



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TESIS

ENTEROPARÁSITOS Y HEMOPARÁSITOS EN *Trichechus inunguis* Natterer, 1883, SEGÚN ÁREAS DE CAUTIVIDAD EN ELCENTRO DE RESCATE AMAZÓNICO (CREA), LORETO-PERÚ

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO

PRESENTADO POR:

FRANCO IVAN MACEDO TAFUR JIM WERNER RUIZ PEZO

ASESORES:

BIga. CARMEN TERESA REÁTEGUI DE KAHN, Mgr. BIgo. JUAN JUSTO EDBER SÁNCHEZ BABILONIA

> IQUITOS, PERÚ 2022

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS № 013-CGT-UNAP-2022



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS Nº 013-CGT-UNAP-2022

En la ciudad de Iquitos, Departamento de Loreto, mediante plataforma virtual, a los 6 días del mes de mayo del 2022, a horas 17:00 se dio inicio a la sustentación pública de la Tesis titulada: "ENTEROPARÁSITOS Y HEMOPARÁSITOS EN Trichechus inunguis Natterer,1883, SEGÚN ÁREAS DE CAUTIVIDAD EN EL CENTRO DE RESCATE AMAZÓNICO (CREA), LORETO-PERÚ", presentado por los Bachilleres FRANCO IVAN MACEDO TAFUR y JIM WERNER RUIZ PEZO, autorizada mediante RESOLUCIÓN DECANAL Nº 173-2022-FCB-UNAP, para optar el Título Profesional de BIÓLOGO, que otorga la UNAP de acuerdo a Ley 30220, su Estatuto y el Reglamento de Grados y Títulos vigente. El Jurado Calificador y dictaminador designado mediante RESOLUCIÓN DIRECTORAL Nº 050-2018-DEFP-B-FCB-UNAP, de fecha 11 de mayo de 2018, integrado por los siguientes Profesionales: Biga. MIRLE CACHIQUE PINCHE, Dra. - Presidente Biga. ETERSIT PEZO LOZANO, M.Sc. - Miembro Blga. JULIA BARDALES GARCÍA DE VELA, M.Sc. - Miembro Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas, las cuales fueron respondidas: Jatistucton amente El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones: La sustentación pública y la Tesis ha sido APRORADA con la calificación de Buena estando los Bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de BIÓLOGO. 19:00 Siendo las se dio por terminado el acto de sustentación. Biga. MIRLE CACHIQUE PINCHE, Dra. Presidente Blga. ETERSIT PEZO LOZANO, M.Sc. BIga. JULIA BARDALES GARCÍA DE VELA, M.Sc. BIga. CARMEN TERESA REATEGUI DE KAHN, Mgr. BIGO. JUAN JUSTO EDBER SÁNCHEZ BABILONIA Asesora Asesor

MIEMBROS DEL JURADO

Blga. Mirle Cachique Pinche, Dra.

Presidente

Blga. Etersit Pezo Lozano, M.Sc.

Miembro

Blga. Julia Bardales García De Vela, M.Sc.

Miembro

ASESORES

BIga. CARMEN TERESA REATEGUI DE KAHN, Mgr.

BIgo. JUAN JUSTO EDBER SÁNCHEZ BABILONIA

DEDICATORIA

JIM RUIZ:

A mi madre Diomar Pezo Pinedo A Clara Malika Judith Gottstein por todo el apoyo y amor.

FRANCO IVAN:

A mi hermano Max Henrry Macedo Tafur

A mi padre Ángel Macedo Sias

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana y al Departamento Académico de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas, por el permiso y el uso de sus instalaciones.

Al Centro de Rescate Amazónico (CREA) y sus profesionales por brindarnos el apoyo logístico y técnico para los muestreos de los manatíes.

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) por la aprobación del permiso según los acuerdos y políticas con el CREA.

A la Blga. Carmen Teresa Reátegui de Kahn Mgr., por el apoyo profesional, incondicional y desinteresado, para el desarrollo de esta investigación.

Al Blgo. Juan Justo Edber Sánchez Babilonia, por aceptar ser nuestro asesor externo y darnos el apoyo constante y perseverante en el desarrollo de esta investigación.

A la Sra. Margit Gottstein que nos brindó su apoyo incondicional para la finalización de la investigación, gracias por todo el apoyo brindado.

A la Blga. Malika Gottstein Mgr., por el apoyo, concejos, sugerencias y capacitación durante el desarrollo de la investigación.

A la Medico veterinaria María Violeta Barrera Navarro por el apoyo y paciencia incansable en la extracción de las muestras de heces y sangre.

ÍNDICE DE CONTENIDO

PORTADAi	ĺ
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS № 013-CGT-UNAP-2022ii	i
MIEMBROS DEL JURADOii	i i
ASESORESiv	V
DEDICATORIA	V
AGRADECIMIENTOSv	'i
ÍNDICE DE CONTENIDOvi	i i
ÍNDICE DE TABLAS	X
ÍNDICE DE ANEXOSx	į
RESUMENxi	ii
ABSTRACTxii	i i
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes	3
1.2. Bases Teóricas	7
1.2.1. <i>Trichechus inunguis</i> "Manatí amazónico" ³	9
1.2.2. Coccidios. 10	С
1.2.3. Nemátodos1	4
1.2.4. Trematodos1	5
1.3. Definición de Términos Básicos1	6
1.3.1. Enteroparásitos16	6
1.3.2. Hemoparásitos16	ô

	1.3.3. Prevalencia	16
	1.4. Áreas de Cautividad	16
	1.4.1. Área de cuarentena	17
	1.4.2. Área de destete	17
	1.4.3. Áreas de preliberación	18
	1.5. Grupo de edad	18
CA	APÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	19
	2.1. Variables independientes	19
	2.2. Variables dependientes	19
CA	APÍTULO III: METODOLOGÍA	21
	3.1. Área de Estudio	21
	3.2. Tipo y diseño	22
	3.3. Diseño muestral	22
	3.3.1. Población universo	22
	3.3.2. Población de estudio	22
	3.3.3. Muestra o selección de muestra	22
	3.4. Procedimiento de la recolección de datos	22
	3.4.2. Colecta de Muestras Fecales	23
	3.4.3. Colecta de Muestras Sanguíneas	24
	3.5. Procedimiento y análisis de los datos	25
	3.5.1 Procesamiento de las muestras fecales	25

3.5.2. Procesamiento de muestras sanguíneas	27
3.7. Aspectos Éticos	29
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	30
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	38
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	41
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	42
CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN	43

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Operacionalización de Variables20
Tabla 2.	Clasificación Taxonómica de Enteroparásitos identificados en
	Trichechus inunguis, en el CREA, Loreto - Perú31
Tabla 3.	Descripción de quistes y huevos de enteroparásitos identificados en
	heces de <i>Trichechus inunguis</i> , en el CREA, Loreto – Perú32
Tabla 4.	Prevalencia de enteroparásitos y hemoparásitos en Trichechus
	inunguis, según área de destete y preliberación en el CREA, Loreto
	– Perú35
Tabla 5.	Prevalencia de enteroparásitos y hemoparásitos en Trichechus
	inunguis, según grupo de edad y sexo en el CREA, Loreto - Perú.
	36
Tabla 6.	Prevalencia de enteroparásitos y hemoparásitos en Trichechus
	inunguis, según las instalaciones del CREA, Loreto - Perú37

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Ficha de datos, muestreo parasitológico y hematológico de
	Trichechus inunguis52
Anexo 2.	Protocolo de manejo para muestreo de manatíes53
Anexo 3.	Técnica de Extración sanguínea54
Anexo 4.	Preparación de las muestras sanguíneas55
Anexo 5.	Preparación de las muestras fecales para la tinción de Kinyoun
	56
Anexo 6.	Responsables del proyecto de investigación57

RESUMEN

La principal amenaza que afecta al manatí amazónico es la contaminación de los ríos que facilita la propagación de enfermedades parasitarias; de esta manera la presente investigación tuvo como objetivo determinar la prevalencia de enteroparásitos y hemoparásitos en manatíes amazónicos del Centro de Rescate Amazónico. Obteniéndose 28 muestras de 10 manatíes hembras y machos, entre crías, juveniles y adultos. Las muestras fecales fueron obtenidas por deposición directa y las muestras sanguíneas por extracción directa de la aleta pectoral. Para la detección de parásitos intestinales se utilizó el método directo, flotación de Willis y coloración de Kinyoun. Para los hemoparásitos se realizó observación directa de sangre y gota gruesa con tinción Giemsa. Se registraron los siguientes Protozoarios: ooquiste de Eimeria 1,2 y3, Cyclospora, Cryptosporidium, quiste de Entamoeba; y Helmintos: como huevos de Ascaridae 1 y 2, Oxyuridae, Ancylostomatidae, Nematodo 1,2 y 3, y un Trematodo; siendo los de mayor prevalencia ooquiste de Eimeria (3) 100% y Cyclospora 80%. En las áreas de cautividad, preliberación registró mayor número de enteroparásitos, así como en juveniles y en Fundo Furia, mientras que en las hembras y en los machos su presencia fue indistinta. Estadísticamente, estos resultados fueron independientes a las variables estudiadas. No se registraron parásitos sanguíneos en las muestras obtenidas.

Palabras claves: enteroparásitos, hemoparásitos, prevalencia, *Trichechus inunguis*.

ABSTRACT

The main threat that affects the Amazonian manatee is the contamination of rivers that facilitates the spread of parasitic diseases; therefore, the present study had the objective of determining the prevalence of enteroparasites and hemoparasites in Amazonian manatees of the Amazonian Rescue Center. Twenty-eight samples were obtained from 10 male and female manatees, including calves, juveniles and adults. Fecal samples were obtained by direct deposition and blood samples by direct extraction from the pectoral fin. For the detection of intestinal parasites, the direct method, Willis flotation and Kinyoun staining were used. For hemoparasites, direct observation of blood and thick drop with Giemsa staining was performed. The following Protozoa were recorded: Eimeria oocyst 1,2 and 3, Cyclospora, Cryptosporidium, Entamoeba cyst; and Helminths, as eggs of Ascaride 1 and 2, Oxyuridae, Ancylostomatidae, Nematode 1, 2 and 3, and a Trematode; with the highest prevalence being Eimeria (3) 100% and Cyclospora 80%. According to the areas of captivity, pre-release was the area with the highest number of enteroparasites recorded, as well as juveniles and the Fundo Furia facility, while in females and males their presence was indistinct. Statistically, these results were independent of the variables studied. No blood parasites were recorded in the samples obtained.

Key words: enteroparasites, hemoparasites, prevalence, *Trichechus inunguis*.

INTRODUCCIÓN

Trichechus inunguis (Natterer, 1883), el manatí amazónico, es una especie de mamífero acuático que habita en los cuerpos de agua afluentes de las cuencas del río Amazonas e inclusive en la desembocadura del Atlántico ^{1,2}. El manatí amazónico cumple un rol ecológico muy importante en el control de crecimiento de la vegetación acuática; se alimenta con más de 20 especies de plantas acuáticas y actúa de esta manera contra la colmatación en las aguas de curso lento ³.

Actualmente se encuentra en peligro de extinción dentro del Apéndice I del CITES (Convención Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre) ⁴ y Vulnerable por la IUCN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y Recursos Naturales) ⁵. Las principales amenazas para el manatí amazónico son la constante contaminación de los ríos adyacentes, la caza accidental y clandestina, y enfermedades causadas por diferentes agentes patógenos ^{1,2,3}.

Para mitigar los efectos negativos de la caza en la población de una especie silvestre amenazada, los centros de rescate cumplen un rol importante recibiendo animales rescatados y rehabilitándolos para su reintroducción al hábitat natural ⁶. Los esfuerzos en el cuidado y conservación del manatí amazónico se vienen dando años atrás en el Centro de Rescate Amazónico (CREA) ubicado en la ciudad de Iquitos, Loreto, Perú.

La rehabilitación para la reintroducción exitosa del manatí amazónico está sujeto a diferentes factores como la alimentación, reproducción y la salud, este último tiende a ser la más prioritaria entre los demás factores ^{6,7}. Comúnmente

las enfermedades que afectan a estos mamíferos están ligados a factores parasitarios, facilitadas por la intensa contaminación de los cuerpos de agua y la supervivencia de los parásitos en el medio acuático, donde pueden permanecer viables hasta seis meses ⁷. Es de gran importancia contar con información relevante sobre el papel de las enfermedades parasitarias para el manejo y conservación del manatí amazónico, siendo imprescindible el conocimiento de posibles agentes patógenos en individuos a reintroducir a su medio natural para evitar efectos negativos.

Estudios anteriores indicaron la presencia de coccidios como *Cryptosporidium sp.* a nivel coprológico ^{2,8}. Sin embargo, son pocos los estudios de investigación parasitaria en el manatí amazónico y el conocimiento se limita a enteroparásitos dejando de lado los hemoparásitos.

De tal manera el presente estudio hace referencia en la identificar y estimar la prevalencia de parásito a nivel coprológico y hematológico en *T. inunguis*, que contribuirá al conocimiento sobre estudios parasitarios en estos mamíferos acuáticos además de la toma de acciones para su cuidado y conservación.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

En Florida, EE.UU. (2014) (*Trichechus manatus latirostris*), examinaron 67 muestras fecales de manatíes en cautiverio y silvestres para definir la fauna parasitarias en los manatíes de Florida. Extrajeron huevos de helmintos adultos que fueron identificados, caracterizados e ilustrados. Así mismo, identificaron ooquistes de coccidios en las muestras fecales. Incluyeron huevos de 5 especies de trematodos: *Chiorchis fabaceus* (43%), *Chiorchis graschafti* (33%), *Pulmonicola cochleotrema* (14%), *Moniligerum blairi* (19%) *y Nudacotyle undicola* (29%), un nematodo (*Heterocheilus tunicatus*) y ooquistes de dos coccidios *Eimeria manatus* (83%) *y Eimeria nodulosa* (50%).

En la región andina de San Juan, Colombia (2019) colectaron muestras fecales de 69 Manatíes antillanos *Trichechus manatus manatus* de los ríos Carare y San Juan y en dos humedales asociados; utilizaron el método de rastreo del manatí sobre un bote siguiendo un transecto lineal hasta ocurrir la defecación. Las muestras fueron puestas en tubos de 10 ml con 70% de etanol para su fijación y conservación, los resultados mostraron el 72% (50/69) de manatíes infectados con al menos un parásito intestinal. Diagnosticaron cinco especies del taxon protozoo y uno del taxon metazoo, siendo la más prevalente, la especie *Eimeria nodulosa* (47,8%), seguida de dos especies de *Eimeria manatus* (a y b) (43,4%), luego de *Chiorchis fabaceus* (33,3%) y con menor frecuencia a *Entamoeba sp.* (14,5%) y *Giardia sp.* (1,4%),

encontrándose esta última en una sola muestra fecal por coproantígeno-ELISA; también mencionaron que el hallazgo del trematodo se debe principalmente a la presencia de un tipo especial de gasterópodo. Además, indicaron que *Entamoeba sp.*, solamente fueron reportados en ballenas como cachalotes, ballenas azules, ballenas de aleta y ballenas sei, con características diferentes a las que encontraron en manatí ¹⁰.

En los Valles del Sinú y San Jorge, Colombia (2018), como propósito de estudio el Programa de rehabilitación regional y conservación de manatíes en Santa Cruz de Lorica de la Fundación OMACHA y la Corporación Autónoma, realizaron colectas de muestras fecales en 4 manatíes antillanos revelando la presencia de metazoos y protozoos, en el grupo de metazoo encontraron huevos de trematodo *Chiorchis fabaceus y Nudacotyle undicola*, caracterizados a nivel morfológico y filogenético. Dentro de los protozoarios se observaron las especies *Eimeria manatus y E. nodulosa*, que fueron descritos a nivel filogenético; además, adicionaron la utilización de ELISA comercial para la detección de infección por *Cryptosporidium* y *Giardia*, resultando negativo en los individuos muestreados ¹¹.

En Pará, Brasil (2017), estudios de muestras fecales en 10 Individuos de *Trichechus inunguis*, entre adultos, jóvenes y crías procedentes del lago Amaná y del centro de cautiverio Consejo Nacional de Seringueiros – CNS de la Reserva Amaná de Desarrollo Sustentable - RDSA en la Amazonía Occidental Brasileña, además de 103 muestras fecales sobrenadantes encontradas en área de alimentación de la especie, con

el propósito de determinar la ocurrencia de *Cryptosporidium sp.*, realizaron los exámenes de las muestras con los métodos de sedimentación con Formol – éter y de coloración de Kinyoun; utilizaron para las muestras positivas la prueba de inmunofluorescencia directa. Registraron el 20% (2/10) y 2,9% (3/103) de individuos con *Cryptosporidium spp.;* mencionaron también, que este parásito fue encontrado en *Trichechus manatus manatus*, *Dugong dugon*, *Zalophus californianus*, *Phoca hispida*, *Balaena mysticetus y Eubalaena glacialis*, demostrando de esta forma, la diseminación de la infección entre mamíferos acuáticos puede ser facilitada por factores relacionados con la intensidad de la contaminación ambiental y la supervivencia de los ooquistes por las condiciones del medio².

En los Estado de Tabasco y Quintana Roo, México 2017, hicieron estudios de prevalencia de helmintos en 31 muestras fecales de *Trichechus manatus manatus* en el Golfo Sur de México y en las Costas Caribeñas de México; todas las muestras de las Costas Caribeñas y 9 del Golfo sureño fueron tomadas de manatíes capturados por Proyectos de Evaluación de Salud, los restantes fueron: 1 proveniente de manatí rescatado, 4 de necropsias, 4 de animales cautivos y 4 muestras de heces fresca flotantes. Los métodos usados para los análisis fecales fueron: solución salina saturada con un dispositivo de agitación y filtración, técnica de sedimentación de concentración Eter-Formalina. Los resultados de sus observaciones fueron: tres digeneos, *Chiorchis fabaceus* (n=12) *Chiorchis groschafti* (n=18) *Pulmonicola cochleotrema* (n=23), y dos nematodos: *Heterocheilus tunicatus* (n=24), Ascarididae

(n=1); los parásitos fueron identificados utilizando literatura especializada y catálogos gráficos. Señalan la alta prevalencia de *Chiorchis fabaceus* con 66.6% seguida de *Heterocheilus tunicatus* con 44.4% en las Costas Caribeñas de México y *Pulmonicola cochleotrema* con 22.7% en Golfo Sur de México ¹².

En Santander y Córdova, Colombia (2018), como parte del programa de rehabilitación y conservación de manatíes de la Fundación OMACHA y la Corporación Autónoma Regional, fueron tomadas 69 muestras fecales flotantes en manatíes en proceso de rehabilitación durante defecación espontánea en exámenes de rutina, en los ríos San Juan y Ciénaga del departamento de Santander y 4 muestras fecales en el rio Santa Cruz de Lorica del departamento de Córdoba. Procesaron las muestras con SAF, sedimentación, flotación, extendidos de carbol fucsina y adicionalmente ELISAs específicos para la detección de coproantígenos de *Guardia* y *Cryptosporidium*. De todas las muestras, el 73% fueron positivas para ooquistes de *Eimeria spp.*, huevos de *Chiorchis fabaceus*, quistes de *Entamoeba spp.* y *Nudacotyle undicola*; los coccidios y trematodos fueron amplificados por PCR secuenciados para inferir sus relaciones filogenéticas mencionando también como el primer análisis molecular de estos parásitos. 13

En Iquitos, Perú (2015), el Centro de Rescate Amazónico (CREA) realizó estudios en 8 manatíes amazónicos entre juveniles y adultos sobre la presencia de *Cryptosporidium sp.*, reportando el 12,5% de infectados, es decir, 1 de 8 manatíes fue positivo. El individuo positivo

presentó factores predisponentes como la edad (juvenil) e inmunosupresión por estrés, favoreciendo el hallazgo de ooquistes del parásito, la baja presencia de este coccidio se debía a que el agua utilizada en el CREA es tratada con desinfectante ⁷.

En Iquitos, Perú (2013) se realizaron colectas de suero sanguíneo de 19 "manatíes amazónicos" (*Trichechus inunguis*) cautivos pertenecientes a una unidad de rehabilitación del Programa de Ecosistemas Acuáticos (PEA), la detección de los anticuerpos de *Toxoplasma gondii* fue realizada con la prueba de aglutinación modificada (MAT) según Dubey y Desmonts (1987) obteniendo la presencia de anticuerpos en 12 manatíes (63.2%), determinándose seropositivos según el sexo 5 de 10 machos (50%) y 7 de 9 hembras (77.7%); según la edad , 5 juveniles(62.5%) y 7 adultos (63.6%), la causa probable que podría haber afectado la vida marina de los manatíes con la presencia de anticuerpos de *Toxoplasma gondii* fueron las excreciones de suficientes ooquistes por felinos en tierra llegando a ríos, lagos, etc., e infectar la vida marina ¹⁴.

1.2. Bases Teóricas

Los estudios parasitológicos son un requerimiento importante para la conservación de las 4 especies del orden Sirenia (*Dugong dugon* (familia Dugongidae); *Trichechus manatus, T. senegalensis, T. inunguis* (familia Trichechidae) ¹⁵. Las infecciones por enteroparásitos en mamíferos acuáticos son causadas por la contaminación del agua

haciéndolos susceptibles a agentes patógenos que pueden ocasionar enfermedades ².

En la Amazonía peruana, al igual que *T. inunguis*, los 5 demás mamíferos acuáticos (*Chironectes minimus, Lontra longicaudis, Pteronura brasiliensis, Inia geoffrensis, Sotalia fluviatilis*) presentan pocos estudios sobre infecciones parasitarias ¹⁶. En *T. inunguis* existen 3 estudios parasitológicos ^{2,7, 16}, que también contienen poca información detallada y escasos estudios de hemoparásitos de investigaciones relacionadas exceptuando de algunos que indican la variabilidad hematológica y estudios bioquímicos ¹⁷.

La presencia de coccidios en sirénidos ha sido informada a través de exámenes parasitológicos en manatíes antillanos, manatíes amazónicos y manatíes del litoral del noreste brasileño ^{2, 18}. Sin embargo, la población siguen casando estos sirénidos a pesar que la especie se encuentra amenazada, de esta forma su población se ve afectada habiendo poco individuos silvestres, más la presencia de parásitos que llega a causa de la creciente contaminación de los cuerpos de agua donde ellos habitan especialmente en zonas costeras urbanizadas, ¹⁹.

1.2.1. Trichechus inunguis "Manatí amazónico" 3.

Clase : Mammalia

Orden : Sirenia

Familia : Trichechidae

Género : Trichechus

Especie : Trichechus inunguis

Descrito por : Natterer, 1883

N. Común : Manatí amazónico, Vaca marina

Descripción de la especie Trichechus inunguis

Trichechus inunguis (Natterer, 1883), es una especie de mamífero acuático perteneciente al orden Sirenia de la familia Trichechidae ²⁰. Tiene una longitud de 2,5 a 2,8 metros y un peso de 350 a 450 Kg, un cuerpo robusto y pesado ²¹. El "manatí" posee seis vértebras cervicales, carece de extremidades posteriores, las cuales son reemplazadas por una aleta caudal aplanada horizontalmente con bordes redondeados, las pupilas son ovaladas horizontalmente y el iris es de color café oscuro ^{21, 22}. Tiene pelos finos que están escasamente dispersos en el cuerpo y cerdas gruesas que se encuentran en los labios superior e inferior. Posee dos mamas, localizados uno en cada axila ²³. El aparato reproductor en las hembras es la abertura genital que está localizado inmediatamente anterior al ano, mientras que del macho está ligeramente posterior a la cicatriz umbilical, producen una cría por camada, después de una gestación de aproximadamente un año, muy

raras veces gemelos. Alcanzan la madurez sexual entre los 3 a 4 años, pero son aptos para su reproducción desde los 5 a 8 años ²⁴.

Alimentación: El manatí amazónico posee hábito herbívoro, no rumiante y se alimenta de una gran variedad de plantas acuáticas y semiacuáticas ^{25, 26}, siendo las plantas sumergidas: *Utricularia foliosa*, flotantes: *Pistia stratiotes, Salvinia auriculata* y las emergentes: *Paspalum repens, Oryza latifolia, Paspalum fasciculatum* ²⁷.

Distribución: En el Perú desde los ríos Putumayo, Napo, Tigre, Marañón, Pacaya, Ucayali, Samiria, Alfaro, Ungurahui, y posiblemente en el río Huallaga ^{20, 28}. En Brasil, en el río Amazonas y tributarios: ríos Tocantins, Xingu, Tapajós, Nhaminda, Madeira, Negro, Branco, Arari, Marajó, Yavarí, Takatú, entre otros ²⁹.

1.2.2. Coccidios.

Taxonomía:

Reino : Protista

Filo : Miozoa

Clase : Conoidasida

Orden : Eucoccidiorida

Familia : Eimeriidae

Género : Eimeria

Descripción: Parásito intestinal que fue descubierto por Schneider en 1875. Los ooquistes salen inmaduros con las heces del hospedador,

tienen tamaño y morfología variable, según la especie, esporulan en el ambiente formando 4 esporoquistes con 2 esporozoíto en cada uno ^{30,} ³¹.

Ciclo Biológico: La infección resulta de la ingesta de agua y alimento contaminado con ooquistes esporulados. En la fase endógena se liberan 8 esporozoitos, cada esporozoitos invade un enterocito o células intestinales donde empezará la reproducción asexual (esquizogonia o merogonia) formándose trofozoítos que desarrollarán esquizontes o merontes, para seguir con la segunda generación de esquizontes que se desarrolla en la cavidad del ciego y el colon produciendo numerosos merozoitos, algunos de estos penetran en la células del ciego y colon para diferenciarse en macro y microgametocitos, cada macrogametocito dará lugar a un solo macrogameto y cada microgametocito a numerosos microgametos, la unión de los gametos dará lugar al ooquiste inmaduro que será eliminado junto con las heces para su maduración en el ambiente bajo condiciones de temperatura y humedad adecuada y ser nuevamente ingeridos por otro animal con afinidad, se repite el ciclo de infección 31,32.

Patología: La destrucción de las células epiteliales es el principal mecanismo de patogenicidad dependiendo de la cantidad de ooquistes ingeridos. Una infección masiva determina la destrucción de un gran número de células del epitelio intestinal ocasionando síndromes de malabsorción, causando pérdida de peso ³².

Género: Cyclospora.

Descripción: Es un parásito intestinal que fue descrito por Ashford en 1977, inicialmente definido como una nueva especie de Isospora. Los ooquistes que salen inmaduros con las heces del hospedador, son de forma esférica con diámetro de 8 a 10 μm, poseen doble pared rígida, se diferencian de otros coccidios intestinales porque los ooquistes maduros responden a la fórmula 1:2:2, o sea, cada ooquiste maduro contiene dos esporoquistes, cada uno de ellos con dos esporozoítos; los esporozoítos son alargados, siendo esta su fase infecciosa ³³.

Ciclo biológico: El parásito presenta un ciclo vital entero-epitelial y complejo, se inicia con las ingestión de los ooquistes esporulados, ocurriendo el desenquistamiento en el intestino que libera cuatro esporozoitos, los esporozoitos invaden los enterocitos del intestino delgado; internamente dentro de las células del intestino se transforman en trofozoítos que mediante reproducción asexual por merogonía forman dos tipos de merontes, los merontes tipo I contiene de 8 a 12 merozoitos, que realizan una nueva invasión en las células del intestino para dar origen a los merontes tipo II que contienen cuatro merozoitos que liberados invaden otras células epiteliales para iniciar la fase sexual, diferenciándose en microgametos (que formará microgametos flagelados) y macrogameto que fertilizado se transforma en cigoto con una pared gruesa convirtiéndose en ooquiste; los ooquistes no esporulados inmaduros salen con las heces que dependiente de las condiciones ambientales se convierten en ooquistes esporulados 34.

Patología: Los esporozoítos liberados en el intestino delgado, se transforman en trofozoítos dentro de la célula produciendo agresión celular y tisular. Como respuesta del hospedero, se produce una reacción inflamatoria y aplanamiento del borde en cepillo con acortamiento y atrofia de las vellosidades intestinales, además de hiperplasia de las criptas. Estas afecciones en la pared del intestino delgado hacen que se pierda superficie y capacidad de absorción, produciendo deficiencia en la absorción de nutrientes ^{33, 34, 35}.

Familia : Cryptosporidiidae

Género : Cryptosporidium

Descripción: Este género fue descubierta por primera vez por Clark en 1895. Los ooquistes salen maduros con las heces del hospedador. Tiene forma esférica, mide de 4 a 6 μm de diámetro y contiene 4 esporozoitos en su interior. La criptosporidiosis afecta principalmente a animales vertebrados provocando comúnmente diarreas acuosas ³⁶.

Ciclo Biológico: la infección ocurre cuando los ooquistes esporulados contaminan los alimentos que van a ser ingeridos por los hospedadores, al ocurrir el desenquistamiento los esporozoitos invaden las microvellosidades de las células gastrointestinales diferenciándose en esquizontes que a su vez formarán merontes tipo 1, estos realizarán una segunda esquizogonia formando merontes tipo 2, que iniciarán la fase de gametogonia, el microgameto se libera e invade la célula donde se encuentra el macrogameto, la fertilización dará lugar al cigoto el cual se diferencia en un ooquiste maduro, del cual formará dos tipos de

ooquistes, las que presentan paredes gruesas y de paredes finas; las

de paredes finas sirven para hacer una auto infección y las de paredes

gruesas son excretados con las heces para una nueva infección fecal-

oral ^{36,37}.

Patología: Se ha encontrado a lo largo de todo el tracto digestivo, desde

la faringe hasta el recto, siendo el yeyuno el sitio más parasitado.

También se lo ha encontrado en la vesícula biliar, vía pancreática y

aparato respiratorio. Las lesiones intestinales por Cryptosporidium son

inespecíficas y se caracterizan por atrofia de leve a moderada de las

vellosidades intestinales, aumento en el diámetro de las criptas, así

como un infiltrado de leve a moderado de células mononucleares de la

lámina propia 35.

1.2.3. Nemátodos.

Taxonomía:

Phylum

Nematoda

Son parásitos que afectan a animales y seres humanos que pueden

causar graves afecciones, pueden llegar a medir desde 1 mm a 50 cm,

en su fase larval miden desde 3 mm a 9 mm; dentro de este filo se

encuentras los siguientes taxones ³⁸:

14

Clase Secernentea

a. Orden Ascaridida:

Descripción: los miembros de este orden por lo general son

relativamente grandes y están provistos de 3 dientes bien desarrollados,

esófago cilíndrico y músculos corporales celomarios. Los huevos son

ovoides alargados que pueden llegar a medir 90 µm de largo, con una

pared externa delgada, una capa externa mamelonada variable y

citoplasma granulado; los huevos fértiles eliminados con las heces del

hospedador son redondos u ovoides, con pared gruesa, una capa

externa mamelonada o sin ella (decorticados) de color café o bilis de

tamaño aproximado 60 µm a 75 µm; en este estadio son normalmente

excretados requiriendo 18 días para el desarrollo larval 39.

b. Orden Oxyurida

Descripción: Los huevos son elípticos, miden de 50 a 60 µm de largo,

poseen una cutícula pegajosa de color blanquecina o amarillenta del

cual se adhieren en la piel o perianal de hospedador, dentro de los

huevos se desarrollan las larvas infectivas entre 5 a 7 días llegando a

medir de 8 a 13 mm en hembras y de 2 a 7 mm los machos ^{38, 40}.

1.2.4. Trematodos.

Taxonomía

Phylum : Platyhelminthes

Clase : Trematoda

15

Descripción. Los huevos generalmente tienen forma oval, miden de 70 a 120 μm de largo, operculados de color pardo amarillento ⁴¹.

1.3. Definición de Términos Básicos

1.3.1. Enteroparásitos

También llamados parásitos intestinales, se alojan a lo largo del tracto digestivo ocasionando enfermedades parasitarias en los hospederos; estas lesiones son causadas principalmente por protozoarios y helmintos en mamíferos acuáticos y terrestres. ³⁵.

1.3.2. Hemoparásitos

Son organismos que pueden ser transmitidos a los animales por vectores mecánicos y biológicos que viven y se reproducen a nivel de los vasos sanguíneos, de manera intra o extra-eritrocitario ⁴³.

1.3.3. Prevalencia

Se define como la proporción de individuos en una población que presenta una determinada infección por parásitos en un momento dado 44.

1.4. Áreas de Cautividad

Son los diferentes ambientes dentro de los centros de manejo, que, de acuerdo con el protocolo usado por la institución, puede haber diferentes áreas de cautividad (cuarentena, destete y preliberación), en los cuales los manatíes rescatados son puestos bajo cuidado y siguen su proceso de rehabilitación hasta su reintroducción a su ambiente natural.

Los manatíes rescatados en el CREA pasan por las tres áreas de cautividad: cuarentena, destete y preliberación, cada área tiene características específicas que son adecuadas para cada etapa de rehabilitación del individuo.

1.4.1. Área de cuarentena

Área utilizada para los manatíes recién ingresados al centro de rescate. Consta de cuatro estanques enlosetados cuyas dimensiones fueron: 2.8 m de largo, 2.0 m de ancho y 0.9 m de alto, cada estanque presenta un sistema de filtrado y renovación de agua proveniente de un reservorio tratado. En este ambiente, se realizan las primeras evaluaciones de las condiciones en las que llegan los manatíes; se les brinda tratamiento veterinario y si son crías se les va adaptando progresivamente a tomar leche especial en biberón.

1.4.2. Área de destete

También llamada área intermedia, en ella son trasladados los manatíes que se encuentran en proceso de crecimiento, de cría a juvenil y en buen estado de salud, la alimentación es alternada con dietas de leches y plantas acuáticas; la dosis de leche va disminuyendo en los juveniles para aumentar la cantidad de plantas acuáticas como alimento natural, de esta manera se determinará el crecimiento óptimo de los manatíes siendo retenidos hasta cumplir los 2 años de edad o tengan entre 80 a 100 kg de peso corporal 45.

1.4.3. Área de preliberación

También llamada área final, exhiben una mayor longitud que las demás áreas permitiendo el buen desplazamiento y adaptación a un medio casi natural de los manatíes que se encuentran en la fase de juvenil a adulto. Las áreas de preliberación son importantes porque ya no existe contacto antropogénico frecuente, a excepción de los controles que se realizan de uno a dos veces por año para determinar su crecimiento y peso, con estos datos se determinará si el manatí está apto para su liberación ⁴⁵.

1.5. Grupo de edad

Son etapas de desarrollo de vida en un manatí, considerados crías desde que nacen hasta los dos años de edad; luego entran en la etapa de madurez sexual siendo considerados todavía juveniles, en las hembras está entre los 4 y 6 años y en los machos entre 6 y 8 años, a partir de esta edad en adelante son considerados adultos ¹.

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

Existe diferencia en la prevalencia de enteroparásitos y hemoparásitos en *Trichechus inunguis* "manatí amazónico" según edad, sexo y las áreas de cautividad del CREA de la ciudad de Iquitos, Loreto – Perú.

2.1. Variables independientes

- Áreas de cautiverio.
- Grupo de edad y sexo.

2.2. Variables dependientes

• Prevalencia de enteroparásitos y hemoparásitos.

Tabla 1. Operacionalización de Variables

Variable	Tipo por su naturaleza	Indicadores	Índices	Escala de medición	Categ orías	Valores de las categorías	Medios de verificación	
DEPENDIENTE								
Prevalencia de Enteroparásitos	Cuantitativa	Prevalencia de enteroparásitos	Prevalencia		Alta	66 – 100%		
Enteroparasitos	105		епсторагазноз	% Individuos infectados	Ordinal	Media	33 – 65%	Registro de datos
Prevalencia de		Prevalencia de	= Total de individuos				datos	
Hemoparásitos	((liantitativa	hemoparásitos	\ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \ \		Baja	< de 33%		
INDEPENDIENTE						1		
	Cualitativa Preliberación Destete		Pilpintuwasi		Nº	1		
Áreas de		Cualitativa	Preliberación	Granja Cuatro	Naminal	Nο	1	Registro de
Cautividad				Fundo Furia	Nominal	Nο	6	datos
		Destete	CREA		Nº	2		
			Cría	0 – 2 años		Nº	3	
		Juvenil	Hembra = 2 – 4 años		Nο	4	Danietus da	
Grupo de edad	Grupo de edad Cualitativa	alitativa	Macho = 2 - 7 años	Nominal		1	Registro de datos	
		Adulto	Hembra = > de 4 años		Nº	3	uaius	
			Macho = > de 7 años					
Sexo	Cualitativa	Hembra	Hembra	Nominal	Nº	4	Registro de datos	
3670	Gualitativa	Macho Macho	Macho		Nº	6		

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Área de Estudio

El estudio se realizó en el Centro de Rescate Amazónico (CREA) que cuenta con 4 instalaciones descritas como áreas de preliberación y destete. Tres de las instalaciones se ubican en la carretera Iquitos – Nauta: 1) CREA en el Km 4.5 en las coordenadas 686316.20 m E y 9577919.23 m S, 2) Granja Cuatro en el Km 4, en las coordenadas 686309.25 m E y 9577732.52 m S, 3) Fundo Furia en el KM 6, en las coordenadas 684783.20 m E y 9576246.71 m S. Y la 4 es Pilpintuwuasi que se ubica al margen derecho del río Nanay en 690667.00 m E y 9590341.00 m S (Figura 1).



Figura 1. Ubicación de las cuatro zonas de estudios pertenecientes al CREA.

Fuente: Imagen © 2018 CNES / Airbus - Google Earth.

3.2. Tipo y diseño

La investigación fue de tipo cuantitativa, transversal con diseño no experimental, en el contexto de extracción de muestras para estudios de prevalencia, lo cual se trata de un estudio observacional y descriptivo.

3.3. Diseño muestral

3.3.1. Población universo

Conformada por todos los ejemplares de manatíes Amazónicos procedentes de los rescates realizado en la amazonía peruana.

3.3.2. Población de estudio

Constituida por todos los ejemplares de manatís amazónicos de las instalaciones del CREA, 10 individuos.

3.3.3. Muestra o selección de muestra

Estuvo conformada por 28 muestras de heces y sangre de 10 ejemplares rescatados existentes en el momento del estudio: 2 en CREA, 6 en Fundo Furia, 1 en Granja Cuatro y 1 en Pilpintuwasi. Los manatíes provinieron de los decomisos y labores de rescate que la institución realiza, los cuales estuvieron distribuidos en dos áreas: destete y preliberación.

3.4. Procedimiento de la recolección de datos

Desde abril a agosto del 2019, se desarrollaron muestreos para cada individuo durante cinco meses divididos en periodos semanales y mensuales, dependiendo de la disponibilidad del CREA.

Las muestras fecales y sanguíneas colectadas fueron rotuladas y clasificadas de acuerdo al grupo de edad, sexo, nombre y fecha, como se indica en la ficha de registro (Anexo N°1).

3.4.1. Manipulación y obtención de muestras

El manejo de los manatíes se realizó con apoyo del personal especializado de área de mamíferos acuáticos del CREA, participando 4 personas en la extracción del manatí, dos de ellos dentro del estanque y dos fuera de ella. Con una malla bolichera de pescar de 3 m de largo por 2 m de ancho, se procedió a extraer al manatí fuera del estanque y colocarlo sobre una camilla de espuma de 2 m de largo y 1 m de ancho para evitar lesiones por movimientos brusco del mamífero; para la manipulación del manatí se procedió a ubicar a una persona en la cabeza y otra en la aleta caudal, dos en la zona dorsal (desde la nuca hasta el pedúnculo caudal ejerciendo presión con los manos), procediendo en primer lugar a la toma de muestras fecales y seguidamente las sanguíneas. Las evaluaciones fueron realizadas en el menor tiempo posible para devolverlos al estanque con mucho cuidado evitando el estrés del animal.

3.4.2. Colecta de Muestras Fecales

a. Colecta de heces por hisopado

La obtención de las muestras fecales se realizó con la técnica del hisopado rectal, consistiendo en la introducción de un hisopo estéril humedecido con suero fisiológico por el orificio rectal, ejerciendo

movimientos rotatorios durante 20 segundos en las paredes del recto en sentido horario ⁴⁴.

Las muestras del hisopado fueron puestas dentro de frascos colectores, rotulándose con el nombre, lugar, fecha, hora y el código del individuo muestreado. Finalmente, las muestras fueron trasladadas en una caja de Tecnopor con Ice Pack hacia el laboratorio de Parasitología en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana para su examen correspondiente.

b. Colecta de heces directa

La colecta se realizó con un frasco colector de 125 ml que se ubicó directamente en la zona anal del manatí, para que las heces cayeran directamente al frasco. Las muestras así obtenidas fueron puestas dentro de una caja de Tecnopor con refrigerante e inmediatamente trasladadas al laboratorio de Parasitología para su examen respetivo. Debido a las exigencias del muestreo en este tipo de animales, se tuvo que idear esta técnica de colecta directa de heces.

3.4.3. Colecta de Muestras Sanguíneas

En este procedimiento se desinfectó adecuadamente el área de la punción con torundas humedecidas en alcohol de 70° sobre la zona cefálica de la aleta pectoral a unos 5 cm antes de la axila; alrededor de cuatro personas se encargaron de sujetar al animal para la extracción de las muestras sanguíneas según el protocolo descritos por Escobar et al. 2017 ⁴⁶.

Para la extracción de sangre se utilizaron jeringas de 20 ml con aguja número 21 modelo 0,8. Se ubicó el plexo braquial entre los huesos "radio" y "ulna", para hacer la punción en un ángulo de 90°. Al retirar la aguja se presionó con una torunda seca en el lugar de la punción por un lapso 40 segundos. Durante la extracción se realizó masajes de la aleta para favorecer la irrigación. La sangre obtenida fue puesta en tubos Vacutainer de tapa lila con EDTA para evitar la formación de coágulos.

3.5. Procedimiento y análisis de los datos

3.5.1. Procesamiento de las muestras fecales

Las muestras fueron procesadas utilizando tres métodos coproparasitológicos: método directo, método de coloración de Kinyoun y método de flotación de Willis en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana (UNAP).

a. Método directo

Este método es utilizado para el diagnóstico de parásitos intestinales al nivel mundial ³⁵. Permite identificar los quistes y trofozoítos de protozoarios, así como huevos y larvas en heces frescas ^{44, 45}.

Para realizar este método se colocó dos gotas de suero fisiológico en el centro de una lámina porta-objetos y con la ayuda de un aplicador de madera se extrajo una pisca de heces frescas y con el mismo se procedió a homogenizar la muestra,

finalmente se cubrió con una laminilla cubre-objetos y se observó al microscopio con objetivos de 10X y 40X.

b. Método de flotación de Willis

En un método de concentración o enriquecimiento de parásitos intestinales en heces. Se procedió de la siguiente manera: Se agregó 5 ml de solución sobresaturada de cloruro de sodio (CINa) en un tubo de ensayo de 10 ml y 1 gr aproximadamente de heces. Con la ayuda del aplicador de caña se homogenizó bien la mezcla, luego en una gradilla se llenó el tubo con la misma solución hasta formar en su superficie un pequeño menisco. Se cubrió con una laminilla y se dejó reposar por 15 minutos, luego le traslado la laminilla a una lámina porta-objetos con una gota de Lugol y se procedió a examinar al microscopio con los objetivos de 10X y de 40X ⁴⁴.

c. Método de coloración alcohol acido-resistente de Kinyoun

Se basa en el comportamiento acido-resistente de la cubierta de ciertos parásitos como *Isospora*, *Cyclospora* y *Cryptosporidium*, los cuales se tiñen de color rojo y destacan sobre un fondo verde o azul, dependiendo del contraste usado. Para esta coloración se usaron muestras fecales frescas sin preservar ⁴⁷.

Para el estudio se usó laminas porta-objetos limpias con las que se realizó un extendido fino en zigzag de cada hisopo o muestra fresca de heces colectadas, realizando dos muestras por cada individuo. Se dejó secar las muestras a temperatura ambiente por alrededor de una hora. Una vez secas, las muestras se fijaron con etanol por 5 minutos, luego se añadió Hidróxido de Sodio (NaOH) 1N por dos minutos más y seguidamente se lavó con agua destilada. Luego se añadió Carbol Fucsina por diez minutos. Después se decoloró con alcohol ácido al 1% hasta que las muestras quedaron totalmente decoloradas. Se lavaron con agua destilada por dos minutos más. Seguidamente se colorearon las muestras con azul de metileno por dos minutos, finalmente se lavaron con agua destilada dejando secar a temperatura ambiente. La observación en el microscopio fue con objetivo de 100X y aceite inmersión 44.

3.5.2. Procesamiento de muestras sanguíneas

Las muestras sanguíneas fueron procesadas utilizando el método directo o en fresco y el frotis sanguíneo con coloración de Giemsa.

a. Método directo o en fresco

Permite reconocer formas móviles de parásitos en sangre circulantes. En el estudio se mezcló una gota de sangre con una gota de suero fisiológico en una lámina porta-objetos y luego se cubrió la mezcla con una laminilla para ser observada al microscopio con objetivo de 40X ^{44, 46}.

b. Frotis sanguíneo

Se procedió a colocar una gota de sangre (2 µl aproximadamente) en la cuarta parte del portaobjeto y con otra lámina en un ángulo de 45º aproximadamente se realizó el extendido procurando que este tenga las siguientes partes: cabeza, cuerpo y cola, esta última parte debe presentarse como una capa fina que permitirá una mejor observación microscópica de los parásitos ⁴⁶.

c. Coloración de Giemsa

Para ejecutar la coloración se dejó secar los extendidos sanguíneos durante 15 minutos, después se colocó sobre la caja de tinción y se cubrió con etanol por tres segundos. Para fijar la muestra en el portaobjetos, la solución Giemsa al 5% preparada con agua destilada o solución amortiguadora en la proporción 1:1, se cubrió la lámina con la solución dejándose reposar por 10 minutos luego se lavó la lámina con agua destilada dejando secar a temperatura ambiente, el procedimiento culmina con la observación microscópica con objetivo de 100X utilizando previamente aceite de inmersión 48.

3.7. Aspectos Éticos

La manipulación del manatí para la extracción de muestras fue realizada siguiendo un protocolo establecido por el Centro de Rescate Amazónico CREA, de esta forma se evitó lesiones físicas y trastornos fisiológicos en el manatí como raspones o golpes que podrían haber sido ocasionados por las redes al momento de sacarlos del estanque, así también disminuir cuadros extremos de estrés por el tiempo de manipulación fuera de agua, siendo el tiempo máximo de 1 hora manteniendo húmeda la piel del manatí. El protocolo también sirve para evitar accidentes que ocasionan lesiones en las personas que lo manipulan producidos por los movimientos bruscos del animal. Las colectas fecales y de sangre se realizaron con un previo adiestramiento, siendo dirigido por profesionales a cargo, como veterinarios y biólogos de la institución, de esta forma se aseguró que el procedimiento se lleve a cabo con los regímenes establecidos.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Enteroparásitos Identificados en Trichechus inunguis en el CREA.

De las muestras fecales obtenidas de 10 ejemplares de *Trichechus inunguis* "manatí amazónicos" en las instalaciones del CREA, se identificaron los siguientes protozoos de los géneros: *Entamoeba, Eimeria, Cryptosporidium y Cyclospora;* helmintos de las familias: Ascarididae, Oxyuridae, y Ancylostomatidae, 3 nematodos y un Trematodo no identificados. Cabe resaltar que no se pudieron identificar a nivel de género o especie, debido a que solo se observaron quistes y huevos de estos parásitos en heces frescas, representándolos como Eimeria 1, Eimeria 2, Eimeria 3, nematodo 1, nematodo 2, nematodo 3 y Trematodo. (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación Taxonómica de Enteroparásitos identificados en *Trichechus inunguis,* en el CREA, Loreto - Perú.

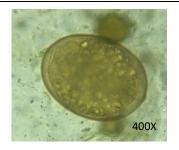
Sub reino	Phylum	Clase	Orden	Familia	Género
	Sarcomastigophora	Archamoebae	Mastigamoebida	Entamoebidae	Entamoeba
	Miozoa	Conoidasida	Eucoccidiorida	Cryptosporidiidae	Cryptosporidium
Protozoa				Eimeriidae	Cyclospora
1 101020a					Eimeria 1
					Eimeria 2
					Eimeria 3
	Nematoda	Secernetea	Ascaridida	Ascarididae 1	
				Ascarididae 2	
			Oxyurida	Oxyuridae	
Metazoa			Strongylida	Ancylostomatidae	
Ivietazoa			Nematodo 1		Sin identificar
			Nematodo 2		Sin identificar
			Nematodo 3		Sin identificar
	Platyhelminthes	Trematoda			Sin identificar

Tabla 3. Identificación de quistes y huevos de enteroparásitos identificados en heces de *Trichechus inunguis,* en el CREA, Loreto – Perú.

		PROTOZOA	
Sarcomas			picomplexa
Entan	noeba	Eimeria 1	Eimeria 2
400X	Quiste esférico de 15 a 20 µm., pared del	400X	400X
	quiste	Ooquiste oval de 20	Ooquiste oval de
definida y lis	a, citoplasma	a 30 µm., pared del	20 a 30 μm., de
granuloso con	varios núcleos.	oquiste rugosa, un	pared lisa con un
		esporoblasto	esporoblasto
		granuloso.	granuloso.
Phylum Ap	icomplexa		picomplexa
Eime	eria 3	Cryptosporidium	Cyclospora
400x esporoblasto granulo	Ooquistes esférica de pared lisa de 10 a 15 µm con un oso.	1000x Ooquiste esférico de 4 a 6 μm., con 4 esporozoitos de color fucsia con tinción Kinyoun.	1000x Ooquiste esférico de 8 a 10 μm., un esporoblasto de color fucsia con tinción Kinyoun.

METAZOA NEMATODA Ascarididae 1 Ascarididae 2 Oxyuridae Ancylostomatidae 400X 400X 400X 400X Huevo esférico Huevo Huevo esférico Huevo ovoide, de 50 a oval de 60 a 70 µm, alargado, de 50 a de 60 a 75 µm 60 µm, color marrón incoloro. 70 µm, incoloro, con de color marrón, claro, alargado, membrana membrana ligeramente aplanado membranas externa externa rugosa, delgadas, célula un lado, ligeramente huevo en proceso intermedia parcialmente rugosa, embrionado. de segmentación. interna delgada, intermedia masa gruesa la protoplasmática У interna delgada que envuelve a segmentación. masa protoplasmática granulosa. Nematodo 1 Nematodo 2 Nematodo 3 400X 400X Huevo ovoide, de 70 a 80 µm, Huevo esférico, de 60 a Huevo elipsoidal, incoloro, membrana externa 75 µm, color marrón grisáceo, de 60 a delgada lisa, intermedia ámbar, membranas μm., gruesa, interna delgada, membranas ligeramente gruesas, parcialmente embrionado. protoplasmática envolventes lisas, masa abundante y granulosa. proceso de embrionación.

TREMATODA



Huevo oval, marrón claro, de 100 a 120 µm, membrana gruesa y lisa, operculado en un extremo, en el extremo opuesto un pequeño botón, con embrión en formación.

4.2. Prevalencia de enteroparásitos en *Trichechus inunguis* "manatí amazónico" según las áreas de cautividad del CREA.

La prevalencia de enteroparásitos en la muestra de estudio fue del 100%. Entre los más prevalentes se encontraron ooquistes de *Cryptosporidium* con 30%, *Cyclospora* con 80% y Eimeria 3 con 100%. Los menos prevalentes fueron ooquiste de Eimeria 1, huevo de trematodo y los huevos de nematodos registrados. Según las áreas de cautividad, en los manatíes de preliberación se encontraron más parasitados, alcanzando ooquistes de Cyclospora y Eimeria 3 (60% y 80%) las mayores prevalencias (Tabla 4).

Según la distribución Chi Cuadrado, estadísticamente la prevalencia de parásitos encontrados fue independiente de las áreas de preliberación y destete ($X^2 = 10.208$, df = 13, p = 0.6768).

Tabla 4. Prevalencia de enteroparásitos en Trichechus inunguis, según área de destete y preliberación en el CREA, Loreto - Perú.

ENTEROPARÁSITOS	Des	stete	Prelib	eración	To	otal
ENTEROPARASITOS	Nº	%	Nο	%	Nο	%
PROTOZOA						
Cryptosporidium	2	20	1	10	3	30
Cyclospora	2	20	6	60	8	80
Eimeria 1	1	10	1	10	2	20
Eimeria 2	0	0	3	30	3	30
Eimeria 3	2	20	8	80	10	100
Entamoeba	0	0	2	20	2	20
METAZOA						
Ascarididae 1	0	0	2	20	2	20
Ascarididae 2	0	0	1	10	1	10
Oxyuridae	0	0	2	20	2	20
Ancylostomatidae	0	0	1	10	1	10
Nematodo 1	0	0	1	10	1	10
Nematodo 2	0	0	2	20	2	20
Nematodo 3	0	0	1	10	1	10
Trematodo	1	10	1	10	2	20
$(X^2 = 10.208, df = 13, p = 1)$	0.6768).				

4.3. Prevalencia de enteroparásitos en Trichechus inunguis manatí amazónico según edad y sexo, Loreto - Perú.

Según el grupo de edad, la prevalencia de enteroparásitos fue mayor en los juveniles, siendo ooquistes de Cyclospora y Eimeria 3 los más prevalentes con 40% cada uno. Los demás enteroparásitos fueron registrados tanto en crías y adultos con menores frecuencias. De acuerdo al sexo, los machos estuvieron relativamente más infectados (Tabla 5).

Según la distribución Chi Cuadrado, estadísticamente la prevalencia de enteroparásitos encontrados fue independiente del grupo de edad y sexo ($X^2 = 9.2593$, df = 13, p = 0.7531).

Tabla 5. Prevalencia de enteroparásitos en *Trichechus inunguis*, según grupo de edad y sexo en el CREA, Loreto - Perú.

		G	RUPO	DE E	EDAD			,	SEXO	
ENTERO-PARÁSITOS	CR	ΙA	JUVE	ENIL	ADI	JLTO	HEI	MBRA	MA	CHO
	Nº	%	Nο	%	Nο	%	Nο	%	Nο	%
PROTOZOA										
Cryptosporidium	1	10	1	10	1	10	2	20	1	10
Cyclospora	2	20	4	40	2	20	3	30	5	50
Eimeria 1	0	0	0	0	2	20	1	10	1	10
Eimeria 2	0	0	1	10	2	30	1	10	2	20
Eimeria 3	3	30	4	40	3	30	4	40	6	60
Entamoeba	1	10	0	0	1	10	2	20	0	0
METAZOA										
Ascarididae 1	0	0	2	20	0	0	0	0	2	20
Ascarididae 2	0	0	1	10	0	0	0	0	1	10
Oxyuridae	0	0	2	20	0	0	1	10	1	10
Ancylostomatidae	1	10	0	0	0	0	1	10	0	0
Nematodo 1	0	0	1	10	0	0	0	0	1	10
Nematodo 2	0	0	2	20	0	0	1	10	1	10
Nematodo 3	1	0	0	0	0	0	1	10	0	0
Trematodo	1	10	1	10	0	0	1	10	1	10

 $(X^2 = 9.2593, df = 13, p = 0.7531)$

4.4. Prevalencia de enteroparásitos en *Trichechus inunguis* manatí amazónico según las instalaciones del CREA.

De acuerdo a las instalaciones del CREA, la prevalencia de enteroparásitos fue mayor en Fundo Furia, predominando ooquiste de Cyclospora y Eimeria 3 con 50% y 60%, respectivamente. Sin embargo, en Pilpintuwasi solo se registró a ooquiste de Eimeria 3. (Tabla 6).

Según la distribución Chi Cuadrado, estadísticamente la prevalecía de enteroparásitos encontrados fue independiente en relación a las 4 instalaciones del CREA ($X^2 = 23.271$, df = 39, p = 0.9784).

Tabla 6. Prevalencia de enteroparásitos en *Trichechus inunguis*, según las instalaciones del CREA, Loreto - Perú.

-				IN	STALA	ACIONE	S del C	REA		
ENTEROPARÁSITOS	CRE	Α	F. Fl	JRIA	GRA	NJA 4	PILPII	NTUWA	ASI TO	TAL
	N٥	%	Ν°	%	Ν°	%	Nο	%	Nº	%
PROTOZOA										
Cryptosporidium	2	20	0	0	1	10	0	0	3	30
Cyclospora	2	20	5	50	1	10	0	0	8	80
Eimeria 1	1	10	0	0	1	10	0	0	2	20
Eimeria 2	0	0	2	20	1	10	0	0	3	30
Eimeria 3	2	20	6	60	1	10	1	10	10	100
Entamoeba	0	0	1	10	1	10	0	0	2	20
METAZOA										
Ascárididae 1	0	0	2	20	0	0	0	0	2	20
Ascárididae 2	0	0	1	10	0	0	0	0	1	10
Oxyuridae	0	0	2	20	0	0	0	0	2	20
Ancylostomatidae	0	0	1	10	0	0	0	0	1	10
Nematodo 1	0	0	1	10	0	0	0	0	1	10
Nematodo 2	0	0	2	20	0	0	0	0	2	20
Nematodo 3	0	0	1	10	0	0	0	0	1	10
Trematodo	1	10	1	10	0	0	0	0	2	20

 $(X^2 = 23.271, df = 39, p = 0.9784).$

4.5. Prevalencia de hemoparásitos en *Trichechus inunguis* manatí amazónico según áreas de cautividad del CREA.

En este estudio no se registraron hemoparásitos en *Trichechus inunguis* procedentes del Centro de Rescate Amazónico (CREA).

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

El presente estudio comprende unos de los pocos reportes de enteroparásitos en *Trichechus inunguis* "manatí amazónico" para el Perú. De la muestra conformada por 10 ejemplares en las instalaciones del CREA, se identificaron distintos ooquistes de coccidios de los géneros Eimeria, Cryptosporidium y Cyclospora, quistes de Entamoeba, huevos de nematodos como Oxiúridos, Ascáridos y otros no identificados. La mayor prevalencia de enteroparásitos en la muestra de estudio, corresponden a Eimeria 3 con 100% y Cyclospora con 80%. Sin embargo, en un estudio realizado en el CREA del año 2015 ⁷, utilizando el método de hisopado rectal para realizar frotices fecales teñidos con Ziehl-Neelsen modificado, registraron una prevalencia de 12.5% (1/8) para *Crytosporidium sp.* Así mismo, en muestras provenientes de manatíes caribeños de vida libre y en cautiverio en Brasil ² reportaron 4.34% (5/115) con la tinción de Kinyoun.

Existen diversos factores que pueden afectar la presencia de enteroparásitos en manatíes en cautiverio e incluso de vida libre, como la contaminación del agua, el estado inmunitario del animal y el método de diagnóstico para la búsqueda de ooquistes de *Cryptosporidium sp*; por lo que se recomienda el uso de la tinción de Kinyoun, para hacer posible la detección de este coccidio 2,7.

En este estudio se utilizaron, además de la tinción Kinyoun, el método directo y el de flotación de Willis para las muestras fecales en busca de enteroparásitos. Teniendo en cuenta las áreas de cautividad de los manatíes, los ooquistes de *Eimeria* 3 fueron registrados en todos los individuos (100%)

por grupo de edad y sexo de todas las áreas del CREA; sin embargo, los quistes de Entamoeba fueron registrados en el 20%, en una cría y un adulto, hembra.

En un estudio realizado en Colombia en *Trichechus manatus manatus* en estado silvestre, registraron menor frecuencia de ooquistes de Eimeria (42.4%) y quistes de Entamoeba. (14%)¹². En el presente estudio se registró 3 tipos de Eimeria (1, 2 y 3), que de acuerdo a sus características morfológicas, presentan similitudes a las observadas en Eimerias de manatíes antillanos en Colombia, donde reconocen dos tipos: *Eimeria nodulosa y Eimeria manatus* (Tipo A y B) ¹¹; en las muestras fecales obtenidas de *Trichechus manatus latirostris* en Florida, observaron los mismos géneros de Eimeria, siendo *E. manatus* (83%) y *E. nodulosa* (50%)¹³; estos resultados determinan que el género *Eimeria* es uno de los parásitos de alta prevalencia en especies de sirénidos.

En relación a los otros enteroparásitos se registraron prevalencias bajas, que van del 10% al 20% de nematodos como huevos de Ascárididae, Ancylostomatidae, Oxyuridae y tres más que no se identificaron y un trematodo (20%). registrando mayor diversidad de huevos de Nematodos, así como Ascárididos con baja diversidad. lo cual nos indica la presencia de estos helmintos tanto en manatíes caribeños como en el amazónico. En un estudio realizado en sirénidos por Bando *et al* 2014¹¹ en 67 muestras fecales de *Trichechus manatus* silvestres y cautivos registraron al trematodo *Chiorchis fabaceus* con 43% y *Chiorchis groschafti* con 33% y al nematodo *Heterocheiulus tunicatus* con 38%, mientras que Velez *et al* 2019¹³ en

Colombia, registraron a *Chiorchis fabaceus* con 33%. Así también, en México (Hernández A. *et al.* 2017¹⁴) registraron nematodos y trematodos con mayor prevalencia, entre los trematodos estuvieron *Chiorchis fabaceus* con 66.6%, *Heterocheilus tunicatus con* 44.4%, *Pulmonicola cochleotrema* con 22.7%, Como se puede observar, que en este estudio la falta de información científica respecto a los helmintos encontrados en este manatí dificultó su identificación, las veces que el estudio se basó en la presencia de huevos de estos parásitos.

De todas las instalaciones del CREA estudiadas, la que mostró mayor prevalencia de enteroparásitos fue Fundo Furia. Cabe indicar que esta instalación corresponde al área de preliberación de los manatíes, que presenta condiciones seminaturales, por lo cual se asume que hay mayor presencia de los parásitos intestinales.

Referente a los enteroparásitos por edad y sexo, se pudo observar que estos se encontraron tanto en las crías, juveniles y adultos, así en machos y hembras, lo que concuerda estadísticamente no existe diferencia significativa.

Las muestras sanguíneas fueron examinadas por observación directa en fresco y frotis coloreado con Giemsa, sin resultados positivos; la búsqueda de hemoparásitos en este estudio surgió del comentario de la posible observación de un hemoparásito por uno de los trabajadores del CREA en el área de manejo de manatíes, así como la ausencia de investigaciones respecto a hemoparásitos en *Trichechus inunguis* "manatí amazónico", lo cual nos incentivó a incluirlo dentro de este estudio.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

En el estudio realizado para buscar parásitos en manatíes amazónicos *Trichechus inunguis*, se concluye:

- Los enteroparásitos registrados fueron: ooquistes de Cryptosporidium,
 Cyclospora y Eimeria 1, 2 y 3, quistes de Entamoeba, huevos de Ascáridos 1 y 2, Oxiurido, Ancylostomatidae, Nematodo 1, 2 y 3, y huevo de Trematodo.
- Los enteroparásitos más prevalentes fueron: Eimeria 3 con 100% y
 Cyclospora con 80%.
- En las áreas de cautividad, preliberación presentó mayor prevalencia de enteroparásitos.
- En las instalaciones del CREA, Fundo Furia presentó mayor prevalencia de enteroparásitos.
- Estadísticamente, no se registró diferencia significativa entre la prevalencia de enteroparásitos y las áreas de cautividad, el grupo de edad y sexo, y las instalaciones del CREA.
- No se encontraron hemoparásitos en las muestras colectadas de los manatíes en cautiverio del Centro de Rescate Amazónico (CREA).

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- Se debería enfatizar los estudios moleculares en parásitos de mamíferos acuáticos, lo cual ayudara a la identificación de huevos de Ascáridos, Nematos y Trematodos de nuestro presente estudio.
- Se debe realizar con mayor frecuencia las investigaciones sobre enteroparásitos y hemoparásitos en manatíes en sus áreas de cautividad y en medio natural, por grupos de edad y sexo.
- Implementar nuevas técnicas de captura y manejo de manatíes para facilitar la colecta de muestras fecales y sanguíneas en futuras investigaciones.

CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN.

- Velásquez LJ & Cárdenas RG. Influencia de la dieta alimentaria sobre el crecimiento de *Trichechus inunguis* "manatí amazónico" durante su rehabilitación en cautiverio, Iquitos - Perú, 2012. Tesis para optar el grado académico de Magister en Ecología y Desarrollo. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. 2015.
- Gómez JC, Alves LC, Dos Santos D, De Oliveira F, Carrasco CV,
 Vergara JE, Da Glória MA, Alves AM, Marmontel M. Ocurrencia de Cryptosporidium spp. em Manati amazônico (Trichechus inunguis, Natterer, 1883). Biotemas, 2007, 20 (3): 63-66. ISSN 0103 – 1643.
- Mendoza, PJ. Evaluación del estado nutricional del manatí amazónico (*Trichechus inunguis*) lactante alimentado con cuatro diferentes dietas no convencionales. Universidad Nacional La Molina. Proyecto UNALM-FONDECYT 275. 2017.
- 4. **CITES**. Convención Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre, 2019, Disponible en https://cites.org/esp/node/25231.
- IUCN. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y Recursos Naturales, 2019, Disponible en https://www.iucnredlist.org/species/22102/43793736
- Morales B, Castelblanco N & Olivera D. Estandarización de protocolos para la atención de crías abandonadas, rehabilitación y necropsias de manatí, Ficha Técnica, 2011, CONANP. 75 + Anexos I y II.

- 7. Bolaños K & Carlos N. Presencia de Cryptosporidium sp. en el Manatí amazónico (Trichechus inunguis) en un centro de rescate en la ciudad de Iquitos, Perú. MEM. CONF. INTERNA MED. APROVECH. FAUNA SILV. EXÓT. CONV. 2015, 11(2): 5-10.
- 8. **Geraci JR & St Aubin DJ.** Effects of parasites on marine mammals. *International Journal for Parasitology*, 1987, 17(2): 407-414. Disponible en: https://doi.org/10.1016/0020-7519(87)90116-0
- Bando M, Larkin IV, Wright SD, Greiner EC. Diagnostic stages of the parasites of the Florida manatee, *Trichechus manatus latirostris. J. Parasitol*, 2014, 100(1): 133–138. Disponible en: www.jstor.org/stable/24624688
- Vélez J, Hirzmann J, Gonzalez K, Lange K, Seipp A, Gärtner U,
 Taubert A, Caballero S, Hermosilla C. Parasite fauna of wild Antillean manatees (*Trichechus manatus manatus*) of the Andean Region,
 Colombia, Parasites & Vectors. 2019, 12(183): 1 9.
- 11. Vélez J, Hirzmann J, Lange MK, Chaparro-Gutiérrez JJ, Taubert A, Hermosilla C. Occurrence of endoparasites in wild Antillean manatees (*Trichechus manatus manatus*) in Colombia. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife, 2018, 7(1): 54–57.
- 12. Hernández A, Olivera LD, Morales B. Parásitos helmintos en heces de manatí Antillano *Trichechus manatus manatus* (Sirenia: Trichechidae) en México: Golfo de México y Caribe. Revista del departamento de Hidrobiología. ResearchGate. 2017. 27(1): 39-44.

- 13. Arévalo K, Vélez J, Hirzmann J, Lange M, Caballero S, Chaparro J, Taubert A, Hermosilla C. Nuevas Amenazas para la conservación de Sirénidos en Colombia: Presencia de Parásitos potencialmente zoonóticos en Manatíes silvestres. Poster, XII Congreso de la sociedad latinoamericana de especialistas de mamíferos acuáticos. 2018. DOI 10.13140/RG 2.2.10872.08965.
- 14. Mathews P, Perea N, Mathews JP, Biffi C, Malheiros AF. García CR. Detección por *Toxoplasma gondii* en manatíes (*Trichechus inunguis*) de la Amazonia peruana, Colombia, Acta Biológica Colombiana, 2013. 18(1): 211-216.
- Veron G, Patterson BD, Reeves R. Global diversity of mammals (Mammalia) in freshwater, In Freshwater Animal Diversity Assessment.
 Hydrobiology, 2008. 595(1):607-617. DOI 10.1007/s10750-007-9122-1.
- Tantaleán M. Helmintos parásitos en animales silvestres del Perú.
 Nuevos reportes, Peruvian journal of parasitology. 2016, 24(1): 30-37,
 ISSN 2311-4533.
- Carmo T. Hematologia e bioquímica sanguínea do peixe-boi da Amazônia *Trichechus inunguis* (Natterer, 1883), Estudio de Maestría.
 Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. 2009.
- Marsh H, O'Shea T, Reynolds J. Ecology and conservation of the Sirenia: dugongs and manatees, Cambridge University Press, 2012, ISBN 978.0.521.88828.8

- 19. Silva J, Montes D, Elías R. Conocimientos, conservación y avistamiento del manatí amazónico (*Trichechus inunguis*), según los pobladores de la cuenca del río Ucayali (Loreto, Perú), Universidad Peruana Cayetano Heredia, Salud tecnol.vet., 2014, 2(1):32-38.
- 20. Hidalgo JJ. Evaluación preliminar del "manatí" amazónico *Trichechus inunguis* (Natterer, 1883) en el rio Lagastococha Zona Reservada de Güeppí, Loreto Perú, Informe Técnico, Ministerio del Ambiente, SERNANP, Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. 2010.
- 21. Arriaga S, Contreras W. El manatí (*Trichechus manatus*) en Tabasco, Informe Técnico, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Biológicas, 2008, 92 p.
- 22. PUCE. Trichechus inunguis Manatí Amazónico Naterer (1883), Mamíferos del Ecuador, BioWEB, disponible en: https://bioweb.bio/faunaweb/mammaliaweb/FichaEspecie/Trichechus% 20 inunguis.
- 23. Jiménez I. Los manatíes del río San Juan y los Canales de Tortuguero: ecología y conservación, Amigos de la Tierra, San José, Costa Rica, 2000, 120 pag.
- 24. **Husar SL.** *Trichechus inunguis*. American Society of Mammologists. *Mammalian Species*, 1977, (72): 1 4

- 25. **Timm RM, Albuja L & Clauson BK**. Ecology, Distribution, Harvest and Conservation of the Amazonian Manatee, *Trichechus inunguis*, in Ecuador. *Biotropica*, 1986. 18(2): 150-156.
- 26. Kendall S. Orozco DL. Torres CX. Los Manatíes del Amazonas. Fundación Omacha, Bogotá, Colombia, 2004, 28 pag. Disponible en: http://omacha.org/wp-content/uploads/2019/06/los-manaties-del-amazonas.pdf
- 27. **Bertram GCL & Bertram CKR.** The Modern Sirenia: Their Distribution and Status. Biological Journal of the Linnean Society, 1973, 5(4): 297-338. https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1973.tb00708.x
- 28. **Domning DP.** Distribution and status of manatees *Trichechus* spp. near the mouth of the Amazon River, Brazil. 1981. *Biol. Conserv.* 19: 85-97. Disponible en: https://doi.org/10.1016/0006-3207(81)90044-6
- 29. Holguín VE. Impacto de las variaciones Geofísicas y Fisico-químicas sobre la actividad motriz y las conductas del manatí *Trichechus manatus manatus*. México, Tesis para obtener el grado de Doctor en Neuroetología, Universidad Veracruzana, Instituto de Neuroetología, 2015.
- Long PL, Joyner LP. Problems in the Identification of Species of Eimeria. Department of Poultry Science, University of Georgia. Central Veterinary Laboratory, M.A.F.F. England. Society of Protozoologists. 1984. 31(4): 535-541.

- 31. Camareno E, Chávez A, Pinedo R, Leyva V. Prevalencia de *Eimeria spp* en Alpacas de dos comunidades del distrito de Macusani, Puno, Perú. Revista Inv Vet. 2016. 27 (3): 573-580.
- 32. Del Cacho Malo E. Coccidiosis: La enfermedad, consecuencia y tratamiento, España, Revista Congreso Científico de Avicultura, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.
- Botero J. Montoya M. Barguil JI. Castaño A. Brote por Cyclospora cayetanensis en Medellin, Colombia, Revista de Salud Pública. 2006, 8
 (3):258-268.
- Chacín L. Barrios F. Cyclospora cayetanensis: biología, distribución ambiental y transferencia, Venezuela, Revista Biomédica, 2011, 31:132-143.
- 35. **Atias A.** Parasitología Médica. Quinta Reimpresión, Chile, Publicaciones Mediterráneas, 2007, ISBN: 956-220-155-4.
- 36. Sánchez R, Romero J, Rossanigo C. Epidemiologia y control de coccidios y *Cryptosporidium*, Universidad Nacional de la Plata, Agropecuaria hemisferio sur SRL. 2013, Capítulo 16: 357-380, DOI: 10.13140/RG.2.1.2749.8485.
- Fayer R, Ungar BL. Cryptosporidium spp and Criptosporidiosis.
 Microbiological Reviews, American Society for Microbiology, 1986, 50
 (4): 458-483.

- Rodríguez JG, Olivares JL, Cortés AS. Taxonomía y términos más utilizados en Parasitaria Veterinaria. México, Artículo taxonómico. 2006.
 12-106.
- 39. **Manual MSD versión para profesionales.** Ciclo vital de *Ascaris lumbricoides*, Página web: Safer Healthier People CDC, Año de consulta 2022, Disponible en: https://www.msdmanuals.com/es-pe/professional/multimedia/image/ciclo-vital-de-ascaris-lumbricoides
- 40. Manual MSD versión para profesionales. Ciclo vital de Enterovius, Página web: Safer Healthier People CDC, Año de consulta 2022, Disponible en: https://www.msdmanuals.com/es/professional/multimedia/image/v1013
 745 es
- Calderón L. Caracterización fenética y genética de individuos del género Fasciola Linnaeus, 1758 (Trematoda: Fasciolidae) de México. Tesis doctoral. 2017. 5-143.
- 42. **Pearson RD.** Manual MSD versión para profesionales: Faciolopsiasis, Página web: Safer Healthier People CDC.2020. Disponible en: https://www.msdmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/trematodos-duelas/fasciolopsiasis?query=trematodos
- 43. Rodríguez R, Cob-Galera LA, Domínguez JL. Hemoparásitos en ovinos, caninos y equinos, Diagnosticas en el laboratorio de parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la

- Universidad Autónoma de Yucatán (1984-1999), México, Revista Biomédica, 2000, 11: 277-282.
- 44. Beltrán M, Otárola J, & Tarqui K. Manual de Procedimientos de laboratorio para el Diagnostico de los Parásitos Intestinales del Hombre, Serie de Normas Técnicas N° 37; Lima – Perú; Ministerio de Salud, MPR-CNSP-015. 2014.
- 45. **Espinoza M, Lee D & Sigler L.** Manejo y Rehabilitación del Manatí Amazónico (*Trichechus inunguis*) en Cautiverio en el Perú, Ciencia Amazónica, 2011. 1 (2): 104-113. DOI: 10.22386/ca.v1i2.11
- 46. **Escobar C, Barrero C, & Gómez S**. Técnicas de análisis Hematológicos. Edit. Síntesis, S.A. España, 2017. 260 pag. ISBN: 978-84-9171-027-1
- 47. **Morales B, Castelblanco N & Olivera LD.** Estandarización de Protocolos para la atención de crías abandonadas, rehabilitación y necropsias del Manatí. México, Ficha Técnica, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, 2011, 63 76 pag.
- 48. **Gutiérrez SC, Arróspide N.** Manual de procesamientos de laboratorio para el diagnóstico de Malaria, Lima Perú, Serie de Normas Técnicas N.º 39, Instituto Nacional de Salud (INS), 2003. MPR-CNSP-017.

ANEXOS

Anexo 1. Ficha de datos, muestreo parasitológico y hematológico de Trichechus inunguis

ı. <u>İ</u>	DATOS GENERALES	
Fech	cha: Hora: _	
Nom	mbre del Manatí:	
Luga	gar de muestreo:	
Sexo	xo: Edad:	
II. <u>I</u>	MUESTRAS FECALES	
Nom	mbre del colector:	
Núm	mero de hisopos Cantidad aprox.	de heces (gr)
Obse	servaciones del Manatí (comportamientos extraños):	
	Características físicas de la muestra de heces	
	lor:	
Olor:	or:	
Cons	nsistencia:	
Otros	os:	
III. <u>I</u>	MUESTRAS SANGUÍNEAS	
Nom	mbre del colector:	
Colo	lor de la tapa del tubo utilizado:	
Num	mero de tubos: Cantidad aprox. de	sangre (ml):
3.1.	. Características físicas de la muestra	
Colo	lor:	
Pres	esencia de coágulos:	
Otros	os:	

Anexo 2. Protocolo de manejo para muestreo de manatíes





Figura 2: Método de redeo para arrinconar al Manatí Figura 3: Manatí siendo transportado a la orilla.



Figura 4: Extracción de manatí hacia la orilla.



Figura 5: Manatí puesto en una camilla de espuma húmeda.



Figura 6: Toma de medidas longitudinales y transversales



Figura 7: Toma de muestra fecal.

Anexo 3. Técnica de Extracción sanguínea



Figura 8: Toma de muestra sanguínea.



Figura 9: Tubo de extracción de sangre.

Anexo 4. Preparación de las muestras sanguíneas



Figura 10: Tubos de extracción de sangres al vacío rotulados y Suero fisiológico para la observación directa.

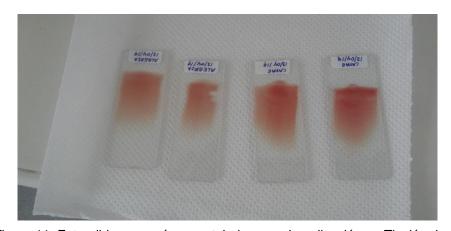


Figura 11: Extendidos sanguíneos rotulados para la aplicación en Tinción de Giemsa.

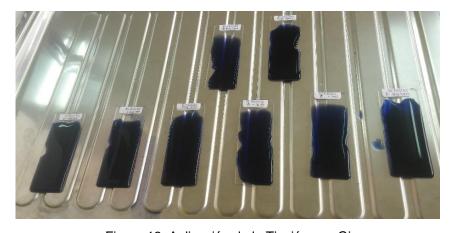


Figura 12: Aplicación de la Tinción con Giemsa.

Anexo 5. Preparación de las muestras fecales para la tinción de Kinyoun



Figura 13: Materiales para la aplicación de Tinción de Kinyoun.



Figura 14: Extendidos fecales rotulados para la Tinción de Kinyoun.



Figura 15: Láminas coloreadas con la Tinción de Kinyoun.

Anexo 6. Responsables del proyecto de investigación



Figura 16: Bach. Jim Ruiz Pezo.



Figura 17: Bach. Franco Ivan Macedo Tafur.