenciación Sanger (BigDye - 3.1), analizada en electroforesis capilar.

Alineamiento de las secuencias

Las secuencias fueron alineadas y editadas con el programa MEGA X (Kumar et al., 2018), a partir de la secuencia de referencia (MN175584.1), disponibles en el GenBank (Ohiolei et al., 2019).

Análisis estadísticos

Análisis de la variabilidad genética

La determinación de los polimorfismos identificados (número de haplotipos, la diversidad haplotípica, la diversidad nucleotídica, así como el número de mutaciones y el número de haplotipos compartidos) se realizó mediante el programa DnaSP versión 6 (Rozas et al., 2017).

Identificación molecular

La identidad de cada aislado fue confirmada mediante su secuencia de nucleótidos, al compararla con otras secuencias de cestodos disponibles en el GenBank, a partir del algoritmo NCBI BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Análisis Filogenético

Los árboles filogenéticos generados entre secuencias del gen Nad1 (454 pb) de *Cysticercus tenuicollis* y la comparación con otras secuencias depositadas en el GenBank con los números de acceso: MN175584.1 para *Taenia hydatigena* de Nigeria (Ohiolei et al., 2019) y FJ440841.1 para *Taenia regis de* Uganda (Hüttner et al., 2009), fueron construidos utilizando el método UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic averages) (Sneath y Sokal, 1973) y el NJ (neighbor-joining) (Nei y Kumar, 2000). La confiabilidad de los árboles obtenidos se determinó con un test de replicaciones (bootstrapping) con (500 réplicas), se muestra junto a las ramas (Felsenstein, 1985). Todos los análisis se realizaron en programa MEGA X (Kumar et al., 2018).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presenta el análisis de los resultados obtenidos en el estudio Morfológico del *Cysticercus tenuicollis* en ovinos, los mismos que fueron faenados en mataderos de la Empresa Pública Metropolitana de Rastro Quito (EMRAQ-EP).

Una vez detectado el tipo de patología en algún órgano, en este caso durante el estudio post mortem, es observado el *Cysticercus tenuicollis*, que es el motivo de nuestro estudio, se procede a recolectar las diferentes vesículas o quistes globulares que se encuentran diseminados especialmente en las paredes cerosas, peritoneo y por ende adheridos en algunos órganos como el bazo, hígado, vejiga, riñón, los cuales se pueden observar en la Figura 2, y en algunos casos también se logró encontrar quistes tanto en los pulmones como en el aparato reproductor de la hembra, donde se produce un foco de fibrosis que alteran seriamente la estructura de dichos órganos, lo cual perjudicaría en la reproducción de los ovinos en el caso de ser destinadas como posibles madres. Los resultados los podemos observar en la Tabla 4; y en el Figura 3 en donde el quiste de *Cysticercus tenuicollis* se encuentra claramente adherido y enquistado desde la parte superior del parénquima hepático hacia el interior del hígado, formando fibrosis que alteran el funcionamiento normal, por tal motivo, causando el decomiso total del órgano y por ende pérdidas económicas para el productor.

Por motivos de la pandemia, fue necesario realizar algunas necropsias en ovinos en las diferentes comunidades de la Provincia de Cotopaxi, aquí mencionamos detalladamente los resultados obtenidos en campo:

La necropsia es un estudio sistemático post mortem del cadáver del animal y en este caso de los ovinos en mención. Es importante también estudiar la historia clínica

en la cual se indagan y analizan las diferentes enfermedades fundamentadas, las posibles causas de la muerte y las posibles conexiones entre estos dos aspectos.

En este caso se realizaron varias necropsias en campo, una de ellas fue realizada en una oveja que había fallecido durante la noche; al realizar la respectiva anamnesis, se mencionan datos que, durante las últimas semanas y años, el rebaño presentaba una gran cantidad de pérdidas y que los manejos sanitarios realizados eran escasos o mínimos.

Al iniciar el respectivo proceso de estudio, se realizó en primer lugar una inspección del cadáver y mientras se revisan los registros se constató que era un ovino, hembra, de tres años y medio, pesaba aproximadamente 40 kg., la cual también presentaba rigor mortis, es decir rigidez cadavérica. Posterior fue necesario poner en una posición adecuada al cadáver de tal forma que permanezca en una correcta postura para iniciar con el procedimiento establecido. Se separa la piel de la musculatura para observar la coloración, consistencia de grasas, músculos y presencias de cuerpos extraños en el caso de hallarlos. De forma más interna se procede a abrir la cavidad abdominal para poder observar los diferentes órganos y sus diferentes cambios de ser el caso, como las coloraciones, formas, tamaños y consistencias.

En este caso el hígado se lo podía observar con una coloración oscura y con presencia de varias lesiones debido a una alta parasitosis, sobre todo de *Cysticercus tenuicollis*, los cuales afectaron de una manera grave a la salud del ovino. Este *Cysticercus tenuicollis* también se lo observa o se lo pudo encontrar en el peritoneo y en grandes cantidades, de varios tamaños, que van desde los 2 cm hasta los 10 cm. El siguiente paso fue analizar los pulmones en donde que precisamente se confirma su condición de deterioro encontrándose congestionados y la presencia de *Cysticercus tenuicollis* (vesículas) en los lóbulos. De la misma manera se procedió con la inspección del corazón en donde también se pudo identificar y constatar la presencia de *Cysticercus tenuicollis*, que al parecer fue el principal factor para que este animal haya fallecido y por ende produciendo una pérdida tanto productiva como económica para el productor.

Las razas de ovinos con más pre disposición para este tipo de parásito gastrointestinal son las razas Dorper, Katahdin, Corriedale y sobre todo Criollas o

mestizas, en donde que el *Cysticercus tenuicollis* produce más efectos o más síntomas a nivel corporal. En el caso de los mataderos en donde ingresan este tipo de razas de ovinos, el *Cysticercus tenuicollis* se encuentra con mayor frecuencia en las razas Corriedale, Dorper, Criollas o mestizas y con menor frecuencia en las razas Katahdin como se muestra en la Tabla 11.

Tabla 11. Ubicación y morfología del *Cysticercus tenuicollis* en ovinos

UBICACIÓN Y MORFOLOGÍA DEL <i>Cysticercus Tenuicollis</i>							
INSPECCIÓN POST MORTEM							
UBICACIÓN DE QUISTES DE C.T	HEMBRAS	MACHOS	RAZAS	ORGANOS AFECTADOS	N.- DE QUISTES	PROM. TAMAÑO	PESOS DEL QUISTE
EPIPLÓN	28	54	Dorper, Katahdin, Corriedale, Criollas	EPIPLÓN	191	3 cm - 12 cm	2 gr. - 10 gr.
HÍGADO	25	47	Dorper, Katahdin, Corriedale, Criollas	HÍGADO	92	3 cm - 6 cm	3 gr. - 8 gr.
PULMÓN	12	23	Dorper, Criollas	PULMÓN	47	2 cm - 4 cm	2 gr. - 8 gr.
CORAZÓN	1	x	Katahdin	CORAZÓN	1	2 cm	4 gr.
AP. REPRODUCTOR	2	x	Criollas	AP. REPRODUCTOR	5	4 cm - 6cm	3 gr. - 8 gr.

Tabla 12. Características físicas del *Cysticercus tenuicollis*

Peso vesícula	Peso sin líquido	Peso de la cabeza	Diámetro de vesícula	Diámetro de cabeza	ml de líquido vesicular
prom. 2 gr. - 16 gr	prom 1 gr. - 6 gr.	prom 10 mg. - 45 mg.	desde 2 cm hasta 12 cm	desde 2 mm hasta 5 mm	desde 2,5 ml hasta 9,6 ml



Figura 2. Quiste de C.t. cubierto por capa cerosa e irrigación sanguínea



Figura 3. Quiste de C.t. en el hígado

Continuando con la observación post mortem de los ovinos y sus órganos, se concluye que ésta es la única forma y la más efectiva para la detección del *Cysticercus tenuicollis*. Una vez realizada la descripción física del *Cysticercus tenuicollis* se procede a la toma de datos, como son los pesos con la membrana cerosa, sin la membrana, con líquido y sin líquido. También se realizó la toma de medidas antes de sacarlo de la membrana cerosa, después de sacarlo de la

membrana, con líquido y sin líquido del quiste; lo cual determina un estudio favorable para determinar el estudio de las características físicas y morfológicas de este tipo de parásito.

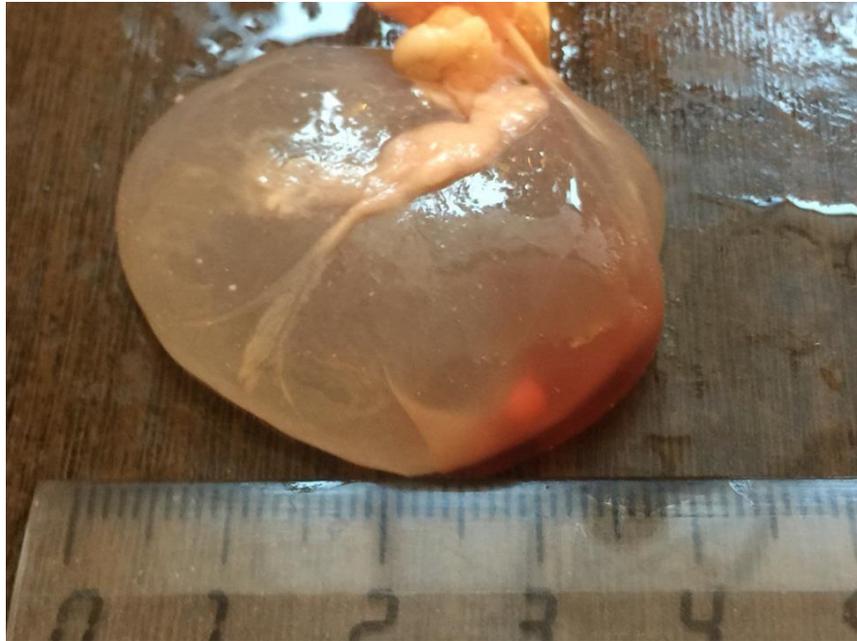


Figura 4. Vesícula de C.t. en ovino

De igual manera, para el proceso de toma de datos y estudio del *Cysticercus tenuicollis*, se procedió a la utilización tanto de las instalaciones y los laboratorios de parasitología de la Universidad Técnica de Cotopaxi, ubicados en el Centro de Estudios, Investigación y Producción sector Salache.

Este tipo de procedimiento para la revisión del escólex (parásito) en el microscopio, se lo realiza con la toma de muestras, recolección y preparación adecuada de los quistes en dos etapas:

La primera etapa se lo realizó el día lunes 28 de septiembre del 2020, utilizando el siguiente protocolo de pasos a seguir:

- Selección de diez muestras al azar.
- Toma de pesos y mediciones de los quistes, con líquido y sin líquido.
- Separación de la cabeza o escólex del cuerpo.
- Medición y toma de pesos del escólex o cabeza.

- Se coloca el escólex en el porta objetos y se lo cubre con otro porta objetos para que este quede presionado.
- Se observa en el microscopio.

Tabla 13. Muestras para revisión microscópica 28/09/2020

Lunes 28 de Septiembre 2020			
Muestra	Peso de la vesícula	Diámetro total vesícula	Diámetro cabeza
CT. 01	10,2 gr	53 mm	4 mm
CT. 02	1,3 gr	33 mm	2 mm
CT. 03	1,2 gr	26 mm	2 mm
CT. 04	0,8 gr	39 mm	2 mm
CT. 05	9,3 gr	51 mm	3 mm
CT. 06	6,8 gr	27 mm	3 mm
CT. 07	3,4 gr	14 mm	3 mm
CT. 08	3,7 gr	11 mm	2 mm
CT. 09	2,3 gr	18 mm	2 mm
CT. 10	8,6 gr	46 mm	4 mm

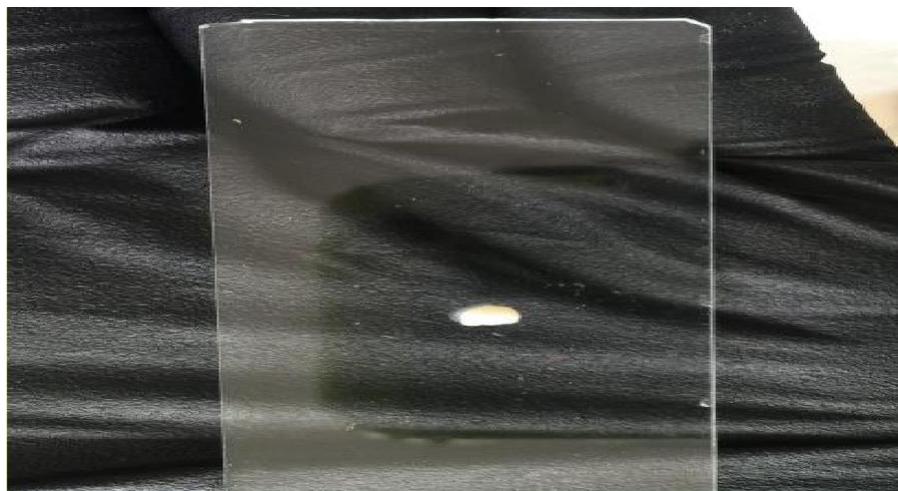


Figura 5. Escólex o cabeza del C.t.

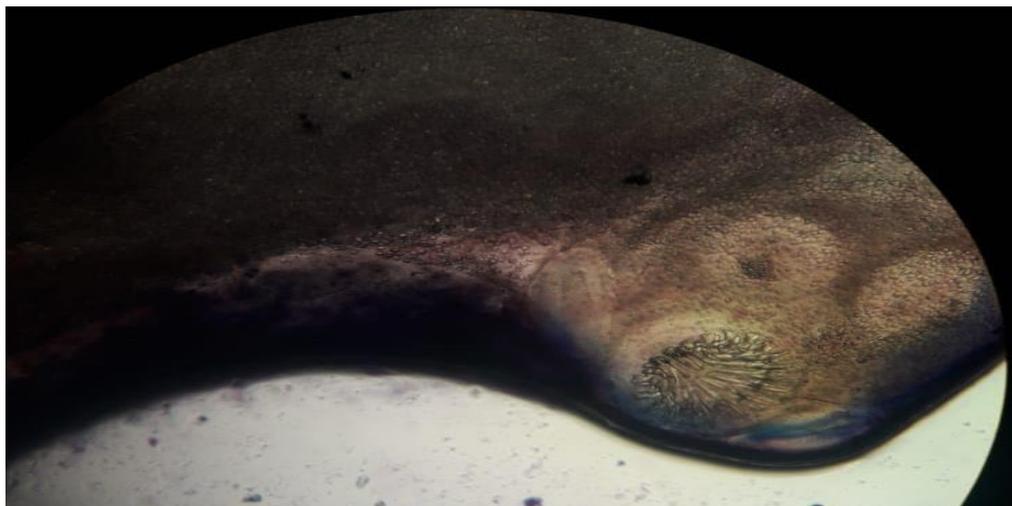


Figura 6. Escólex visto en el microscopio

La segunda etapa se lo realizó el día miércoles 30 de septiembre del 2020, tomando diez muestras de quistes, (los cuales dos días antes se procedió a la toma de pesos y mediciones). Una vez hecho la toma de datos se procede a poner uno a uno en un frasco para muestras con 1 ml de ácido acético, más 9 ml de alcohol al 70%.

El día miércoles 30 de septiembre se procede al estudio del *Cysticercus tenuicollis* en el laboratorio de la Universidad Técnica de Cotopaxi de acuerdo al protocolo establecido para el desarrollo y seguimiento adecuado de las muestras ya preparadas y en estado óptimo para la revisión microscópica:

- Selección de diez muestras al azar.
- Toma de pesos y mediciones de los quistes, con líquido y sin líquido.
- Separación de la cabeza o escólex del cuerpo.
- Medición y toma de pesos del escólex o cabeza.
- Se coloca el escólex en el porta objetos y se lo cubre con otro porta objetos para que este quede presionado.
- Observamos en el microscopio.

Tabla 14. Muestras para revisión microscópica 30/09/2020

Miércoles 30 de Septiembre 2020				
<i>Cysticercus tenuicollis</i> + 1ml de ácido acético + 9ml de alcohol al 70%				
Muestra	Peso de la vesícula	Diámetro total vesícula	Peso de la vesícula sin líquido	Diámetro cabeza
CT. 01	7,2 gr	54 mm	0,7 gr	4 mm
CT. 02	1,3 gr	33 mm	0,3 gr	2 mm
CT. 03	1,3 gr	26 mm	0,3 gr	2 mm
CT. 04	1,2 gr	39 mm	0,1 gr	2 mm
CT. 05	8,2 gr	50 mm	0,5 gr	3 mm
CT. 06	6,5 gr	28 mm	0,4 gr	4 mm
CT. 07	3,1 gr	14 mm	0,2 gr	3 mm
CT. 08	3,3 gr	12 mm	0,2 gr	3 mm
CT. 09	1,4 gr	17 mm	0,3 gr	2 mm
CT. 10	7,8 gr	48 mm	0,4 gr	4 mm



Figura 7. Escólex o cabeza del C.t



Figura 8. Escólex visto en el microscopio

Se realiza las diferentes descripciones para el análisis de las características más representativas de este tipo de parásito que afecta tanto en la productividad como en lo económico, dichos datos se mencionan en la Tabla 9.

Tabla 15. Características observadas del *Cysticercus tenuicollis*

CARACTERÍSTICAS OBSERVADAS

- * Membrana cerosa
 - * Transparente
 - * Presencia de irrigación sanguínea
 - * Líquido transparente
 - * Contenido proteínico y agua
 - * Presencia de un solo escólex
 - * Escólex con cuatro ventosas
 - * Ventosas con doble corona de ganchos
 - * En órganos como el hígado y los pulmones forman trayectos de migración hemorrágica
-

En los resultados obtenidos, conforme el estudio realizado sobre la parte genética o molecular del *Cysticercus tenuicollis* se obtuvo que el nombre de la empresa que es Applied Biosystems, el cual fue el encargado del estudio vía informática de la interpretación y el estudio de este tipo de muestras, dado que las reacciones de las cadenas de DNA y sus respectivas reacciones se van amplificando, las cuales deben

ser expuestas a un estudio informático que nos permita la valoración exacta de este tipo de estructuras, tanto en los picos lineales como en las barras.

4.1 Variabilidad genética

Un total de 2 sitios polimórficos fueron detectados en el Gen Nad1 del ADN Mitocondrial, todos de tipo parsimonia informativa.

Tres diferentes haplotipos (h) fueron observados, predominando el haplotipo 1 representado por el 85% de las secuencias.

Hap_1: 17 secuencias [Nad-Cox1-Fw-CT001 Nad-Cox1-Fw-CT002 Nad-Cox1-Fw-CT003 Nad-Cox1-Fw-CT004 Nad-Cox1-Fw-CT005 Nad-Cox1-Fw-CT007 Nad-Cox1-Fw-CT008 Nad-Cox1-Fw-CT009 Nad-Cox1-Fw-CT011 Nad-Cox1-Fw-CT012 Nad-Cox1-Fw-CT013 Nad-Cox1-Fw-CT014 Nad-Cox1-Fw-CT015 Nad-Cox1-Fw-CT016 Nad-Cox1-Fw-CT017 Nad-Cox1-Fw-CT018 Nad-Cox1-Fw-CT019]

Hap_2: 2 secuencias [Nad-Cox1-Fw-CT006 Nad-Cox1-Fw-CT020]

Hap_3: 1 secuencia [Nad-Cox1-Fw-CT010]

La Tabla 16 muestra valores de (0,279) en referencia a la diversidad haplotípica y de (0,00101) para diversidad nucleotídica, cuando se evalúa el fragmento de 454 pb del Gen Nad1 del ADN Mitocondrial de *Cysticercus tenuicollis*.

Estos resultados coinciden con los reportados para *Taenia hydatigena* por (Ohiolei et al., 2019), al realizar la descripción molecular, filogenia y variación genética de *Taenia hydatigena* de ovejas y cabras de Nigeria, basado en el gen mitocondrial Nad1.

Tabla 16. Parámetros de la variabilidad en 641 pb del gen *Nad1-Cox1*, de secuencias de *Cysticercus tenuicollis*.

Característica / Índice	N	No. M.	h	Hd	SD	π	SD
Total	20	2	3	0,279	0,123	0,00101	0,00046

N=número secuencias (muestras), No. M=No. de Mutaciones, h= No. Haplotipos, Hd= Diversidad de Haplotipos, SD= Desviación estándar, π = Diversidad Nucleotídica

4.2 Identificación molecular

Los 20 aislados de ovejas se identificaron como *Taenia hydatigena*. El resultado del BLAST mostró mayor similitud con *Taenia hydatigena* (100% de identidad con el haplotipo 3 y de un 99,78% para los hapotipos 1 y 2).

4.3 Análisis Filogenético

El árbol filogenético (Figura 9), muestra como las secuencias de *Cysticercus tenuicollis* (objeto de estudio) se agrupan con la secuencia de *Taenia hydatigena* de Nigeria y muy distante de la *Taenia regis*, confirmando la identidad de los aislados estudiados.

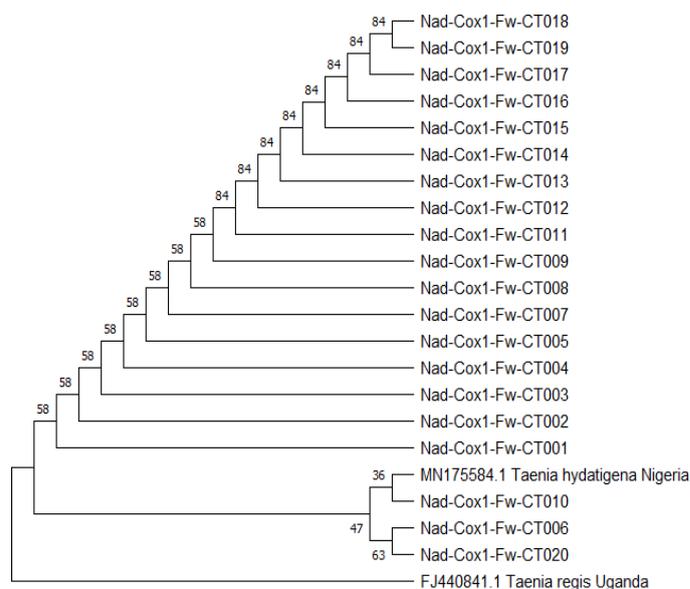


Figura 9. Relaciones filogenéticas de los aislados *Cysticercus tenuicollis* basados en las secuencias del gen *Nad1* (454 pb). Los números sobre las ramas indican los valores de Bootstrapping en % para cada agrupamiento. Los haplotipos obtenidos del GenBank: MN175

4.4 Verificación de la amplificación

Verificar la amplificación mediante una electroforesis en gel de agarosa al 2%, teñido con SYBR Safe:

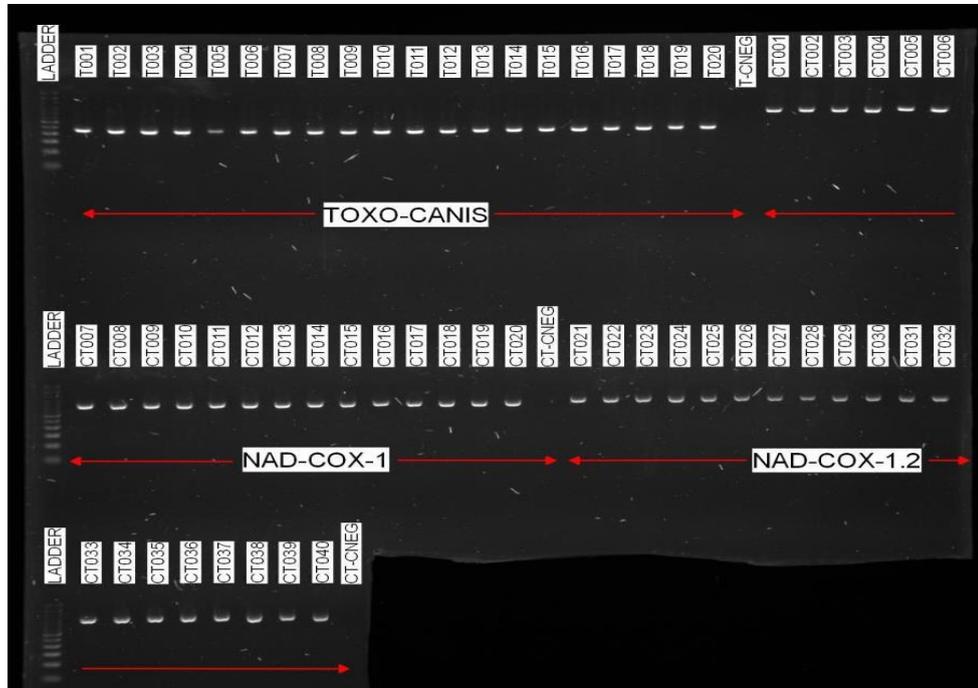


Figura 10. Resultados de amplificación de muestras: CT001 - CT020 con el par de primers NAD- COX1 Fw/Rv, CT021 - CT040 con el par de primers NAD-COX1.2 Fw/Rv.

Laboratorios de Investigación UDLA

Al revisar los resultados obtenidos tenemos como resultado los picos y barras que permiten identificar la calidad de las muestras y las conjeturas que tuvo el primers; es decir, la especificidad del primers. Si no se tiene una buena calidad de las muestras, las líneas y las barras van a ser degradadas como tal y no hay especificidad al momento de valorar y estudiar las barras.

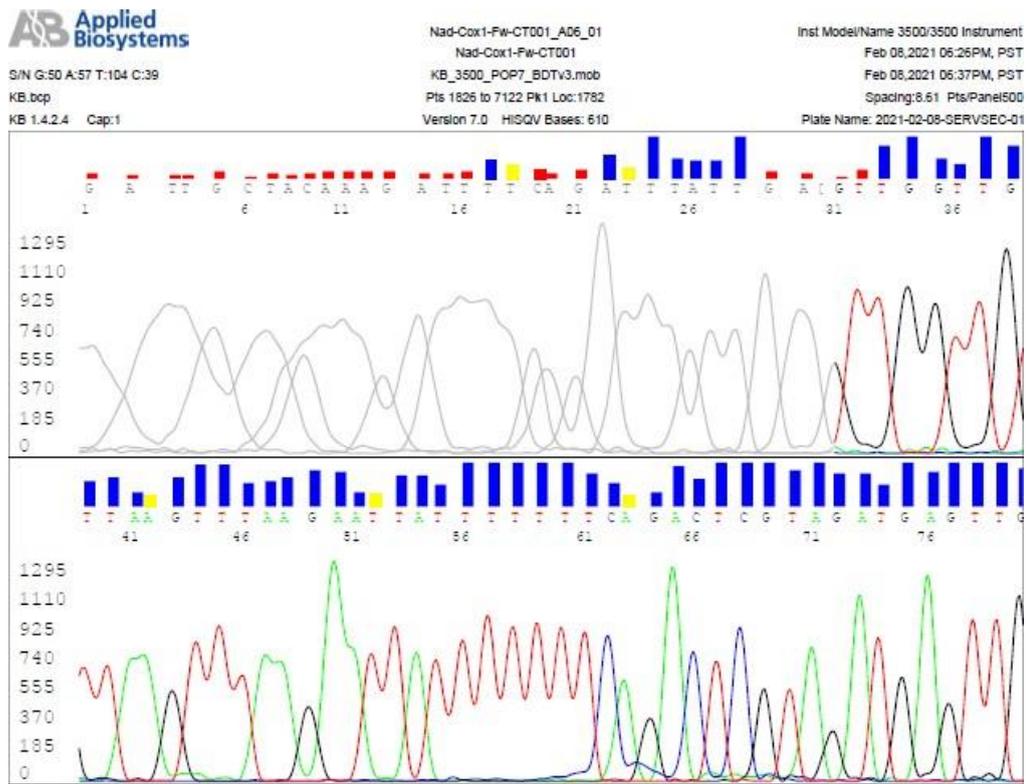


Figura 11. Resultados Nad-Cox1-Fw y Rw -CT001_A06_01 Primers no amplificado

En este caso se puede decir que estas barras iniciales no tienen especificidad; es decir que no se amplificó el primers específico de identificación debido a que se revisa un inicio de la cadena de DNA y por ende de la secuencia de la cual se envió a identificar el primers que se buscó para la especificidad, lo que se relaciona a los pares de las bases de los nucleótidos (Adenina, Guanina, Citosina y Timina), alrededor de 120 a 150 pares de bases. En este resultado se debe obtener más de 150 pares de bases y una vez analizado se tiene 700 pares de base. Es por eso que en el inicio de estas secuencias de pares de bases no se tiene especificidad, ni tampoco calidad de la muestra porque no son los primers específicos para esta región.

Aquí estamos hablando de dos situaciones muy importantes, la primera es sobre la primera línea que es la región del primers que amplifiqué y especifiqué. En el caso del primers corresponde al gen donde se ubica; el gen se llama NAD COX 1 y corresponde al primers Forward (FW), el cual indica el primers Forward, es decir el primers de ida.

En el caso de la muestra CT 001 nos da la misma información que es el gen NAD COX y es donde se está amplificando la región del primers (Primer Forward); y, en otro archivo se encuentra la misma información NAD COX 1 pero es el primers Reverse (Rw) que es el correspondiente a primers Reverse el que está de vuelta.

Los demás resultados de esta cadena de amplificación que fue alrededor de 1831 puntos a 7122 puntos en una localización del genoma que tiene similar región y fue valorada en la región 7.0, esto es del equipo del sistema de interpretación que se utilizó, en este caso la Applied Biosystems y lo demás es información de la hora, el tiempo en el que fue tomada la muestra, entre otros protocolos.

Por lo tanto, vamos a valorar en la primera secuencia del gen y lo que encontramos son imágenes que no nos van a demostrar especificidad, por lo que no hay que asustarse. Por lo tanto, este tipo no va a demostrar especificidad y en las barras de igual forma no son totalmente específicas; es decir, que el gen no amplificó y que la calidad de la muestra vemos esas montañas gordas como tal y los picos muy elevados unos tras otros que se solapan y se intercambian entre ellos y que definitivamente no existe especificidad de la muestra, debido a que estamos en el inicio del primers, lo que quiere decir que, en la región inicial no hay especificidad pero se va a amplificar también los extremos; en tal sentido, lo que está en el inicio son los extremos amplificados, por lo tanto empiezo a valorar el resto de la secuencia.

Prácticamente desde la página consiguiente, empieza a tener especificidad debido a que va a marcar el número de barras, y se observa que todas las barras son prácticamente alineadas bajo la misma dimensión y bajo el mismo tamaño. Más adelante observamos que las barras son prácticamente iguales, lo cual demuestra haber sido un corte perfecto como tal.

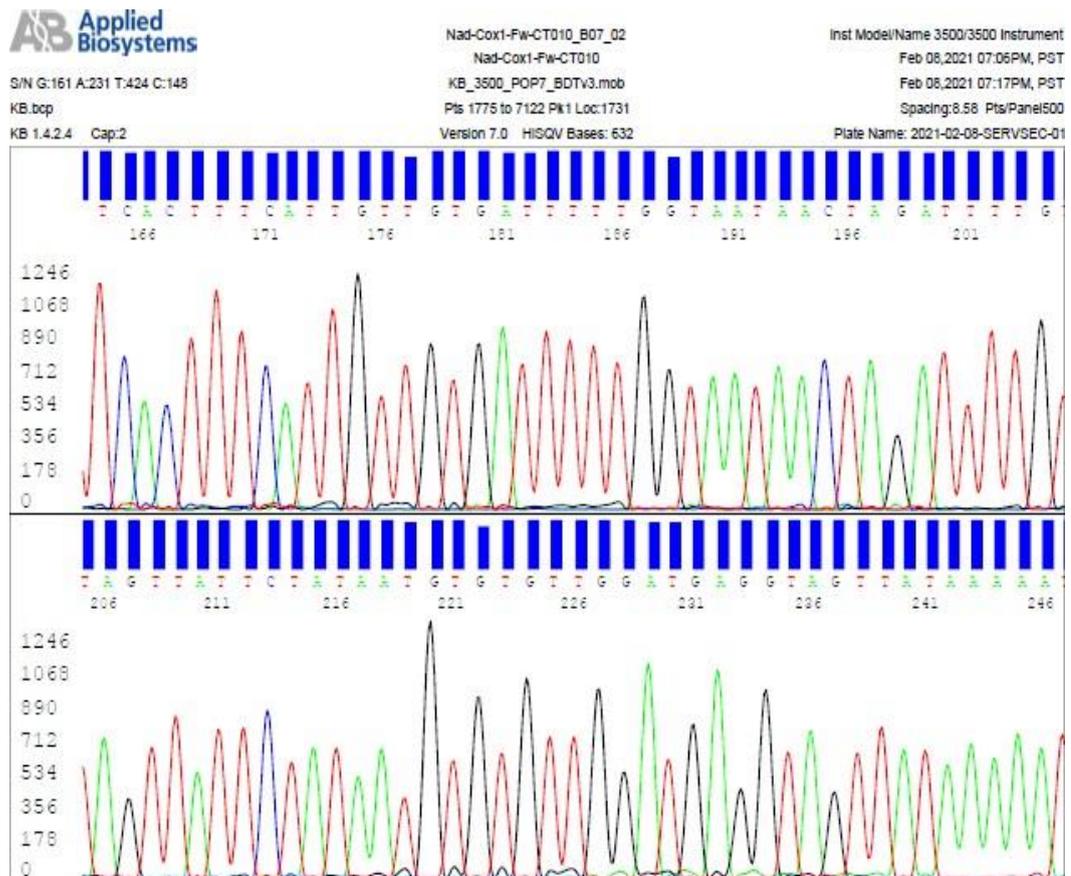


Figura 12. Resultados Nad-Cox1-Fw y Rw -CT001_A06_01 Primers amplificado

Las líneas de valoración como la Timina, Guanina, Adenina y Citosina quiere decir que la conexión que hubo entre el primers y al momento que se abrió la cadena y quedó la una hebra sola y la otra hebra de igual forma sola y el momento en el que empieza a funcionar el primers fue la especificidad. Es por eso que cada una de las bases nitrogenadas como la Adenina, Citosina, Timina y Guanina son específicas.

Por ejemplo, para la Timina tenemos la Adenina como fusión y por eso demuestra unos picos perfectos de coloración adecuada y propias de cada una de las bases nitrogenadas; es por eso que se encuentran de diferentes colores porque es como se van fusionando cada una de las diferentes cadenas y la especificidad del primers me dicta las barras que tenemos y que fueron perfectas. En tal sentido, cada barra fue secuencial y prácticamente rectas; además, indican la especificidad de la muestra.

El comportamiento se sigue manteniendo porque seguimos valorando todo el primers que buscamos; sin embargo, al final observamos que tenemos un

comportamiento muy similar al que vimos al inicio. (Este resumen es de una muestra y es una secuencia del primers).

Al final del primers y a partir de aquí inicia la fusión del primers con la hibridación de la cadena; por lo tanto, observamos con una muy buena conexión entre la hibridación y el primers como tal. Vemos que se mantienen pero cada vez más bajo y así seguirá disminuyendo, lo que demuestra que de este sector para abajo estamos en la fase terminal del primers; es decir, el primers amplificó.

Además, como vemos en esta región hay buena lectura de barras y de línea, que a partir de ellas empiezan a bajar y ver una degradación de la muestra. Se observan barras muy pequeñas y se identifican tan solo 136 nucleótidos que fueron adherentes a esta región con poca especificidad y un comportamiento de las barras que van desde unas más altas a otras más pequeñas, esto ocurre dado que estamos perdiendo especificidad y nos encontramos al final del primers.

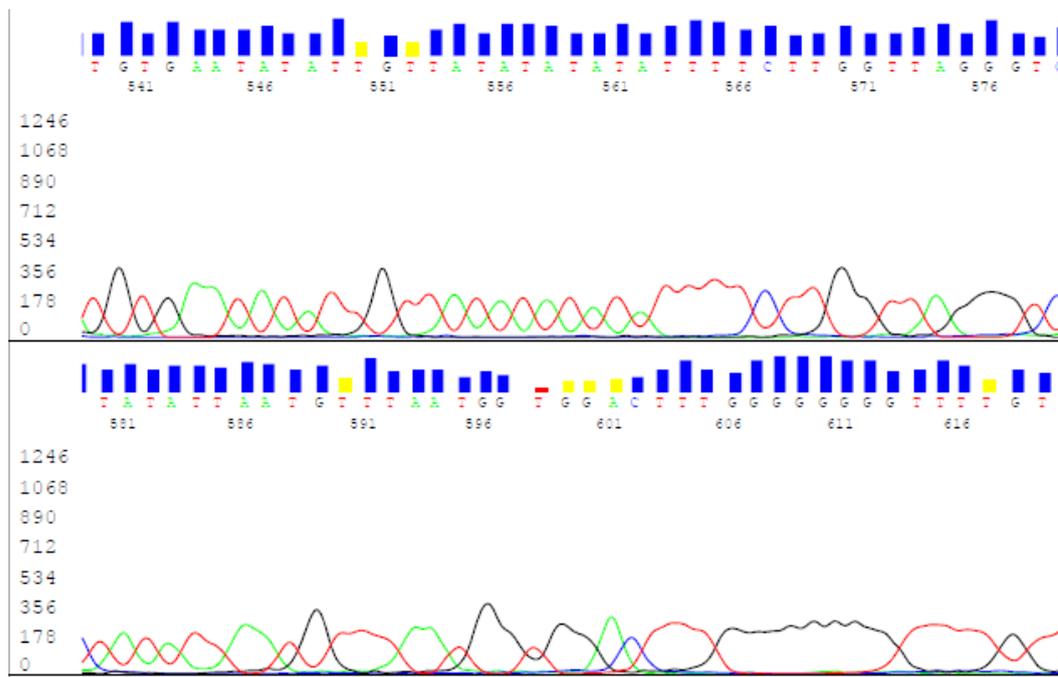


Figura 13. Resultados Nad-Cox1-Fw y Rw -CT001_A06_01 Final del Primers

Describiendo las curvas de calibrado obtenidas, éstas especifican que se mantiene una eficiencia mayor al 90 % a *Cysticercus tenuicollis* demostrando que el nivel de la técnica es alto y sobre todo de confiabilidad.

En estas muestras el primers corrió, es decir que es el específico y por eso a partir de la página 2 a la 4 se verifica que existe el mismo comportamiento que indica la especificidad del primers para la tipificación del *Cysticercus tenuicollis*. Lo que nos da una referencia de que el estudio se lo realizó de la mejor manera, teniendo como un buen resultado a los primers que fueron los específicos para el estudio molecular.

Además, realizando una comparación entre el NAD - COX 1 tanto el Forward como el Reverse mantienen el mismo comportamiento, ya sea similar o iguales porque estamos abriendo la cadena de manera separada y da como resultado estar sacando copias iguales; por lo tanto, debe ser el mismo comportamiento.

También, existen pequeñas variaciones las cuales pueden representar a errores informáticos, pero en su estudio siguen siendo muy similares y al momento de leer e interpretar las barras y las líneas de expresión éstas van a ser iguales porque estamos abriendo la cadena o realizando una hibridación de la cadena.

Mediante este método de PCR realizado en una muestra específica de una especie específica, permitió determinar la identidad de la especie del parásito detectado como *Cysticecus tenuicollis*. La PCR género específica desarrollada, confirmó las 20 muestras positivas dando un 100% a C.t. Este método de análisis que se realizó en muestras al azar en donde las 20 muestras fueron positivas a *Cysticercus tenuicollis* tanto para NAD 1 como para COX 1.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- El presente estudio describe la prevalencia del *Cysticercus tenuicollis* en ovinos que han sido faenados en mataderos o centros de faenamiento provenientes de diferentes ciudades y regiones del país. El *Cysticercus tenuicollis* afecta al 80% de los ovinos que representa un número significativo a nivel nacional y mundial; sin embargo, no muestra diferencias relativas entre razas, sexos, condiciones corporales y edades. Por lo tanto, este estudio evidencia la importancia de la inspección post mortem de animales faenados tanto en mataderos legales como en mataderos clandestinos o artesanales.
- La presencia de un gran número de quistes causan problemas asociados a los casos de hepatitis por traumas, anemias, pérdidas de peso, pérdidas de apetito, fiebre e incluso la muerte del animal. En este sentido, este parásito afecta a órganos específicos como el epiplón, hígado, pulmones, corazón y aparato reproductor femenino; además, repercute en el factor económico debido a que los órganos en los que se presentan los quistes son decomisados en los centros de faenamiento.
- Con la caracterización morfológica del *Cysticercus tenuicollis*, se comprobó que los cisticercos maduros o quistes pueden llegar a medir en un rango máximo de 12 cm en el mesenterio abdominal y un diámetro máximo de 4 a 5 cm en órganos específicos como el hígado, pulmones y riñones. Este cisticercos está rodeado de una fina pared blanquecina o cristalina, contiene un único escólex invaginado a nivel de un polo, posee un cuello largo y

delgado; en su interior posee un contenido líquido transparente a base de proteínas y agua. También, el escólex al estudiarlo en el microscopio se observó que contiene cuatro ventosas redondeadas, con un rostelo caracterizado por poseer una doble corona de ganchos.

- La identificación morfológica corrobora con la información molecular; es decir, que la identificación morfológica estuvo realizada en forma adecuada dado que se demuestra con la identificación molecular que es la específica. Además, se determina que los primers utilizados para el estudio fueron los específicos, logrando así un éxito con las muestras.

5.2 Recomendaciones

Mediante los resultados del estudio reportado y las conclusiones establecidas anteriormente sobre la presente investigación, se pone a consideración las siguientes recomendaciones:

- Mantener un programa adecuado de desparasitación tanto en ovinos como en caninos, con la finalidad de interrumpir el ciclo biológico del *Cysticercus tenuicollis* en sus diferentes etapas, para evitar la diseminación del parásito en los pastos destinados para la alimentación de los ovinos.
- Concientizar a la población mediante charlas, sobre los diferentes tipos de parásitos que existe en el ganado ovino y sobre todo las malas prácticas de manejo y faenamientos clandestinos, que sin ningún control técnico y de riesgo sirven para alimentar a las mascotas o perros callejeros con restos de vísceras infestadas.
- Realizar proyectos y programas entre entidades públicas y privadas que estén relacionadas con la producción de ovinos, para que sean los pioneros de la seguridad alimentaria, mediante la diversificación y alternativas alimenticias, que sean seguros, de calidad e inocuos para la venta y el consumo humano.

- El estudio morfológico al igual que el estudio molecular del *Cysticercus tenuicollis* es el adecuado, debido a que todas las muestras corrieron, ejecutándose de la mejor manera, correlacionando la amplificación de los primers NAD – COX 1 Forward y Reverse, los cuales fueron los específicos y la identificación fue la adecuada. Entonces, cualquiera de los dos primers son específicos para cisticercos, en este caso 5´CARTTTCGTAAGGGBCCWAAWAAGGT directo y 5´-CCAATTCYTGAAGTTAACAGCATCA inverso, porque los cuatro primers mantienen el mismo comportamiento para parásitos cestodos.

CAPÍTULO VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6.1 Referencias Bibliográficas

1. Coop RL, Angus KW. How helminths affect sheep; 1981.
2. Andrade GM. Controladoria em agronegocios: un estudo sobre a caprinocultura de leite nas microrregioes dos Cariris do Estado da Paraiba. (Dissertacao) Brasilia; 2007.
3. Salazar Acuña EG. Efecto del Fotoperiodo sobre la Producción y Reproducción de Ovinos en la Provincia de Cotopaxi. Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi; 2018.
4. Oryab A, Goorgipour S, Moazeni M, Shirian S. Prevalencia del matadero, distribución de órganos, salud pública e importancia económica de los principales metacestodos en ovejas, cabras y ganado en Fars, sur de Irán: Trop Biomed; 2012.
5. Fisser A. Cisticercosis. Salud Uninorte. 1986; 3(1).
6. Zhang Y, Zhao W, Yang Di T, Zhang W, Liu A. Genetic characterization of three mitochondrial gene sequences of goat/sheep-derived *Coenurus cerebralis* and *Cysticercus tenuicollis* isolates in Inner Mongolia. Parasite. 2018;(25).
7. Venanzi E, López Vélez R. Resistencia a los antimaláricos. Parasitología. 2016; 1(29): p. 72-75.

8. Luzón Peña M. Repercusiones económicas de la cisticercosis hepática ovina. XII Jornadas sobre Producción Animal. Zaragoza. ITEA. 2007; 28(2): p. 552-554.
9. González Guanchún ME. Determinación de índices de Giardia canis en clínicas veterinarias de la ciudad de Cuenca. Cuenca: Universidad Politécnica Salesiana, PARASITOLOGÍA VETERINARIA; 2016.
- 10 Arece J. Parasite epizootiology in the parasite control in sheep. Pastos y Forrajes. 2017; 30.
- 11 González H. Pérdidas económicas producidas por las parasitosis de los rumiantes Valdivia; 1982.
- 12 Atto J. Importancia de los ovinos tropicales introducidos al país: características productivas y reproductivas. [Online].; 2020 [cited 2020 06 03. Available from: <http://www.bioline.org.br/request?la07068>.
- 13 Battaglia RA, Mayrose VB. Manual de ganado y aves de corral. West Lafayette. 2015; 2: p. 383.
- 14 Álvarez Días C. Fisiología digestiva comparada de los animales domésticos en el Instituto Ecuatoriano de la Propiedad Intelectual - I.E.P.I. N. 027057 Machala: Imprenta Machala; 2007.
- 15 Haro R. Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador. [Online].; 2020 [cited 2020 05 27. Available from: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1250e/annexes/countryreports/ecuador.pdf>.
- 16 Vega C, García D. Guía práctica para pequeños productores ovinos. [Online].; 2020 [cited 2020 06 03. Available from: http://www.fundacionsocialholcimcolombia.org/OVINOS_Guia-Practica.pdf.

- 17 EMRAQ--EP. Faenamiento Ovinos. [Online].; 2020 [cited 2020 06 27. Available from: <http://www.epmrq.gob.ec/index.php/servicios/faenamiento-ovinos>.
- 18 EMRAQ-EP. Control Veterinario. [Online].; 2020 [cited 2020 06 27. Available from: <http://www.epmrq.gob.ec/index.php/servicios/control-veterinario>.
- 19 EMRAQ-EP. Inspección Carnes. [Online].; 2020 [cited 2020 06 27. Available from: <http://www.epmrq.gob.ec/index.php/servicios/inspección-carnes>.
- 20 Speroni NÁ. Análisis de la mortalidad en la etapa de preceba de porcinos. Veterinaria Argentina. 2018; 35(357): p. 1-7.
- 21 Santana J, Martínez A, Soulés A, Milicevic F, Romanela M, Larroza M, et al. Cisticercosis visceral por *Cysticercus tenuicollis* en ovinos de faena en la Provincia de Santa Cruz, Argentina. Revista Veterinaria Argentina. 2018; 35(357): p. 1-7.
- 22 Matarollo F. Contribución al estudio del *Cysticercus tenuicollis*. Revista de la Facultad de Agonomía. 2017; 5(2): p. 38-40.
- 23 Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Manual de las pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres. 2013; 2(1): p. 8-9.
- 24 Traviezo LE, Lozada M, García G, Jaimes C, Curo A. Enteroparasitosis en pacientes de la comunidad educativa Escuela “Veragacha”. Médico Científica Luz y Vida. 2012 enero; 3(3).
- 25 Hechavarria S. Parasitología Médica. Ciencias Médicas e Investigación Habana. 2013.
- 26 Pérez Rodríguez EG. Parasitología Médica. Primera edición ed. LTU G, editor. México; 2013.

- 27 Moreno G. Higiene e inspección de carnes. Bases científicas y legales de los dictámenes de matadero Madrid: Díaz Santos; 2003.
- 28 Pérez Aguilar MC, Goncalves L, Mogollón N, Bonfante Cabarcas R. O-glicosilación incompleta en células cancerígenas y parásitos: Importancia biomédica. *Salud*. 2013; 17(22): p. 42-48.
- 29 Oyazún Ruíz P, Muñoz P, Valenzuela G. Southern pudu (*Pudu puda*) (*Artiodactyla: Cervidae*) como hospedante adicional de *Dictyocaulus eckerti* (*Strongylida: Dictyocaulidae*). *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 2018; 89(1): p. 301-305.
- 30 Cayo Rojas F, Mamani Linares W, Gallo C, Valenzuela G. Revisión de Cisticercosis Bovina (*Cysticercus bovis*) en ganado faenado: Prevalencia, Distribución y viabilidad del cisticerco. *Revista de la Sociedad de Investigaciones Selva Andina*. 2011; 2(1): p. 53-70.
- 31 Caicedo Martínez JA, Ávila Rubiano MA, Hernández Ortiz BA, Martelo Torres A. Reporte de cisticercosis en ovinos faenados en el corregimiento de Ballesta, Bolívar, Colombia. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 2016; 11(3): p. 35-47.
- 32 Relva MA, Sanguinetti J. Ecología, impacto y manejo del ciervo colorado (*cervus elaphus*) en el Noroeste de la Patagonia, Argentina. *Mastozoología Neotropical*. 2016; 23(2): p. 221-238.
- 33 Yukari Togoro S, De Souza EM, Satomi SN. Diagnóstico laboratorial da neurocisticercose: revisão e perspectivas. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2012; 48(5): p. 345-355.
- 34 Caicedo Martínez JA, Ávila Rubiano MA, Hernández Ortiz BA, Martelo Torres A. Reporte de cisticercosis en ovinos faenados en el corregimiento de

- Ballesta, Bolívar, Colombia. CES Medicina Veterinaria y Zootecnia. 2016; 11(3): p. 35-47.
- 35 Rodríguez Hidalgo R, Benítez Ortiz W, Brandt Jef G, Stanny Dorny P. Observaciones sobre la cisticercosis bovina en el Ecuador, su importancia zoonosica en la salud pública humana. REDVET Revista Electrónica de Veterinaria. 2010; 11(1).
- 36 ISO 690. La equinocosis Quística EQ. La hidatidosis como problema de salud. 2009;(10).
- 37 Torres Andrade FA. Identificación de la presencia de Hidatidosis en el Camal Municipal de la Ciudad del Puyo. Puyo.; 2012.
- 38 Universidad Nacional Autónoma de México IBUNAM. Instituto de Biología: *Cysticercus tenuicollis* – IBUNAM: CNHE: HE474. [Online].; 2020 [cited 2020 06 04. Available from: <http://unibio.unam.mx/collections/specimens/urn/URN:catalog:IBUNAM:CNHE:HE474>.
- 39 Vasco C. Parasitología y Enfermedades Parasitarias. UCE, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- 40 Quiroz H, Figueroa J, Ibarra F, López M. Epidemiología de Enfermedades Parasitarias en Animales Domésticos. Primera edición ed. México DF; 2011.
- 41 Cordero M, Rojo F. Parasitología Veterinaria Madrid: Mc Graw Hill.
- 42 Fernández C. Enfermedades infecciosas; Hidatidosis; Diagnóstico de Hidatosis; Guía para el Equipo de Salud. [Online].; 2020 [cited 2020 02 28. Available from: <http://www.msal.gov.ar/images/stories/epidemiologia/pdf/guia-medica-hidatidosis.pdf>.

- 43 Ohiolei J, Luka J, Zhu G, Yan H, Li L, Magaji A, et al. First molecular description, phylogeny and genetic variation of *Taenia hydatigena* from Nigerian sheep and goats based on three mitochondrial genes. *Parasite & vectors*. 2019; 12(1): p. 1-11.
- 44 Belinchón Lorenzo S. Desarrollo de nuevos métodos no invasivos aplicados al diagnóstico mediante PCR a tiempo real de la leishmaniosis. Extramadura: Universidad de Extremadura; 2017.
- 45 Pérez Antón E. Investigación de las bases inmunológicas implicadas en la enfermedad de chagas provocadas por el protozoo parásito *trypanosoma cruzi*. Granada: Universidad de Granada; 2019.
- 46 Peñaherrera Ordóñez MV. Tipificación Genética de *Toxocara Canis* en a Zona Urbana de Latacunga. Latacunga:, Veterinaria y Zootecnica; 2019.
- 47 Paulos S, Mateo M, De Lucio A, Hernández de Mingo M, Bailo B, Saugar J, et al. Evaluation of five commercial methods for the extraction and purification of DNA from human faecal samples for downstream molecular detection of the enteric protozoan parasites *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, and *Entamoeba* spp. *Journal of Microbiological Methods*. 2016; 127: p. 68-73.
- 48 Dacal E, Koster P, Carmena D. Diagnóstico molecular de parasitosis intestinales. Laboratorio de Referencia e Investigación en Parasitología. 2020.
- 49 Nei M, Kumar S. *Molecular Evolution and Phylogenetics* New York: Oxford University press, Inc.; 2000.
- 50 Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 2018; 35: p. 1547-1549.

- 51 Sneath P, Sokal R. Numerical Taxonomy. Systematic Biology. 1995 septiembre; 44(3): p. 281–298.
- 52 Huttner M, Siefert L, Mackenstedt U, Roming T. A survey of Echinococcus species in wild carnivores and livestock in East Africa. International Journal for Parasitology. 2009; 39(11): p. 1269-1276.
- 53 Maku R, Yan H, Ohiolei J, Saaid A, Ahmed S, Jia W, et al. Molecular identification of Taenia hydatigena from sheep in Khartoum, Sudan. The Korean journal of parasitology. 2020; 58(1): p. 93.
- 54 Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Journal of crustacean biology. 2000; 20(3): p. 530–540.
- 55 Proaño Montenegro MB. Desarrollo, estandarización y aplicación de la técnica molecular PCR en tiempo real para la detección y cuantificación de ADN del trematodo Amphimerus spp en metacercarias obtenidas de peces. Quito: Universidad d las Américas; 2019.
- 56 Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública INSPI. Procedimiento para la elaboración de una PCR. Poster Multiplex. 2017 julio; 14.
- 57 Universidad de las Américas. Informe de resultados PCR. Quito: Universidad de las Américas, Dirección General de Posgrado; 2021.
- 58 Hernández Sampieri R. Metodología de la investigación México DF: Mc Graw Hill; 2014.

CAPÍTULO VII. ANEXOS

Anexo 1. Faenamientos clandestinos



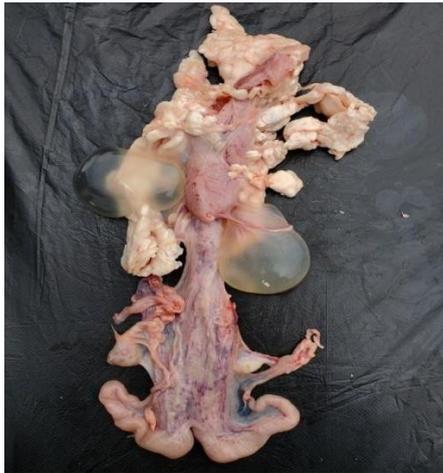
Anexo 2. Tomas de muestras de quistes *Cysticercus tenuicollis*



Anexo 3. Quistes de *Cysticercus tenuicollis* en varios órganos



Epiplón



Aparato reproductivo femenino



Hígado



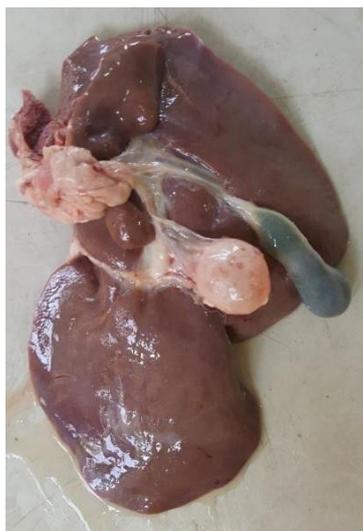
Hígado



Hígado



Hígado



Hígado

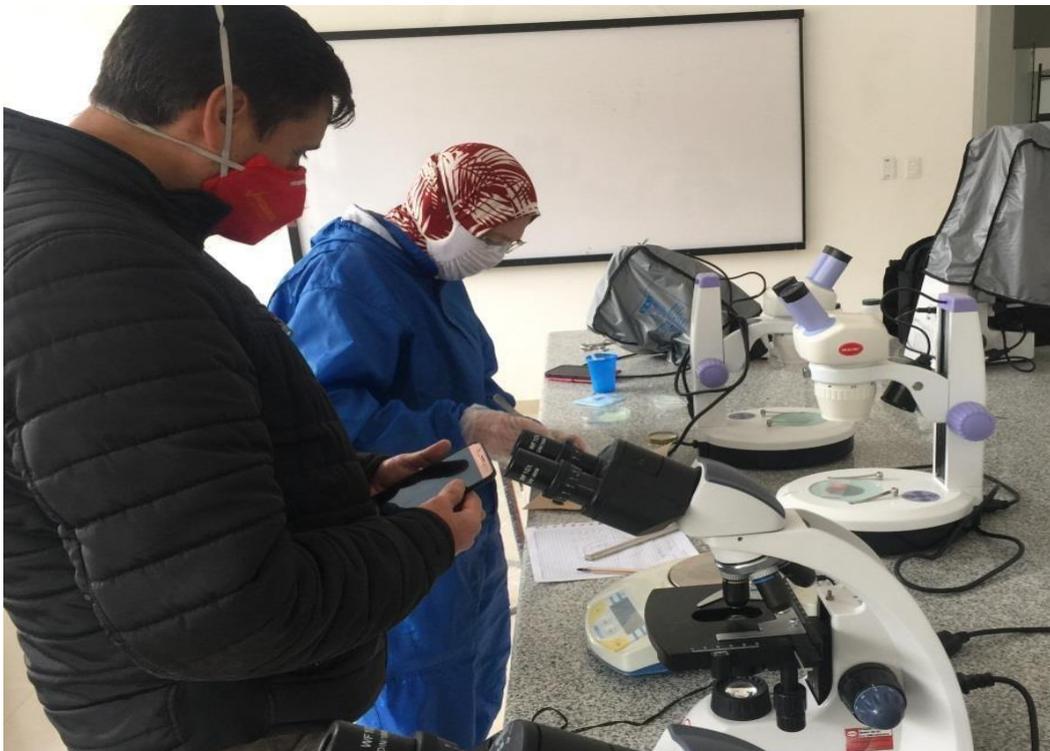
Anexo 4. Medición de Quistes de *Cysticercus tenuicollis*

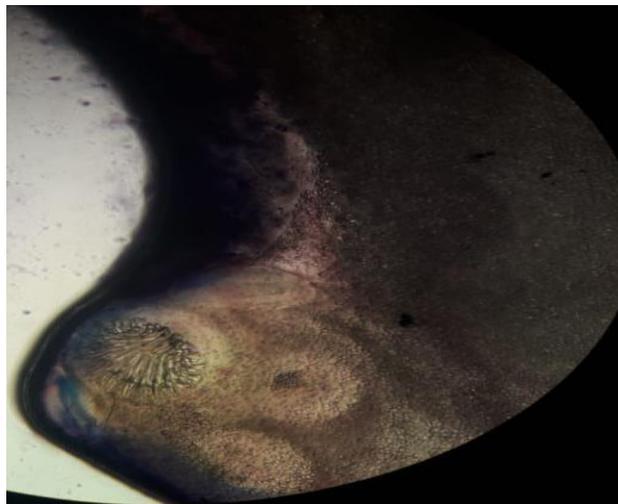
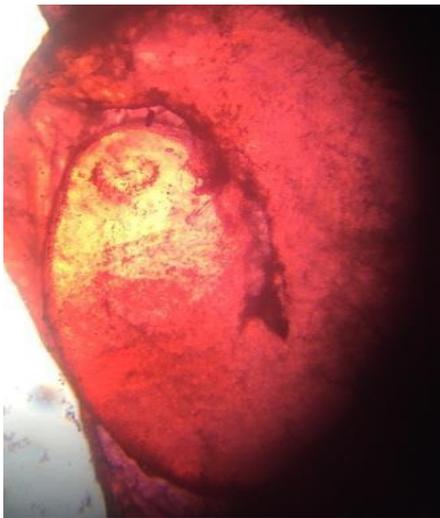
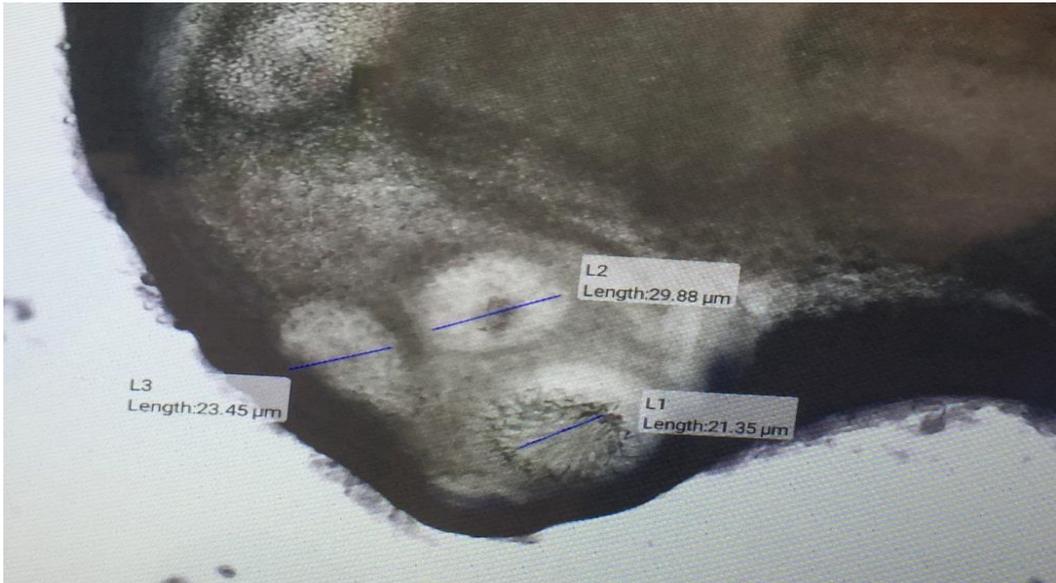


Anexo 5. Pesaje de quistes de *Cysticercus tenuicollis*



Anexo 6. Estudio del *C.t.* en el microscopio





Anexo 7. Muestreo para laboratorio



Anexo 8. Tabla de pesaje para muestreo de perfil genético

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
ESTUDIO MORFOLÓGICO DEL *Cysticercus tenuicollis* EN
OVINOS FAENADOS EN MATADEROS
NOMBRE: MVZ. MAURICIO RAFAEL AGUILERA VIZUETE

CÓDIGO	MEDIDA	PESO		
C001	0.2 x 0.4 mm	18.5 mg		
C002	0.3 x 0.4 mm	32.1 mg		
C003	0.3 x 0.5 mm	22.6 mg		
C004	0.3 x 0.4 mm	36.1 mg		
C005	0.2 x 0.4 mm	41.2 mg		
C006	0.3 x 0.4 mm	38 mg		
C007	0.2 x 0.5	16.1 mg		
C008	0.2 x 0.4	25.4 mg		
C009	0.2 x 0.3	44.5 mg		
C010	0.3 x 0.3	32.2		
C011	0.4 x 0.4	38.6		
C012	0.3 x 0.3	17.7		
C013	0.2 x 0.4	19.7		
C014	0.3 x 0.5	41.5		
C015	0.3 x 0.6	20.6		
C016	0.2 x 0.4	22.3		
C017	0.2 x 0.4	10.8		
C018	0.3 x 0.4	41.5		
C019	0.3 x 0.3	26.6		
C020	0.2 x 0.4	28.8		



Anexo 9. Tabla de ovinos faenados 2019

FAENAMIENTO MATADERO METROPOLITANO 2019				
FECHA	BOVINO	OVINO	PORCINO	LLAMAS
ENERO	6106	1736	7096	39
FEBRERO	5504	1540	6133	37
MARZO	5592	1540	6310	34
ABRIL	5642	1484	7125	24
MAYO	6094	1749	7101	39
JUNIO	5535	1539	6547	32
JULIO	6428	1624	7690	43
AGOSTO	5759	1642	7072	33
SEPTIEMBRE	5710	1654	7382	22
OCTUBRE	5737	1365	7311	24
NOVIEMBRE	5359	1671	6825	36
DICIEMBRE	5261	1602	8712	35
TOTAL	68727	19146	85304	398