UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE HEMOPARÁSITOS PROTOZOARIOS EN CROCODILIOS (*Caiman sp.* y *Crocodylus moreletii*) DEL CENTRO DE REHABILITACIÓN DE FAUNA SILVESTRE ARCAS, FLORES, PETÉN, EN ABRIL DEL AÑO 2017

JOHANNES WEITNAUER ARAUJO

Médico Veterinario

GUATEMALA, MARZO DE 2019

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE HEMOPARÁSITOS PROTOZOARIOS EN CROCODILIOS (*Caiman sp.* y *Crocodylus moreletii*) DEL CENTRO DE REHABILITACIÓN DE FAUNA SILVESTRE ARCAS, FLORES, PETÉN, EN ABRIL DEL AÑO 2017

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

JOHANNES WEITNAUER ARAUJO

Al conferírsele el título profesional de

Médico Veterinario

En el grado de licenciado

GUATEMALA, MARZO DE 2019

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO	M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
SECRETARIO	Dr. Hugo René Pérez Noriega
VOCAL I	M.Sc Juan José Prem González
VOCAL II	Lic. Zoot. Edgar Amílcar García Pimentel
VOCAL III	Lic. Zoot. Alex Rafael Salazar Melgar
VOCAL IV	Br. Yasmin Adalí Sian Gamboa
VOCAL V	Br. Maria Fernanda Amézquita Estévez

ASESORES

M.A. LUDWIG ESTUARDO FIGUEROA HERNÁNDEZ

M.V. ALEJANDRO JOSÉ HUN MARTÍNEZ

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE HEMOPARÁSITOS PROTOZOARIOS EN CROCODILIOS (*Caiman sp.* y *Crocodylus moreletii*) DEL CENTRO DE REHABILITACIÓN DE FAUNA SILVESTRE ARCAS, FLORES, PETÉN, EN ABRIL DEL AÑO 2017.

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICO VETERINARIO

ACTO QUE DEDICO

A DIOS: Por iluminar mi camino y no dejarme cegar por los obstáculos. Por ser la voz en mi interior que me exhorta a nunca rendirme. Por llenarme de fe y fortaleza en todo momento. Sin Tu presencia no podría mantenerme de pie.

A MIS PADRES: Porque a lo largo de estos años he sido testigo de cómo han renunciado a sus sueños para que yo pudiera cumplir los míos. No hay forma alguna de agradecerles más que guiando mi vida con la fortaleza, el amor, la rectitud y los valores que con tanto esmero me inculcaron. Espero algún día poderles retribuir todo lo que me han dado. Este triunfo es más suyo que mío.

A MI HERMANA: Por ser constante e infaltable en mi vida. De vos he aprendido lecciones que quizá ni sabías que me estabas enseñando. Tu gran capacidad, esfuerzo y valentía las he admirado desde muy pequeño. Gracias por tu amor incondicional.

A MIS AMIGAS Y AMIGOS: Porque en esta lucha que vencimos juntos nunca me faltaron cuando más los necesité. Gracias por enseñarme lo valioso que es contar con una verdadera amistad como la suya. Ustedes han sido un impulso vital en mi vida.

A: Mis seres queridos que no están, porque la ausencia corporal no es suficiente para alejarlos de mí. Hoy más que nunca los tengo presentes en cada respiro que doy, y comparto con ustedes este logro que quisiera pudieran haber disfrutado conmigo aún en vida. Los llevo en mi corazón.

A: Todas y todos aquellos con igual o más capacidad que yo pero que por alguna circunstancia no han tenido las mismas oportunidades. Para que no se rindan pues todos tenemos un camino distinto por recorrer, pero el destino será siempre el mismo. Que nuestro espíritu esté lleno de luz y nunca falte la esperanza por un futuro mejor para todos.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS: Por haberme permitido culminar esta etapa de mi vida.

A MIS ASESORES: Por haberme guiado con dedicación y sabiduría durante esta investigación.

AL PERSONAL DE ARCAS: Por todo su apoyo para la ejecución de este proyecto, en especial a Alejandro Morales por compartir su conocimiento y experiencia.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA: Por ser no solo mi casa de estudios estos años, sino la base de mi formación académica y profesional.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN..... 1

II. OBJETIVOS..... 3

2.1 Objetivo general..... 3

2.2 Objetivos específicos..... 3

III. REVISIÓN DE LITERATURA..... 4

3.1 Crocodilios..... 4

3.1.1 Evolución y clasificación..... 4

3.1.2 Subfamilia Alligatorinae..... 5

3.1.3 Subfamilia Crocodylinae..... 5

3.1.3.1 Tiempo de vida..... 6

3.1.3.2 Locomoción..... 6

3.1.3.3 Comportamiento..... 7

3.1.3.4 Comportamiento durante la producción..... 8

3.2 Hemoparásitos..... 8

3.2.1 Haemogregarinas..... 9

3.2.2 Género *Hepatozoon*..... 10

3.2.3 Género *Haemogregarina*..... 11

3.2.4 Género *Harvolysus*..... 11

3.2.5 Otros protozoarios..... 12

3.2.5.1 Género *Plasmodium*..... 12

3.2.5.2 Género *Progarnia* sp..... 14

3.2.5.3 Género *Trypanosoma*..... 14

3.2.5.4 Género *Schellackia*..... 14

3.3 Técnicas de diagnóstico..... 14

3.3.1 Tinción de Giemsa..... 15

3.3.2 Tinción de Wright..... 16

IV. MATERIALES Y MÉTODOS..... 17

4.1 Materiales..... 17

4.1.1 Recursos humanos……... 14
4.1.2 Recursos de laboratorio…….. 17
4.1.3 Recursos de escritorio…..……... 17
4.1.4 Recursos de campo…….. 18
4.1.5 Recursos institucionales……. 18
4.2 Metodología……... 18
4.2.1 Área de estudio…… 18
4.2.2 Muestra……..…….. 19
4.2.3 Toma de muestra……. 19
4.2.3.1 Captura e inmovilización……. 19
4.2.3.2 Obtención e identificación de muestras sanguíneas……... 19
4.2.3.2.1 Procesamiento de las muestras..... 20
4.2.3.2.2 Observación de las muestras…..... 20
4.3 Diseño del estudio…… 20
4.4 Análisis estadístico……... 20
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN…… 21
5.1 Resultados…..…… 21
5.2 Discusión……..…… 22
VI. CONCLUSIONES…….. 25
VII. RECOMENDACIONES……. 26
VIII. RESUMEN…….. 27
SUMMARY…….. 29
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS……..... 31
X. ANEXOS…….. 34

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.
Hemoparásitos encontrados en el Centro de Rescate ARCAS, Petén……....21

I. INTRODUCCIÓN

Los crocodilios son miembros del orden Crocodylia. Éstos son encontrados en la mayoría de áreas tropicales, y son los reptiles más grandes y longevos del mundo (Mader, 1996).

En muchos ambientes de cautiverio, el estrés produce inmunosupresión en el hospedador, incrementando la posibilidad de desarrollar enfermedades clínicas causadas por endoparásitos. En otras situaciones, la infestación parasitaria podría pasar desapercibida hasta que una condición clínica patológica se manifieste (Mader, 1996).

Un gran número de parásitos pueden encontrarse en la sangre periférica de reptiles. Entre estos se incluyen haemogregarinas encontradas en las células sanguíneas. Los parásitos pueden ser intracelulares o estar libres en el plasma y todos requieren de invertebrados como hospederos intermediarios. El ciclo de vida completo de muchos de estos parásitos no es conocido, así como tampoco su patogenicidad (Mader, 1996).

Existen pocos estudios donde se refleje el estatus sanitario de los crocodilios, especialmente en referencia a hemoparásitos protozoarios, por lo que actualmente Guatemala se encuentra con un vacío de información. Algunos de los especímenes sujetos a este estudio estaban en proceso de rehabilitación para ser introducidos a vida libre. Por este motivo es de importancia conocer su condición sanitaria, ya que podrían representar un foco de infección en su hábitat natural o a futuros crocodilios que pudiesen llegar al Centro de Rescate ARCAS.

Este trabajo aporta información sobre hemoparásitos protozoarios de crocodilios encontrados en el Centro de Rehabilitación de Fauna Silvestre ARCAS,

Flores, Petén, en el año 2017, y así contribuye al conocimiento sobre su presencia en el lugar. Con esto se aportan datos que pueden servir como referencia en un futuro para próximos estudios sobre la biología de estos especímenes o los factores relacionados con su salud en el país.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Generar información sobre hemoparásitos en crocodilios del Centro de Rehabilitación de Fauna Silvestre ARCAS.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar la presencia de hemoparásitos protozoarios en crocodilios por medio de la técnica de frotis sanguíneo con tinción de Giemsa.
- Identificar el género de los hemoparásitos protozoarios encontrados en crocodilios de ARCAS.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Crocodilios

3.1.1 Evolución y clasificación

Los crocodilios son miembros del orden Crocodylia. Las 28 especies y subespecies están divididas en 4 subfamilias: Alligatorinae, Crocodylinae, Tomistominae y Gavialinae (Mader, 1996).

Los miembros del orden Crocodylia se encuentran en la mayor parte de áreas tropicales alrededor del mundo. Estos están adaptados a ambientes anfibios debido a su cuerpo aerodinámico y cola verticalmente compresionada. La posición dorsal de los ojos y las narinas, combinados con mandíbulas largas, sirven para el tipo de vida acuático y predatorio de las diferentes especies de crocodilios (Mader, 1996).

Otras adaptaciones que son únicas del orden Crocodylia son el mecanismo valvular interno de las narinas, que separa al sistema respiratorio de la cavidad oral, la habilidad de conservar energía metabólica cuando es necesario, y la armadura de osteodermos, que sólo tiene diferencias menores entre las distintas especies. La piel de la cabeza está fusionada con los huesos craneales y faciales, y por ello no hay músculos externos en la cabeza. Todos los crocodilios tienen dientes cónicos sin raíz, por lo que son cambiados periódicamente durante su vida (Huchzermeyer, 2003; Mader, 1996).

Clase:	Reptilia
Orden:	Crocodylia
Familia:	Crocodylidae
Subfamilia:	Alligatorinae
Género:	Caiman

Especie: Caiman crocodilus
Subfamilia: Crocodylinae
Género: Crocodylus
Especie: Crocodylus moreleti (Mader, 1996).

3.1.2 Subfamilia Alligatorinae

Los géneros de esta subfamilia son cuatro: *Alligator*, *Palaeosuchus*, *Melanosuchus* y *Caiman*. Las especies pertenecientes a este último genero están localizadas en el área norte de Sudamérica, Centroamérica y parte de México. Entre su hábitat se pueden mencionar pantanos, lagos y corrientes de agua dulce (Huchzermeyer, 2003; Mader, 1996).

Los caimanes difieren de los aligátores en cuanto al hocico, ya que en ellos no es tan ancho, pero sí aplanado. Su piel no es tan utilizada en el comercio de pieles debido a que en la parte ventral tienen osteodermos (Mader, 1996).

3.1.3 Subfamilia Crocodylinae

Los miembros de esta subfamilia son de medianos a largos y están presentes mundialmente en áreas tropicales. La mayoría de ellos son de agua dulce, pero algunos pueden estar en hábitats de agua salada. La forma del hocico varía de corto y achatado a largo y angosto (Mader, 1996).

Estos animales pueden diferenciarse de los caimanes y aligátores por la visibilidad del cuarto diente mandibular en cada lado. Dichos dientes encajan en depresiones y surcos entre los dientes maxilares. Todos los miembros del género Crocodylus spp. tienen glándulas linguales, ausentes en aligátores y caimanes, que les permiten mantener un balance iónico del agua en ambientes donde ésta es salada (Huchzermeyer, 2003; Mader, 1996).

3.1.3.1 Tiempo de vida

El tiempo de vida de los crocodilios está sujeto a factores tales como el cautiverio o la vida libre. En ésta última, el índice de mortalidad es variable dependiendo en la disponibilidad de comida, número de animales en el lugar, y el nivel de depredación que ocurre año tras año. En años donde la comida es abundante, la población y el índice de crecimiento aumentan. Por el contrario, cuando los recursos alimenticios son escasos, puede existir el canibalismo (Mader, 1996).

En poblaciones en cautiverio, el tiempo de vida, y los índices de crecimiento y mortalidad dependen en gran parte del ambiente y dieta que se les proporciona a los animales en cierto período de tiempo. Cambios drásticos en temperatura del aire o agua, calidad del agua, contaminación sonora y dieta, son algunos de los factores que tienen un efecto directo y podrían reducir el tiempo de vida de estos animales (Huchzermeyer, 2003; Mader, 1996).

3.1.3.2 Locomoción

Todos los crocodilios están bien adaptados tanto para ambientes acuáticos como para terrestres, aunque su cuerpo está diseñado principalmente para nadar. En el agua, las costillas se comprimen contra el cuerpo para una mayor eficiencia, pero pueden ser usadas para cambiar dirección. La cola, que tiene una gran masa muscular, es aplanada latero-lateralmente y es el principal órgano de propulsión en el agua por sus movimientos laterales (Huchzermeyer, 2003; Mader, 1996).

Las costillas de la mayoría de crocodilios son relativamente pequeñas en relación con el tamaño de su cuerpo. Sin embargo, éstas son muy efectivas para el movimiento, lo que significa que éstos animales pueden viajar hábilmente tanto en tierra como en agua. En tierra, como cuadrúpedos, los crocodilios son capaces de

caminar sin problema con sus cuatro extremidades ya que levantan completamente su cuerpo del suelo. Así mismo pueden correr de una forma similar al galope, pero lo pueden hacer únicamente por cortas distancias (Huchzermeyer, 2003; Mader, 1996).

3.1.3.3 Comportamiento

Los crocodilios en vida libre son elusivos y por tanto difíciles de estudiar. Una gran parte de lo que se sabe actualmente acerca de su comportamiento está basado en estudios y observaciones de animales cautivos en ambientes artificiales o semi-naturales. Parece ser que estos animales tienen una gran variedad de comportamientos aunque también pueden exhibir períodos extensos de inactividad (Mader, 1996).

Si bien todos los crocodilios adultos son considerados depredadores solitarios, existe un complejo grupo de comportamientos inherentes a los ectotermos. Entre los factores que pueden afectar el tipo y grado de comportamiento se encuentran: edad, tamaño, hábitat, fuente de comida, temporada del año y densidad poblacional. Comportamientos tales como la vocalización, agresividad, movimiento, dominancia/sumisión, y termorregulación están todos relacionados con los factores anteriormente mencionados (Mader, 1996).

Los movimientos dentro y fuera del agua son principalmente para buscar o evadir el calor. Este mecanismo de regulación de temperatura está bien desarrollado en crocodilios neonatos y juveniles, los cuales tienen a formar grupos sociales y no hay evidencia de dominancia social, como ocurre en animales de edad más avanzada (Mader, 1996).

Los crocodilios jóvenes prefieren esconderse debajo de cualquier cubierta disponible. En cautiverio esto causa que se apilen en grupos en las esquinas de los

recintos, lo cual, en ciertas instancias, puede resultar en sofocación o ahogamiento de los especímenes más jóvenes (Mader, 1996).

3.1.3.4 Comportamiento durante la reproducción

Los crocodilios expresan patrones de comportamiento avanzados durante la temporada de apareamiento. Para la mayoría de especies, el comportamiento es extremadamente marcado y dramático durante un extenso período de tiempo. Las dos actividades que se observan más comúnmente en ellos es el rugido o mugido (no tienen cuerdas vocales ni membranas timpaniformes, sino más bien producen sonido forzando aire a través de los labios de la glotis), y el golpeteo de cabeza. Se considera que estos comportamientos son un importante método de comunicación entre miembros de un grupo, los cuales aumentan significativamente durante la temporada de apareamiento; tanto para animales en vida libre como en granjas de crianza. Aquellos animales en cautiverio mostrarán este comportamiento sólo ocasionalmente (Huchzermeyer, 2003).

3.2 Hemoparásitos

Un gran número de parásitos pueden encontrarse en la sangre periférica de reptiles. Entre estos se incluyen haemogregarinas encontradas en las células sanguíneas. Los parásitos pueden ser intracelulares o estar libres en el plasma y todos requieren de invertebrados como hospederos intermediarios. El ciclo de vida completo de muchos de estos parásitos no es conocido, así como tampoco su patogenicidad (Mader, 1996).

En muchos ambientes de cautiverio, el estrés baja el mecanismo de defensa del hospedador, y por lo tanto incrementa la posibilidad del desarrollo de una enfermedad clínica causada por endoparásitos. En otras situaciones, la infestación

parasítica podría pasar desapercibida hasta que una condición clínica o mortalidad se manifiesten (Mader, 1996).

La extinción de un huésped causa la extinción de sus parásitos. Por ello, el rescate y crianza en cautiverio de crocodilios puede que no prevengan la extinción de sus parásitos específicos, particularmente cuando éstos requieren hospederos intermediarios que no están presentes en los ambientes de cautiverio. El efecto positivo de los parásitos en la evolución del sistema inmunológico, por ejemplo, el tamaño del bazo, ha sido demostrado en aves y probablemente aplica a todos los vertebrados (Huchzermeyer, 2003).

Los reptiles sobreviven por años con infecciones por filarias y microfilaremia. Infestaciones por filarias pueden causar enfermedad clínica, como por ejemplo daño vascular, y la muerte del reptil. Sin embargo, en muchos casos no se muestran signos clínicos ni cambios en el hemograma o perfil bioquímico (Mader, 1996).

En reptiles se han descrito varios tipos de hemoprotozoos, entre ellos los Trypanosomas, que son comúnmente encontrados en sangre periférica de reptiles. *Leishmania, Saurocytozoon, Haemoproteus* y los piroplásmidos son raros. Por otro lado, los hemoparásitos del género *Plasmodium* nunca ha sido encontrado en crocodilios (Huchzermeyer, 2003; Mader, 1996).

3.2.1 Haemogregarinas

Haemogregarina y *Hepatozoon* son hemoparásitos en forma de salchicha, no pigmentados, comunes en los reptiles y rara vez causan enfermedad clínica. Éstos y el género *Karyolysus* no son fácilmente distinguibles por sus gametocitos dentro de los eritrocitos o esquizontes en los distintos tejidos. Por lo tanto, los dos suelen ser mencionados como un término general denominado haemogregarinas cuando se encuentran en muestras de sangre periférica. Cabe mencionar que si ocurre

enfermedad, generalmente se presenta anemia hemolítica en el animal. El género *Haemogregarina* se encuentra en reptiles acuáticos, y *Karolysus* se encuentra en lagartijas del viejo mundo y algunas serpientes (Mader, 1996).

La reproducción sexual de las haemogregarinas ocurre en el huésped invertebrado y la multiplicación asexual ocurre en el huésped reptil. Los esporozoitos del parásito son transmitidos del huésped invertebrado al reptil cuando el primero se alimenta del segundo, o cuando es ingerido por el reptil. En éste último, la esquizogonia ocurre en varios tejidos, como lo son el hígado, pulmones, bazo y páncreas (Mader, 1996).

En crocodilios solamente se consideran de importancia los géneros *Haemogregarina* y *Hepatozoon*. Ambos llevan a cabo su ciclo de desarrollo en diversos tejidos, entre los cuales están el bazo, hígado, riñones y mucosa del tracto digestivo. Sin embargo, la ubicación de importancia para la determinación de la presencia del parásito es la sangre, tanto libre como dentro de las células sanguíneas (Enríquez, et al., 2014).

3.2.2 Género *Hepatozoon*

El género *Hepatozon* pertenece a uno de dos grupos de parásitos coccidiales en sangre de crocodilios, siendo el otro el género *Progarnia.* Tienen forma de salchicha, no se pigmentan y se pueden encontrar intracitoplasmáticos y extracelulares (Huchzermeyer, 2003).

Los miembros del género *Hepatozoon* son trasmitidos por artrópodos, en este caso por moscas mordedoras y mosquitos, en los cuales se lleva a cabo la multiplicación sexual. Los esquizontes asexuales se pueden encontrar en el hígado de animales infectados, mientras que los gametocitos se encuentran ya sea en

glóbulos rojos o libres en la sangre en formas vermiformes y elongadas (Huchzermeyer, 2003; Mehlhorn, et al., 1993).

El género *Hepatozoon* spp. en crocodilios puede mantener un nivel alto de parasitemia por muchos años, pero parece ser que no causa daño al huésped. Sin embargo, es posible que especímenes crónica o terminalmente enfermos puedan perder la habilidad de controlar al parásito, y esto podría llegar a causar muy elevadas parasitemias, que en algún caso pueden ser erróneamente interpretadas como la causa de muerte (Huchzermeyer, 2003).

3.2.3 Género *Haemogregarina*

Tienen forma de salchicha, no se pigmentan y se pueden encontrar dentro del citoplasma celular. Se encuentran en esquizontes y gamontes en eritrocitos y los transmisores son, por ejemplo, las sanguijuelas. Los cambios asociados con infecciones de éste género incluyen desplazamiento de la hemoglobina de los eritrocitos infectados y disproteinemia leve. Si bien son considerados no patógenos en animales no domésticos, la patogenicidad se puede dar cuando una infección concomitante con otro agente de enfermedad está presente en el reptil (Mehlhorn, et al., 1993; Quiñónez, 2011).

Se han reconocido 19 especies de *Haemogregarina*, todas en tortugas, y otros dos géneros que parasitan peces, *Cyrillia* y *Desseria*. Se sugiere que todas las demás especies de *Haemogregarinas* que se describen como parásitos de serpientes, crocodilios, lagartijas y aves deben ser considerados como especies de *Hepatozoon* (Telford, 2008).

3.2.4 Género *Karvolysus*

Se ha reportado principalmente en lagartijas de Europa y Asia. Su ciclo de vida es indirecto y la merogonia ocurre en un huésped intermediario vertebrado. La gamogonia y la esporogonia se lleva a cabo en el intestino del huésped invertebrado final. Se encuentran en gamontes en eritrocitos y los transmisores son, entre otros, ácaros hematófagos, los cuales pueden también ser ingeridos por el reptil y así transmitirles el parásito. Tienen forma de salchicha, no se pigmentan (Haklová-Kocíková, et al., 2014; Mehlhorn, et al., 1993).

3.2.5 Otros protozoarios

3.2.5.1 Género *Plasmodium*

Se encuentran en forma de esquizontes, que son un paquete de merozoitos; merozoitos, que son pequeños y gamontes, que son gránulos de pigmento retráctil, dentro de los eritrocitos. Los transmisores son casi siempre mosquitos picadores (Mader, 1996; Mehlhorn, et al., 1993).

Éste es un hemoparásito común en animales semi-acuáticos y quelonios terrestres, así como en muchas lagartijas. Las infecciones por dicho parásito ocurren principalmente en lagartijas, y es transmitido cuando el huésped invertebrado, como el mosquito, inyecta esporozoitos cuando se alimenta del huésped reptil (Mader, 1996).

Más de 60 especies de *Plasmodium* han sido descritas en reptiles. Este protozoario se asemeja a aquellos encontrados en aves. Los gametocitos intracitoplasmáticos tienen pigmentos granulados refráctiles, lo cual los diferencian de las hemogregarinas. A diferencia de *Haemoproteus*, las esquizogonias de *Plasmodium* pueden ocurrir en células sanguíneas. Los trofozoitos son pequeñas

inclusiones en el citoplasma de eritrocitos. El ciclo de vida de *Plasmodium* involucra un estado de esporogonia en un insecto hospededero, como el mosquito, y la esquizogonia y gametogonia en un huésped reptil. Los *Plasmodium* en reptiles llevan a cabo de dos a siete divisiones de núcleo en los eritrocitos, produciendo de 4 a 130 merozoitos (Kreier, 1993; Telford, 2008).

Los gametocitos son células sexuales altamente diferenciadas que se producen durante el ciclo eritrocítico de los parásitos del género *Plasmodium* y son necesarias para la continuidad del ciclo de vida del mosquito vector. Deben ser transmitidos del hospedero vertebrado a su vector y el éxito de la transmisión depende de la disponibilidad de gametocitos infectivos circulantes en el vertebrado (Arango, et al., 2004).

El curso de la infección eritrocítica ha sido estudiada experimentalmente solo en cuatro especies de *Plasmodium* en reptiles: *P. mexicanum*; *P. floridense*; *P. tropiduri* y *P. sasai*. Cada especie es similar en su periodo prepatente, los días que tarda en llegar al punto máximo de parasitemia y la duración de la infección (Kreier, 1993).

3.2.5.2 Género *Progarnia* sp.

Progarnia archosauriae es un parásito de glóbulos blancos y rojos. La merogonia se lleva a cabo en linfocitos y monocitos, menos frecuentemente en trombocitos y aún menos frecuentemente en eritrocitos inmaduros y maduros. Los gamontes también se pueden encontrar en linfocitos, monocitos y trombocitos. El material nuclear de los microgamontes está esparcido difusamente, mientras que los macrogamontes tienen un núcleo bien definido y el característico citoplasma con manchas azules en los parásitos hembra de malaria (Huchzermeyer, 2003).

Se ha encontrado en animales muy jóvenes, capturados en vida libre. Nada se sabe acerca de la transmisión del parásito, presuntamente por insectos mordedores, ni de la posible patogenicidad del parásito (Huchzermeyer, 2003).

3.2.5.3 Género *Trypanosoma*

Este género de parásitos se asemeja a aquellos encontrados en la sangre de mamíferos y aves. Son protozoarios largos y flagelados que poseen membrana ondulante y requieren de hospederos hematófagos invertebrados. Los tripanosomas tienen distribución mundial y se encuentran en todos los órdenes de reptiles. Están rara vez relacionados con enfermedades clínicas, y su presencia en muestras sanguíneas es usualmente considerada incidental. Las infecciones pueden durar toda la vida en animales infectados (Mader, 1996).

Los estadios vegetativos se mueven dentro del plasma sanguíneo. Los transmisores son numerosos insectos hematófagos y sanguijuelas. Algunas especies son altamente patógenas para ciertos reptiles (Mehlhorn, et al., 1993).

3.2.5.4 Género *Schellackia*

Es una coccidia que parasita el intestino, y los esquizontes son encontrados en el epitelio. Los esporozoitos se encuentran en sangre periférica y se ven como inclusiones intracitoplasmáticas en leucocitos y eritrocitos. Estas inclusiones circulares u ovales deforman el núcleo celular del huésped. Por otro lado, la esquizogonia y la esporogonia tienen lugar en las células endoteliales de vertebrados; son transmisores los mosquitos picadores y ácaros hematófagos, dentro de los cuales el desarrollo se paraliza (Mader, 1996; Mehlhorn, et al., 1993).

3.3 Técnicas de diagnóstico

El frote sanguíneo es la extensión de sangre realizada sobre un portaobjetos y a partir de la cual se observarán al microscopio las características de las células sanguíneas (De Wit, 2015).

El propósito de teñir los frotes sanguíneos es identificar las células y reconocer fácilmente la morfología a través del microscopio. Las células se fijan sobre el portaobjetos de vidrio con metanol y luego se aplica el colorante para observar las células con el objetivo 100X (De Wit, 2015).

3.3.1 Tinción de Giemsa

El constituyente básico del colorante giemsa consiste en eosinato de azul de metileno, disuelto ya sea en alcohol metílico puro o glicerina pura. La solución alcohólica constituye una forma conveniente en la preparación de la solución acuosa que tiñe simultáneamente en rojo, azul y violeta. Los elementos disueltos permanecen en solución y al cabo de un tiempo todos los elementos activos de coloración se precipitan (Instituto Nacional de Salud, 2003).

Permite observar las características morfológicas de la célula hospedera, del parásito y de los elementos figurados de la sangre (Instituto Nacional de Salud, 2003).

Procedimiento:

- La lámina portaobjetos previamente limpia y exenta de polvo u otras impurezas, se sujeta con una mano y con la otra se procede a colocar el contenido de la jeringa.
- Se fija con metanol libre de acetona.
- Se seca al ambiente.

- Se tiñe con Giemsa agregando una cantidad del colorante sobre la muestra.
- Se deja reposar de 10 a 30 minutos.
- Se lava la lámina.
- Se seca y se observa al microscopio (Fuentes, 2006).

3.3.2 Tinción de Wright

La tinción de Wright es una técnica que se emplea generalmente para la diferenciación de elementos celulares de la sangre y es clasificada como una tinción policromática, dado que puede teñir compuestos ácidos o básicos presentes en una célula (De Wit, 2015).

El reactivo de Wright está compuesto por eosina y azul de metileno. El resultado de la tinción puede ser influido por diferentes factores, como el valor del pH de los colorantes y de la solución amortiguadora, esto debido a que la tinción se fundamenta en la relación de las características ácido-base, y la variación de estos factores podría cambiar las características de tinción en la muestra al verse favorecida por características más ácidas o básicas. Las muestras útiles para su uso son el frote de sangre periférica y el frote de médula ósea. Los diferentes colores que se observan en la célula provocan el llamado efecto Romanowsky, que tiñe de púrpura a los núcleos y gránulos neutrofílicos y de color rosa al citoplasma. Los ácidos nucleicos se tiñen de azul, permitiendo así, distinguir a los parásitos en el interior de los eritrocitos (De Wit, 2015).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

4.1.1 Recursos humanos

- Estudiante tesista.
- Tres médicos veterinarios asesores.
- Médico veterinario del Centro de Rescate ARCAS.
- Trabajadores del Centro de Rescate ARCAS.

4.1.2 Recursos de laboratorio

- Láminas portaobjetos.
- Capilares.
- Jeringas de 3ml.
- Agujas calibre 20 y 22, de 1” y 1 ½”.
- Metanol absoluto.
- Colorante de Giemsa.
- Aceite de inmersión.
- Microscopio.

4.1.3 Recursos de escritorio

- Marcador permanente.
- Libreta de apuntes.
- Lapicero.
- Lector de microchip.
- Celular con cámara.

4.1.4 Recursos de campo

- Horquilla.
- Lazos.
- Cinta adhesiva.
- Tijeras.

4.1.5 Recursos Institucionales

- Instalaciones del Centro de Rescate y Rehabilitación de Vida Silvestre ARCAS, Petén.
- Laboratorio de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, USAC.

4.2 Metodología

4.2.1 Área de Estudio

El estudio se realizó en el Centro de Rescate y Rehabilitación de Vida Silvestre ARCAS, Petén.

El municipio de Flores es uno de los más ricos en recursos naturales, culturales y económicos del Petén. Su extensión territorial se estima en 4,336.00 kms2. Los vientos soplan predominantemente del Norte, Este, Sur, Sureste, y Noreste. Se ubica en el Bosque Húmedo Sub-tropical Cálido, y manifiesta un clima cálido con invierno benigno, húmedo y sin estación seca definida, esto para la parte sur del municipio, y el clima cálido con invierno benigno, semi seco y sin estación seca bien definida, esto para el área de Tikal y Uaxactún. La temperatura promedio por año es de 24.8°C. Los días de lluvia al año son 128 aproximadamente (Pinelo & Zetina, 2016).

Tanto la flora como la fauna se integran dentro del bosque petenero, el cual por efecto de las inmigraciones y colonizaciones ha sufrido un proceso de destrucción y depredación, que ha incidido en las áreas de cobertura forestal. Como consecuencia de la destrucción de los bosques, se han destruido los hábitats de los animales, muchos de ellos declarados en peligro de extinción por la Conservación Internacional de Comercio para Especies de Flora y Fauna (Pinelo & Zetina, 2016).

4.2.2 Muestra

Se tomaron muestras de todos los crocodilios del Centro de Rescate ARCAS. Con ello se trabajó con un 95% de confianza, y la precisión del estudio fue de 7%. Este porcentaje fue calculado con la ayuda del programa EpiDat.

4.2.3 Toma de muestra

4.2.3.1 Captura e inmovilización

Se realizó la captura entre las 9:00 y 16:00 horas. Se emplearon horquillas y lazos, para posteriormente inmovilizar a los especímenes de la cabeza y la cola. Con cinta adhesiva se aseguró la boca (Mader, 1996).

4.2.3.2 Obtención e identificación de muestras sanguíneas

Se tomó la muestra del seno post occipital y cortando la punta de una escama de la cola, y se colocó una gota de sangre en la lámina portaobjetos para realizar el frotis y posteriormente fijar con metanol. Se esperó que seque al medio ambiente. Se identificó y colocó en una caja para transportar al laboratorio.

4.2.3.2.1 Procesamiento de las muestras

Se procesaron las muestras en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, USAC, realizando tinción de Giemsa.

4.2.3.2.2 Observación de las muestras

Se determinó la presencia o ausencia de hemoparásitos mediante la observación de los frotis sanguíneos en un microscopio óptico en el objetivo 100x.

4.3 Diseño del estudio

El estudio fue descriptivo, de corte transversal.

4.4 Análisis estadístico

Se empleó estadística descriptiva con estimación de proporciones. Para la interpretación de los resultados se usaron tablas y gráficas para su mayor comprensión.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Resultados

Se encontraron estructuras intracitoplasmáticas en eritrocitos, con características morfológicas sugerentes a presencia del protozoario *Plasmodium* sp. en un ejemplar de *Crocodylus moreletti*, lo cual representa el 5.5% de la población total de Crocodilios, y el 6.67% de *C. moreletti*.

CUADRO 1. HEMOPARÁSITOS ENCONTRADOS EN EL CENTRO DE RESCATE ARCAS, PETÉN

No. de muestra	Especie	Parásito encontrado
1	*Crocodylus moreletti*	-
2	*C. moreletti*	-
3	*C. moreletti*	-
4	*C. moreletti*	-
5	*C. moreletti*	-
6	*C. moreletti*	-
7	*C. moreletti*	-
8	*C. moreletti*	-
9	*C. moreletti*	-
10	*C. moreletti*	-
11	*C. moreletti*	-
12	*C. moreletti*	-
13	*C. moreletti*	-
14	*C. moreletti*	-
15	*C. moreletti*	*Plasmodium* sp
16	*Caiman* sp	-
17	*Caiman* sp	-
18	*Caiman* sp	-

Fuente: Elaboración propia

5.2 Discusión

El bajo índice de presencia de *Plasmodium* sp en el estudio se puede deber al grado de parasitemia en que se encontraba la población de crocodilios al momento de la toma de muestra, ya que se desconocía si ya había habido transmisión del agente encontrado. Puesto que cada espécimen provenía de distintas partes del departamento de Petén, el cocodrilo positivo a *Plasmodium* sp. no necesariamente se infectó estando en cautiverio. Esto sugiere que en el lugar de origen del mismo podría haber una cantidad significativamente más alta de cocodrilos. Debido a que en el hábitat natural la densidad poblacional es mucho mayor, y con todos los factores necesarios para la transmisión, incluyendo la constante exposición al vector, se esperaría encontrar una mayor presencia del protozoario (García, 2013).

La presencia del vector en el área de cautiverio donde se encontraba la población en estudio hacía posible la transmisión *in situ* del agente, pero se debe tener en consideración la superficie corporal disponible de picadura. Los crocodilios poseen una piel cubierta por escamas cornificadas (que difieren según su ubicación), unidas entre sí por tejido conectivo elástico, que en ciertas regiones puede presentar una adherencia muy fuerte a los huesos que se encuentran debajo de ella (Mader, 2006). Esto da lugar a que la transmisión del protozoario no sea tan efectiva como en otras especies de reptiles, y se requieren más estudios para determinar la importancia de dicho factor.

Del mismo modo, es posible que la transmisión del protozoario se vea disminuida debido a que los crocodilios no están constantemente expuestos al vector. Esto se da ya que los mismos son semiacuáticos y pasan la mayor parte de su vida sumergidos en el agua (Vitt y Caldwell, 2014).

En cuanto a la posible sintomatología, algunos reportan que los *Plasmodium sp* no son patógenos, mientras que otros autores aseguran que representan efectos

negativos como bajos índices de fertilidad, hiporexia, baja condición corporal, efectos en hígado, bazo y riñones, variaciones en los parámetros leucocitarios y anemia hemolítica severa, lo cual posiblemente incremente la susceptibilidad a infecciones secundarias. Cabe mencionar que a los especímenes del Centro de Rescate ARCAS no se les hacen exámenes sanguíneos de rutina y por ende no se tienen datos suficientes para concluir más al respecto de la ausencia o presencia de sintomatología (Mader, 2006; Matta, et al., 2018).

Los fundamentos para establecer con certeza la presencia o ausencia de *Plasmodium* sp en cocodrilos no son sólidos debido a que no existen estudios que hayan determinado la presencia, como en el caso de aves y mamíferos. Del mismo modo, la relevancia de las diferencias entre los *Plasmodium* de estos últimos no es importante hasta que muchas más especies sean estudiadas, una situación comparable con el uso del análisis del genoma, con el cual menos del 10% de las especies de *Plasmodium* de reptiles han sido estudiadas (Telford, 2008).

Aunque el estudio con el método de PCR es más sensible que los análisis microscópicos, no se ha estandarizado apropiadamente en muchas especies de parásitos. Se han realizado estudios que demuestran que la caracterización morfológica de parásitos en reptiles es muy limitante: el número de merozoitos es inestable, y el tamaño del parásito puede depender del hospedero; por esas razones, no se puede asignar fácilmente una especie o incluso un subgénero (Matta, et al., 2018).

Mucho del conocimiento que se tiene de hemoparásitos en reptiles está basado principalmente en morfología, lo cual representa una importante brecha de conocimiento. Esto nos impide tener un mayor conocimiento de las especies de *Plasmodium* sp que afectan reptiles. Casi con certeza la diversidad de especies en reptiles es subestimada, así como lo ha sido con los hemoparásitos en aves (Matta, et al., 2018).

Es necesario generar más información referente a la biología de los parásitos, sus hospederos y relaciones ecológicas, para poder identificar adecuadamente los hemoparásitos presentes en reptiles (Matta, et al., 2018).

VI. CONCLUSIONES

- Se identificó el género *Plasmodium* sp en crocodilios del Centro de Rescate y Rehabilitación de Vida Silvestre ARCAS, Petén.

- Se determinó la presencia (5.5%) de hemoparásitos en crocodilios del Centro de Rescate y Rehabilitación de Vida Silvestre ARCAS, Petén.

- Se determinó la presencia (6.7%) de hemoparásitos en *Crocodylus moreletti* del Centro de Rescate y Rehabilitación de Vida Silvestre ARCAS, Petén.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar exámenes de hematología completa, bioquímicas y frote sanguíneo periférico a los especímenes de nuevo ingreso del Centro de Rescate y Rehabilitación de Vida Silvestre ARCAS, así como antes de liberarlos, para detectar o descartar enfermedades de tipo infeccioso.

- Implementar métodos más específicos para el diagnóstico, como el examen de ADN utilizando la prueba de PCR, y así poder determinar la especie de *Plasmodium* sp encontrado.

- Realizar estudios enfocados en determinar la presencia de hemoparásitos en crocodilios de vida libre, basados tanto en morfología como en análisis molecular.

- Llevar a cabo un muestreo en crocodilios de vida libre, para realizar exámenes de hematología completa y pruebas bioquímicas, con el fin de determinar el grado de patogenicidad del agente en animales positivos.

VIII. RESUMEN

Existen pocos estudios donde se refleje el estatus sanitario de los crocodilios en Guatemala, especialmente en referencia a hemoparásitos, por lo que actualmente se encuentra un vacío de información. Algunos de los especímenes sujetos a este estudio, se encontraban en proceso de rehabilitación para ser introducidos a vida libre. Por este motivo se determinó cuál era su condición sanitaria, ya que podrían representar un foco de infección, ya sea en su hábitat natural o a futuros crocodilios que pudieran llegar al Centro de Rehabilitación.

El estudio se realizó en el Centro de Rehabilitación de Fauna Silvestre ARCAS, Petén, en el año 2017. Para alcanzar los objetivos del estudio; determinar la presencia de hemoparásitos e identificar el género de los mismos, se realizaron frotis sanguíneos de la población total de crocodilios, que fue de 18 especímenes. Con ello se trabajó con un 95% de confianza, y la precisión del estudio fue de 7%. El presente estudio fue de carácter descriptivo, de corte transversal.

Se diagnosticó morfológicamente un género de hemoparásitos, encontrando durante el estudio *Plasmodium* sp, siendo únicamente un crocodilio el positivo a este protozoario. Esto representa un 5.5% de los crocodilios del Centro Rehabilitación de Vida Silvestre ARCAS, y un 6.7% de los especímenes *Crocodylus moreletti*.

La determinación de la presencia en un bajo porcentaje de crocodilios puede deberse a varios factores, entre los cuales se encuentran el origen de cada espécimen, presencia del vector en el área de cautiverio, la superficie corporal disponible de picadura y la forma de vida semiacúatica de los mismos, entre otros.

Es necesario generar más información referente a la biología de los parásitos, sus hospederos y relaciones ecológicas, para poder identificar adecuadamente los

hemoparásitos presentes en reptiles. Con este estudio se aportaron datos que pueden servir como referencia en un futuro para próximos estudios relacionados con la biología de estos especímenes o los factores relacionados con su salud en el país.

SUMMARY

There are few studies that reflect the sanitary status of crocodilians in Guatemala, especially regarding hemoparasites, which is why there is currently an information gap. Some of the specimens in this study were in the process of rehabilitation aiming to be introduced into the wildlife. Their sanitary condition was determined due to the fact that they could represent a source of infection, either in their natural habitat or in future crocodilians that might arrive at the Rehabilitation Center.

The study was carried out in the ARCAS Wildlife Rescue and Rehabilitation Center, Petén, in 2017. To achieve the objectives of the study; determine the presence of hemoparasites and identify its genus, blood smears were taken of the total population of crocodilians, which was 18 specimens. With this, the study consists of 95% of confidence and 7% of accuracy. This was a cross sectional, descriptive study.

The genus of one hemoparasite was diagnosed based on morphology, finding during the study *Plasmodium* sp, being only one positive crocodilian to this protozoan. This represents 5.5% of the crocodilians of the ARCAS Wildlife Rehabilitation Center, and 6.7% of the *Crocodylus moreletti* specimens.

The determination of the presence in a low percentage of crocodilians might be explained by several factors, among which are the origin of each specimen, the presence of the vector in captivity area, body surface availabe for biting, their semi-aquatic lifestyle, among others.

It is necessary to generate more information regarding the biology of the parasites, their hosts and ecological relationships, in order to correctly identify the hemoparasites present in reptiles. This study provided data that might serve as a

reference in the future for studies related to the biology of these specimens or factors related to their health in the country.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arango, E., Alvarez, T., Carmona, J., Blair, S. (2004). Gametocitemia de *Plasmodium falciparum* según la respuesta terapéutica asulfadoxina-pirimetamina y cloroquina en dos municipios de Antioquia, Colombia. *Biomédica, 24*(1), 79-82. doi: 10.7705/biomédica.v24i1.1251

De Wit, C. (2015). *Determinación de la presencia de Babesia sp. mediante el método de frote sanguíneo y tipificación de garrapatas en équidos del municipio de Zaragoza, Chimaltenango* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Enríquez, C., Elías, R., Montes, D., Saldariaga, F. (2014). Presencia de hemaparásitos de los géneros *Hepatozoon* y *Haemoagregina* en ejemplares de coco drilo americano (*Crocodylus acutus*) mantenidos en cautiverio en Tumbes, Perú. *Zoológica, 1*(1), 43-49. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/306106730_Presencia_de_hemoparasitos_de_los_generos_Hepatozoon_y_Haemoagregina_en_ejemplares_de_cocodrilo_americano_Crocodylus_acutus_mantenidos_en_cautiverio_en _Tumbes_Peru

Fuentes, L. (2006). *Diagnóstico citológico de lesiones neoplásicas nodulares y quísticas en la piel de caninos por medio de las tinciones de Giemsa y DIFF-QUICK.* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

García, V. (2013). *Frecuencia de parásitos de reptiles en cautiverio en diferentes colecciones del Estado de Morelos* (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México.

Haklová-Kocíková, B., Hižňanová, A., Majláth, I., Račka, K., Harris, D., Földvári, G.,… Majláthová, V. (2014). Morphological and molecular characterization of *Karyolysus*- a neglected but common parasite infecting some European lizards. *Parasites & Vectors, 7*(5), 2-12. doi: 10.1186/s13071-014-0555-x

Huchzermeyer, F. (2003). *Crocodiles: Biology, Husbandry and Diseases.* Inglaterra: Cambridge.

Instituto Nacional de Salud. (2003). *Manual de procedimientos para el diagnóstico de malaria.* Recuperado de http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/Antimalaricos/manualMALARIA.pdf

Kreier, J. (Ed.). (1993). *Parasitic Protozoa.* Estados Unidos: Academic Press, Inc.

Mader, D. (1996). *Reptile Medicine and Surgery*. Estados Unidos: W. B. Saunders Company.

Mader, D. (2006). *Reptile Medicine and Surgery*. Estados Unidos: Saunders Elsevier.

Matta, N., González, L., Pacheco, A., Escalante, A., Moreno, A., González, A., Calderón-Espinosa, M. (2018). *Plasmodium* parasites in reptiles from the Colombia Orinoco-Amazon basin: a re-description of *Plasmodium kentropyxi* Lainson R, Landau I, Paperna I, 2001 and *Plasmodium carmelinoi* Lainson R, Franco CM, da Matta R, 2010. *Parasitology Research, 117*(5), 1357–1370. Recuperado de https://link-springer-com.ezproxy.massey.ac.nz/article/10.1007%2Fs00436-018-5815-9

Mehlhorn, H., Düwel, D., Raether, W. (1993). *Manual de Parasitología Veterinaria*. Colombia: GRASS-IATROS.

Quiñonez, M. (2011). *Hemoparásitos de la tortuga blanca centroamericana (Derma temys mawii) del parque nacional Laguna del Tigre, Petén, Guatemala.* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Telford, S. (2008). *Hemoparasites of the Reptilia, Color Atlas and Text*. Estados Unidos: CRC Press.

Vitt, L., Caldwell, J. (2014). *Herpetology An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles.* Estados Unidos: Elsevier.

X. ANEXOS

Anexo no. 1

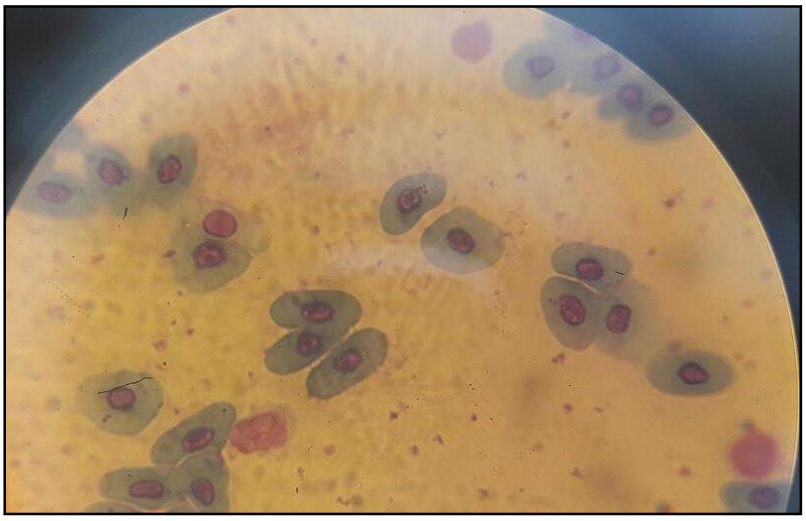
Tabla utilizada para recopilación de datos

No. De muestra	Especie	Parásito encontrado	Observaciones

Fuente: Elaboración propia

Anexo no. 2

Plasmodium sp encontrado en frote sanguíneo



Fuente: Elaboración propia

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE HEMOPARÁSITOS PROTOZOARIOS EN CROCODILIOS (*Caiman sp.* y *Crocodylus moreletii*) DEL CENTRO DE REHABILITACIÓN DE FAUNA SILVESTRE ARCAS, FLORES, PETÉN, EN ABRIL DEL AÑO 2017

f. _____
JOHANNES WEITNAUER ARAUJO

f. _____
M.A. Ludwig Estuardo Figueroa Hernández
ASESOR

f._____
M.V. Alejandro José Hun Martínez
ASESOR

f. _____
M.V. Carmen Grizelda Arizandieta Altan
EVALUADORA

IMPRÍMASE

f._____
M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
DECANO