

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



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE
HEMOPROTOZOARIOS, A TRAVÉS DEL MÉTODO DE
FROTE SANGUÍNEO EN GALLINAS DE TRASPATIO Y
REPRODUCTORAS DE GRANJA EN EL MUNICIPIO DE
SANARATE, DEPARTAMENTO DE EL PROGRESO, EN EL
PERÍODO DE ABRIL A JULIO, 2018**

RAFAEL ESTUARDO JOSUÉ AROCHA LÓPEZ

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA, MAYO DE 2019

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



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE HEMOPROTOZOARIOS,
A TRAVÉS DEL MÉTODO DE FROTE SANGUÍNEO EN GALLINAS
DE TRASPATIO Y REPRODUCTORAS DE GRANJA EN EL
MUNICIPIO DE SANARATE, DEPARTAMENTO DE EL PROGRESO,
EN EL PERÍODO DE ABRIL A JULIO, 2018**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

RAFAEL ESTUARDO JOSUÉ AROCHA LÓPEZ

Al conferírsele el título profesional de

Médico Veterinario

En el grado de licenciado

GUATEMALA, MAYO DE 2019

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

DECANO:	M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
SECRETARIA:	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 Fernánda Amézquita Estévez

ASESORES

M.A. MANUEL EDUARDO RODRÍGUEZ ZEA
M.Sc. LUCERO SERRANO ARRIAZA

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 HEMOPROTOZOARIOS,
A TRAVÉS DEL MÉTODO DE FROTE SANGUÍNEO EN GALLINAS
DE TRASPATIO Y REPRODUCTORAS DE GRANJA EN EL
MUNICIPIO DE SANARATE, DEPARTAMENTO DE EL PROGRESO,
EN EL PERÍODO DE ABRIL A JULIO, 2018**

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

- A DIOS:** Por otorgarme la recompensa de todo el esfuerzo realizado durante esta larga carrera universitaria y laboral, por darme salud y fuerza en cada momento que lo he requerido.
- A MIS PADRES:** Gracias por todo el apoyo mostrado hacia mi persona, tanto en el ámbito económico, como en el sentimental. Por enseñarme los valores fundamentales para poder ser un hombre de bien, un buen profesional y una buena persona.
- A MI FAMILIA:** Ya que gracias a todo el ejemplo de excelentes profesionales, extraordinarias personas y magníficos integrantes que forman parte de mi círculo familiar, ha servido de ejemplo y de fortaleza para continuar adelante en cada área de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

- A DIOS:** Sin dudarlo, sin la ayuda y las bendiciones de nuestro ser supremo no podría estar celebrando este gran e importante paso en vida. El ser que me ha brindado toda la fortaleza necesaria para poder lograr todas las metas que me he propuesto.
- A MI PADRE:** Por todo el apoyo brindado durante todo este largo proceso, por su amor, por la paciencia y por siempre darme sus bendiciones en cada momento de mi vida, que sin duda han sido de gran importancia para poder conducirme en la vida.
- A MI MADRE:** La mujer que ha impulsado mi vida con todo su apoyo, su amor y sus bendiciones en todos los aspectos de mi vida, la mujer que se preocupa por mi bienestar en todo momento.
- A MI HERMANO:** Que ha sido mi apoyo día con día, por ser mi mejor amigo y porque juntos hemos vivido esta larga etapa siempre recibiendo su apoyo, sus consejos y sus palabras de aliento que sin lugar a dudas, son uno de los motores más importantes que necesito día con día.
- A MI FAMILIA:** A cada uno de los integrantes que la integran, por ser un excelente ejemplo de vida y por estar siempre apoyándome en todo momento. Siempre necesitaré del apoyo y bendiciones de cada uno.
- A MIS ASESORES:** Los doctores Manuel Rodríguez y Lucero Serrano por toda la paciencia y por toda la ayuda recibida durante la etapa final de mi carrera.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	3
III. OBJETIVOS	4
3.1. GENERAL	4
3.2. ESPECÍFICOS	4
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1. Plasmodiosis en aves	5
4.1.1. Transmisión	5
4.1.2. Etiología	5
4.1.3. Ciclo Evolutivo	5
4.1.4. Sintomatología y patogenia	6
4.1.5. Diagnóstico	6
4.1.6. Prevención y Control	6
4.2. Hemoproteosis en aves	6
4.2.1. Transmisión	7
4.2.2. Etiología	7
4.2.3. Ciclo Evolutivo	7
4.2.4. Sintomatología y patogenia	8
4.2.5. Diagnóstico	8
4.2.6. Prevención y Control	8
4.3. Leucocytozoonosis en aves	8
4.3.1. Transmisión	8
4.3.2. Etiología	8
4.3.3. Ciclo Evolutivo	9
4.3.4. Sintomatología y patogenia	9
4.3.5. Diagnóstico	9
4.3.6. Prevención y control	10
V. MATERIALES Y MÉTODOS	11

5.1. Materiales	11
5.1.1. Recursos Humanos	11
5.1.2. Recursos biológicos:	11
5.1.3 Materiales de Laboratorio	11
5.1.3.1. Frote Sanguíneo	11
5.1.4. Recursos de Campo	11
5.2. Métodos	12
5.2.1. Diseño del estudio	12
5.2.2. Muestreo	12
5.2.3. Metodología de Campo	13
5.2.4. Metodología de Laboratorio	13
5.2.4.1. Método de Frote Sanguíneo	13
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
6.1. Método estadístico (Chi cuadrado)	20
VII. CONCLUSIONES.....	21
VIII. RECOMENDACIONES	22
IX. RESUMEN.....	23
SUMMARY	24
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
XI. ANEXOS	27
11.1. Fichas para toma de datos.....	28
11.2. Muestras positivas a <i>Plasmodium</i>	30

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Resultados a Hemoparásitos en aves de traspatio del Municipio de Sanarate	15
Cuadro 2. Resultados obtenidos en reproductoras de granja	15
Cuadro 3. Resultados en Porcentajes del género <i>Plasmodium</i> en los dos grupos de aves muestreadas	18

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Resultados obtenidos en aves de traspatio 19

Figura 2: Porcentaje de presencia de *Plasmodium* en ambos grupos de aves.....19

I. INTRODUCCIÓN

Los parásitos sanguíneos fácil y normalmente pueden estar afectando una población de aves domésticas. La presencia de estos no causan grandes pérdidas económicas debido a que el porcentaje de mortalidad es muy bajo y a que la mayoría de veces la sintomatología clínica es poco perceptible, observándose síntomas que en la mayoría de ocasiones está relacionado con otras enfermedades de tipo bacteriano, viral o de otra etiología.

El grupo de los parásitos sanguíneos que más afectan a las aves dentro de las explotaciones son hemosporidios del género *Plasmodium*, *Haemoproteus* y *Leucocytozoon* que necesitan obligatoriamente la presencia de dípteros hematófagos como hospederos intermediarios para su transmisión. Algunos de los efectos negativos que pueden ocasionar los hemoprotozoarios dentro de las explotaciones avícolas son descenso en la producción, disminución de la inmunidad del aves afectando su supervivencia o resistencia a la presencia de otros agentes etiológicos y disminución en la condición corporal.

Actualmente en Guatemala no existen estudios sobre la presencia y la prevalencia de hemoparasitos sanguíneos en aves; sin embargo en América del Sur existen estudios que revelan la presencia de hemoparásitos en gran abundancia y diversidad. En Colombia por ejemplo se identificó la presencia del género *Leucocytozoon* con prevalencia del 21.3%, *Plasmodium* del 8.1% y de *Haemoproteus* del 1.5% en 25 especies de aves. (Rodríguez, Moya, & Matta, 2009). Un estudio realizado en Cerrado, Brasil Central durante el año 2007 demuestra una prevalencia de 1.6% del género *Plasmodium* y de 5.3 %de *Haemoproteus*. (Fecchio, Marini, & Braga, 2007).

Por la alta presencia de dípteros hematófagos dentro del país y dentro de las explotaciones en las cuales se está realizando el estudio, es muy probable que estos hemosporidios estén presentes, tanto en las gallinas de traspatio anexas a las granjas reproductoras como en las mismas gallinas reproductoras

de granja. Es de gran importancia entonces evaluar gallinas de traspatio cercanas a la explotación, ya que estas al estar parasitadas, los hemoparásitos podrían ser transmitidos fácilmente por los dípteros a las granjas tecnificadas; por ejemplo el rango de vuelo de una hembra de *Aedes Aegypti* no sobrepasa los 50 metros de distancia de vuelo durante su vida, es rara una dispersión de hasta 100 metros; sin embargo una hembra grávida puede llegar a volar hasta una distancia de 3 kilómetros con el fin de encontrar un sitio adecuado para depositar sus huevos sino encuentra un sitio apropiado para hacerlo. (Sánchez, 2011). El rango de vuelo de mosquitos pertenecientes al género *Culex* pueden alcanzar un rango de vuelo de hasta 4 kilómetros. (De la Mora & Granados, 2007). Es de gran importancia tener información sobre el rango de vuelo de los mosquitos, ya que de esta manera se podrá obtener una mejor asociación de presencia de infección entre las gallinas de traspatio y las de granja, dependiendo de la distancia que hay entre las aves de traspatio de las comunidades y las aves de granja.

Las aves de traspatio siempre representan un riesgo para la salud de aves de granja, las cuales normalmente se ubican en casas de comunidades que se encuentran cercanas a las granjas avícolas; o bien, las aves ubicadas en casas de los trabajadores que laboran dentro de la granja.

II. HIPÓTESIS

Ho: No existe asociación entre la presencia de *Plasmodium*, *Haemoproteus* y *Leucocytozoon* en granjas No tecnificadas y tecnificadas.

Ha: Existe asociación entre la presencia de *Plasmodium*, *Haemoproteus* y *Leucocytozoon* en granjas no tecnificadas y tecnificadas.

III. OBJETIVOS

3.1. GENERAL

- Determinar la presencia de hemoprotozoarios en gallinas de traspatio y reproductoras de granja en el municipio de Sanarate, departamento de El progreso, a través del método de frote sanguíneo.

3.2. ESPECÍFICOS

- Identificar los hemoparásitos específicos que están afectando a las aves dentro del municipio, a través de la técnica de frote sanguíneo teñido con Giemsa.
- Determinar si existe asociación de infección por hemoprotozoarios entre las gallinas de traspatio y las reproductoras de granja.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Plasmodiosis en aves

Infección causada por la acción de varias especies del género *Plasmodium* en las células endoteliales y en los glóbulos rojos de pollos, gallináceas, guajolotes y palomas. (Bowman, 2011)

4.1.1. Transmisión

La transmisión se da por la picadura de un díptero hematófago de los géneros *Culex*, *Aedes* y *Anopheles*. (Bowman, 2011)

4.1.2. Etiología

La especie de *Plasmodium* depende del huésped al que esté siendo parasitado. Los pollos y las gallináceas son infectadas por *P. gallinaceum* y *P. juxtannucleare*; los pavos son afectados por *P. durae* y *P. griffitshi* y por último las palomas son parasitadas por *P. relictum* y *P. matutinum*. (Quiroz, 1999)

4.1.3. Ciclo Evolutivo

En la sangre del huésped son introducidos los esporozoitos al momento de la picadura del mosquito, estos esporozoitos entran con la saliva del vector, luego se inicia la primera esquizogonia fuera del eritrocito del ave en donde por medio de un proceso de fisión binaria el esquizonte es dividido y da lugar a la formación de los merozoitos. La segunda esquizogonia comienza en las células del parénquima del hígado, luego los merozoitos pasan a la circulación sanguínea y penetran en los eritrocitos desarrollándose los esquizontes, estos esquizontes al romperse liberan los merozoitos que salen del glóbulo rojo. Algunos de los merozoitos penetran en otros eritrocitos dando lugar a la formación de gametos masculinos y femeninos. Los mosquitos ingieren la sangre con gametos en los eritrocitos. Seguido los microgametocitos forman microgametos, el núcleo es dividido y forma microgametos flagelados, que luego son liberados por un proceso de exflagelación. Luego estos se juntan con un macrogameto, lo fecundan y se forma el cigoto móvil que penetra en la pared del estómago del mosquito, crece y se transforma en

ooquiste. Por último pasa por repetidas divisiones en donde pasa por estados de esporoblastos y finalmente a esporozoitos en formas delgadas con un núcleo central. El ooquiste se rompe dentro del vector y los esporozoitos emigran a las glándulas salivales. Los mosquitos al alimentarse inoculan los esporozoitos al ave y estos permanecen infectados pudiendo transmitir la infección en repetidas ocasiones. (Quiroz, 1999)

4.1.4. Sintomatología y patogenia

El grado de infección del hemoparásito depende de la susceptibilidad del huésped. Los síntomas en aves afectadas con *Plasmodium spp* incluyen disnea, anorexia, regurgitación, desórdenes nerviosos, diarrea verdosa a negruzca, disminución en la producción en aves adultas. Clínicamente las aves pueden padecer anemia, aunque en la mayoría de ocasiones esta es de un curso crónico y que permanece en un estado de premunición. (Campos & Pires, 2014).

4.1.5. Diagnóstico

El diagnóstico es realizado principalmente por la observación de esquizontes o gametocitos pigmentados dentro de los eritrocitos en un frote sanguíneo. (Soares, 1999) Otro método de diagnóstico es la observación de la presencia de esquizontes por medio de histopatología de los tejidos afectados como bazo, pulmón, hígado y de las células endoteliales. (Vashist, 2011) .

4.1.6. Prevención y Control

Depende del control de mosquitos que son los huéspedes definitivos del hemoprotozoario. (Quiroz, 1999)

4.2. Hemoproteosis en aves

Es la infección causada por hemosporidios del género *Haemoproteus* en los eritrocitos de gallinas y palomas, afectando principalmente órganos como pulmón, bazo e hígado. (Clark, Adlard, & Clegg, 2015)

4.2.1. Transmisión

Se transmite por la acción y picadura de mosquitos del género *Culicoides*, y para la presencia de *H. columbae* que parasita palomas, la transmisión se da por la mosca *Pseudolynchia canariensis*. (Davis, 1977)

4.2.2. Etiología

Existen al menos 173 especies de *Haemoproteus*, dentro de las cuales alrededor de unas 140 especies atacan a las aves. (Clark, Adlard, & Clegg, 2015)

4.2.3. Ciclo Evolutivo

Las aves se infectan por medio de la picadura de la picadura de mosquitos o de la mosca en el caso de palomas. Los esporozoitos pasan a la sangre junto con la saliva del vector, invaden las células del endotelio vascular del pulmón, bazo e hígado, se redondean, crecen y forman los esquizontes; se dividen por fisión binaria y forman los citómeros, crecen y después se dividen por fisión múltiple. Las células están hipertrofiadas y llenas de citómeros multinucleados. Los citómeros se liberan de las células endoteliales, son de forma irregular y pasan al flujo sanguíneo. Cada uno de estos citómeros se divide por fisión múltiple y libera gran cantidad de merozoitos al torrente sanguíneo del ave. Los merozoitos penetran en los glóbulos rojos y dan lugar a gametos masculinos y femeninos, crecen y ocupan la mayor parte del glóbulo rojo. Las moscas al succionar llevan los eritrocitos parasitados, en el estómago se liberan los gametos de los eritrocitos, los microgametos producen 4 o más elementos vermiformes por medio de exflagelación, en seguida se realiza la fecundación del macrogameto y se forma el oocineto, penetra en las células del intestino, crece, madura y produce gran cantidad de elementos fusiformes o esporozoitos. Los ooquistes se rompen y liberan los esporozoitos que pasan a las glándulas salivales donde se acumulan e infectan al nuevo huésped en el momento de alimentarse de sangre. (Quiroz, 1999)

4.2.4. Sintomatología y patogenia

La infección por *Haemoproteus* suele ser ligeramente patógena en la mayoría de infecciones en las aves, presentando únicamente lesiones como hepatomegalia y esplenomegalia. Sintomatológicamente la característica más relevante es la presencia de un leve cuadro de anemia. (Bowman, 2011)

4.2.5. Diagnóstico

Se realiza por medio de la observación de frotis sanguíneos observando la presencia de los gamontes que tienen forma de salchicha y los extremos en torno al núcleo de los glóbulos rojos. El diagnóstico también puede llevarse a cabo por medio de histopatología de los órganos afectados observando la presencia del hemosporidio en las células del endotelio vascular de pulmón, hígado o bazo. (Clark, Adlard, & Clegg, 2015).

4.2.6. Prevención y Control

Mantener un buen programa de control contra moscas y contra mosquitos para evitar la presencia de *Haemoproteus* dentro de la explotación. (Quiroz, 1999).

4.3. Leucocytozoonosis en aves

Infección causada por protozoos sanguíneos del género *Leucocytozoon* en los glóbulos blancos de las aves, siendo mayormente patógena en Anseriformes y Galliformes. (Ritchie & Harrison, 1997).

4.3.1. Transmisión

Este Género de hemosporidios utiliza como vectores a los mosquitos de la familia Simuliidae, conocidos vulgarmente como moscas negras. (Ritchie & Harrison, 1997)

4.3.2 Etiología

Las principales especies de este género que afectan a las aves son:

- L. simondi*
- L. smithi*

- *L. mansoni*. (Davis, 1977)

4.3.3. Ciclo Evolutivo

Los gametocitos maduros en las células sanguíneas del ave infectada son ingeridos por el vector. Posteriormente se produce la gametogénesis en el estómago del insecto inmediatamente después de la ingestión. Se da la fertilización con la producción de cigotos móviles llamados Ooquinetos, que están en reposo durante varias horas. Después estos ooquinetos penetran y se desarrollan hasta ooquistes dentro y en la superficie externa del estómago del díptero hematófago, hasta que se libera los esporozoitos. Estos se dirigen a las glándulas salivales y son inyectados en la corriente sanguínea de los nuevos hospedadores durante las posteriores alimentaciones del mosquito. Dentro del nuevo hospedador, los 7 esporozoitos invaden y se multiplican por esquizogonia en el interior de las células epiteliales o reticuloendoteliales. Se forman los merozoitos que pueden penetrar en las células sanguíneas y desarrollarse como gametocitos o experimentar una esquizogonia posterior. La esquizogonia no se da en los eritrocitos del ave hospedadora. (Davis, 1977).

4.3.4. Sintomatología y patogenia

El principal signo es anemia junto con la aparición de una hemólisis intravascular. Es altamente patógena en anseriformes y galliformes. Se han demostrado infecciones fatales con aparición de hepatomegalia, esplenomegalia, efusión pericárdica y congestión pulmonar principalmente apareciendo estas lesiones en pericas australianas. (Ritchie & Harrison, 1997).

4.3.5. Diagnóstico

El diagnóstico principalmente se realiza utilizando el método de frote sanguíneo observando la presencia de gametocitos despigmentados en los leucocitos deformados de las aves afectadas. (Santos & De Oliveira, 2011).

4.3.6. Prevención y control

Mantener la explotación libre de la presencia de mosquitos hematófagos, principalmente a los alrededores donde se encuentran las aves. (Quiroz, 1999).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

V.1. Materiales

5.1.1. Recursos Humanos

- Investigador
- 2 Médicos Veterinarios asesores de la investigación
- Personal auxiliar de campo
- Galponeros de granja semitecnificada
- Habitantes de las comunidades a muestrear

5.1.2. Recursos biológicos:

- 380 muestras sanguíneas de las aves a examinar

5.1.3 Materiales de Laboratorio

5.1.3.1. Frote Sanguíneo

- Laminas portaobjetos
- Metanol al 99%
- Colorante de Giemsa
- Separador de láminas portaobjetos
- cronómetro
- Microscopio de luz
- Aceite de inmersión

5.1.4. Recursos de Campo

- 76 Jeringas de 3 centímetros cúbicos
- Agujas 23 G X 1
- Media libra de algodón
- 300 ml de alcohol al 55%
- Tubos con anticoagulante EDTA
- Hielera
- Hielo o refrigerante

- Lapicero
- Libreta de apuntes

V.2. Métodos

5.2.1. Diseño del estudio

El tipo de estudio es descriptivo exploratorio ya que no existen antecedentes ni información para que el estudio sea de tipo comparativo, en el cual se determinará la presencia de hemoprotozoarios por medio de la prueba de frote sanguíneo con tinción de Giemsa, en las aves gallinas de traspatio y en las gallinas reproductoras de granja. Para determinar si existe asociación de infección entre granjas tecnificadas de no tecnificadas se utilizara la prueba de Chi tabulado.

La investigación se realizará en gallinas de traspatio ubicadas en aldeas cercanas de una granja de gallinas reproductoras, que está situada en el municipio de Sanarate, Departamento de EL Progreso, muestreando de igual manera a las aves de la granja. Las gallinas de traspatio serán seleccionadas de manera aleatoria en las viviendas de las aldeas aledañas a la granja de reproductores. Posteriormente se procederá a tomar las muestras de sangre, realizando un solo sangrado de las gallinas de traspatio y de las gallinas reproductoras para el estudio, para luego ser examinadas y comparadas en el laboratorio.

5.2.2. Muestreo

Al no contar con datos de prevalencia en la zona y con un total de población desconocida de gallinas de traspatio dentro de la región a ser investigada, se utilizará una herramienta en el programa de EpiDaT el cual sirve para determinar el número de gallinas de granja que deben muestrearse, por lo tanto se muestrearán 385 aves dentro del Municipio tomando en cuenta ambos grupos de aves. El número de gallinas de granja a muestrear es de 219 que es el número de gallinas que el programa indica que deben ser muestreadas al tener una población total de 10,000 aves, el número de aves de traspatio a ser muestreado es de 166 para completar el número total de aves que deben ser muestreadas al ser una población desconocida.

Las aves a muestrear dentro de la granja pertenecen a un lote donde anteriormente se presentó un problema de Viruela Aviar; por lo tanto se quiere descartar que los dípteros hematófagos no transmitieron hemoprotozoarios a las aves y que estén siendo afectadas con estos.

5.2.3. Metodología de Campo

La muestra de sangre para la realización del estudio será tomada de la vena braquial, en la superficie ventral de la región humeral en aves vivas, previamente se eliminarán las plumas de forma manual de la región, posteriormente una limpieza con algodón y alcohol para la desinfección del área donde se extraerá la muestra de sangre en las aves.

El volumen de sangre tomado aproximadamente es de 2 ml en cada sangrado, al ser extraída la sangre se depositará en los tubos de ensayo con anticoagulante EDTA, agitando suavemente el tubo para que la sangre se mezcle con el anticoagulante, previo a ser introducido el tubo dentro de la hielera con refrigerante para la conservación de la misma y ser transportada al laboratorio.

5.2.4. Metodología de Laboratorio

5.2.4.1. Método de Frote Sanguíneo

Se deben utilizar láminas libres de grasa. Posicionar la lámina portaobjetos en posición horizontal, colocar una gota de sangre en un extremo de la lámina portaobjetos. Posteriormente en 45 grados de inclinación colocar otra lámina portaobjetos sobre la gota, con un movimiento rápido extender la sangre de manera horizontal sobre todo el largo de la lámina. Se debe evitar frenar el movimiento ni hacer tracción mientras el frote sanguíneo es realizado.

El frote debe quedar con un espesor adecuado y uniforme. El frote no debe quedar ni grueso ni delgado, no debe quedar con espacios ya que si esto sucede no podrán observarse adecuadamente los glóbulos rojos, y por lo tanto no se podrán observar las inclusiones dentro de estos que revelarán la presencia de los

hemosporidios. Es recomendable realizar más de un frote por muestra para de esta manera seleccionar el mejor para posteriormente ser observado.

Después de finalizado el frote sanguíneo se procede a secarlo con aire corriente para luego fijarlo con metanol durante 1 minuto. La lámina que sea fijada con metanol puede colocarse en el separador de láminas mientras se preparan más frotos.

Luego de haber transcurrido el minuto se procede a colorear el frote con el colorante de Giemsa, dejando actuar el colorante durante 4 minutos. Observar el frote al microscopio en objetivo de inmersión, colocando una gota de aceite de inmersión en el inicio del frote, para poder ser observados los parásitos sanguíneos dentro de los eritrocitos.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

# DE AVES MUESTREADAS	#Positivos a <i>Plasmodium</i>	# Positivos a <i>Haemoproteus</i>	# de Positivos <i>Leucocytozoon</i>	Infestación Mixta
55	50	0	0	0
54	47	0	0	0
54	39	0	0	0
56	56	0	0	0
219	192			

Cuadro 1. Resultados a Hemoparásitos en aves de traspatio del Municipio de Sanarate.

# de aves muestreadas	#Positivos a <i>Plasmodium</i>	# Positivos a <i>Haemoproteus</i>	# de Positivos <i>Leucocytozoon</i>	Infestación Mixta
40	7	1	0	1 (<i>Plasmodium</i> y <i>Haemoproteus</i>)
24	21	0	0	0
37	34	0	0	0
33	33	0	0	0
32	31	0	0	0
166	126			

Cuadro 2. : Resultados obtenidos en reproductoras de granja:

Las aves muestreadas a *Plasmodium* en el municipio de Sanarate durante el periodo de estudio, tanto tecnificadas (T) como de traspatio (Tp) evidenciaron un porcentaje elevado de positividad (T: 87.67% y Tp: 75.90%) (Ver tabla 3). Se encontró solamente un ave de traspatio con presencia de *Haemoproteus*, la cual también estaba infectada con *Plasmodium*, siendo esta una infestación mixta.

Estudios en Guatemala para determinar presencia de *Plasmodium* en aves son escasos; por ejemplo: En el año 2012 Clara Haydee Quevedo efectúa una investigación con el propósito de determinar la presencia de este parásito en el municipio de la Gomera, Escuintla en aves *Gallus gallus* utilizando la prueba de PCR; en sus resultados ninguna de las aves muestreadas fue positiva a la infección, aunque también amplia que los resultados negativos pueden ser debidos a que el Kit de extracción no produce DNA puro y/o a que los cebadores no concordaron con el DNA molde. (Quevedo, 2012).

En el 2014 Plinio Orozco, realizó un estudio, con el objetivo de determinar la presencia de este hemoparásito en la totalidad de aves del zoológico nacional la Aurora incluyendo gallináceas; utilizando al igual que en la presente investigación tinción; del total de 287 aves muestreadas ninguna resultó positiva a la presencia de *Plasmodium*, aunque sus resultados negativos pudieron ser debidos a la época de muestreo que a diferencia de este estudio se realizó en la época de mayor presencia del vector, a la calidad de la muestra utilizada por Orozco, o que la capital se encuentra a una altitud de 1,500 metros sobre el nivel del mar, altitud referida como no adecuada para la presencia del parásito, mientras que el departamento de El Progreso en este estudio está ubicado a 518 metros sobre el nivel del mar. (Orozco, 2014).

A pesar que la presencia de *Plasmodium* se ha descrito en todos los continentes, (Elisei, 2000), este se convierte en el primera reporte de la infección en gallináceas en Guatemala.

En la gallina doméstica se ha descrito la infección con dos tipos de *Plasmodium* morfológicamente distintos *P. gallinaceum* (Haemaeoba) restringido al viejo mundo, parásito de grandes dimensiones que posee esquizontes redondeados o irregulares que dislocan el núcleo del eritrocito, y *P. juxtannucleare* (Noviella) que se ha reportado en varios países de América latina, Asia y África (Elisei, 2000).

Plasmodium juxtancleare se ha reportado en Brasil en explotaciones domiciliarias en Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espiritu Santo, Pará, Mato Grosso del sur y Pernambuco y en explotaciones tecnificadas en Rio de Janeiro. (Elisei, 2000), también se ha descrito la infección con *Plasmodium juxtancleare* en México en pollos del estado de Chiapas. (Quiroz, 1999). (Soares, 1999), en Uruguay y recientemente en Japon y Filipinas (Diseases of poultry by P. Serevinatva.

Los merozoitos de *P. Juxtancleare* ocurren muy cercanos al núcleo y los gametocitos son redondos y pequeños, se asemeja al *P. japonicum*. Los gametocitos de *P. gallinaceum* son grandes irregulares y desplazan el núcleo.

El nombre específico del *P. juxtancleare*, refleja la posición juxtanclear de los estados asexuales sanguíneos, y los gametocitos jóvenes de este parásito. (Valkiunas, 2004).

Debido a la morfología observada en los frotis: parasito muy cercano al núcleo sin desplazarlo y por la distribución geográfica referida, se puede inferir que el hemoparásito causante de malaria en Guatemala corresponde a *Plasmodium juxtancleare* aunque se recomienda realizar estudios moleculares para comprobarlo.

Al momento de la toma de muestra ninguna de las aves manifestó sintomatología propia de la enfermedad, ni se determinó incremento en la mortalidad, coincidiendo con los resultados de Poulman (Poulman, 2005), en el 2005 quien al infectar experimentalmente pollos con *Plasmodium gallinaceum* por la vía natural (mosquito), observa que las aves desarrollan clínicamente parasitemia, que se resuelve sin presentarse mortalidad y sin ninguna intervención, aunque se refiere que los signos clínicos pueden depender de la cepa involucrada.

La determinación de la presencia de parásitos en sangre se asocia a la parasitemia, la cual se encuentra en su límite máximo entre 7 y 12 días después de la infección, en la cual están parasitados entre el 50 a 90% de los eritrocitos, que

coincidió en nuestra investigación, ya que después de este periodo el porcentaje es menor, aunque los frotis permanecen positivos según la literatura hasta 93 días post infección. (Orozco, 2014).

Para determinar la asociación entre la infección con *Plasmodium* en las aves tecnificadas con las no Tecnificadas se realizó el análisis estadístico de Chi cuadrado. En la presente investigación se encontró que existió asociación entre la presencia de *Plasmodium* en granjas No tecnificadas y tecnificadas, por lo que se acepta la Hipótesis alterna con un 95% de confianza.

Se asume que el origen de la infección entonces sean las explotaciones de aves no tecnificadas, debido que la mayoría de ellas deben agenciarse su alimento deambulando en los alrededores de sus viviendas, adicionalmente en las granjas tecnificadas se toman las medidas de bioseguridad adecuadas tales como evitar la presencia de agua estancada y el exceso de vegetación.

TIPO DE AVICULTURA	%Positivo a Plasmodium	%Negativo a plasmodium	TOTAL
Reproductoras de Granja	87.67%	12.33%	219
Traspatio	75.90%	24.09%	166

Cuadro 3. : Resultados en Porcentajes del género *Plasmodium* en los dos grupos de aves muestreadas.

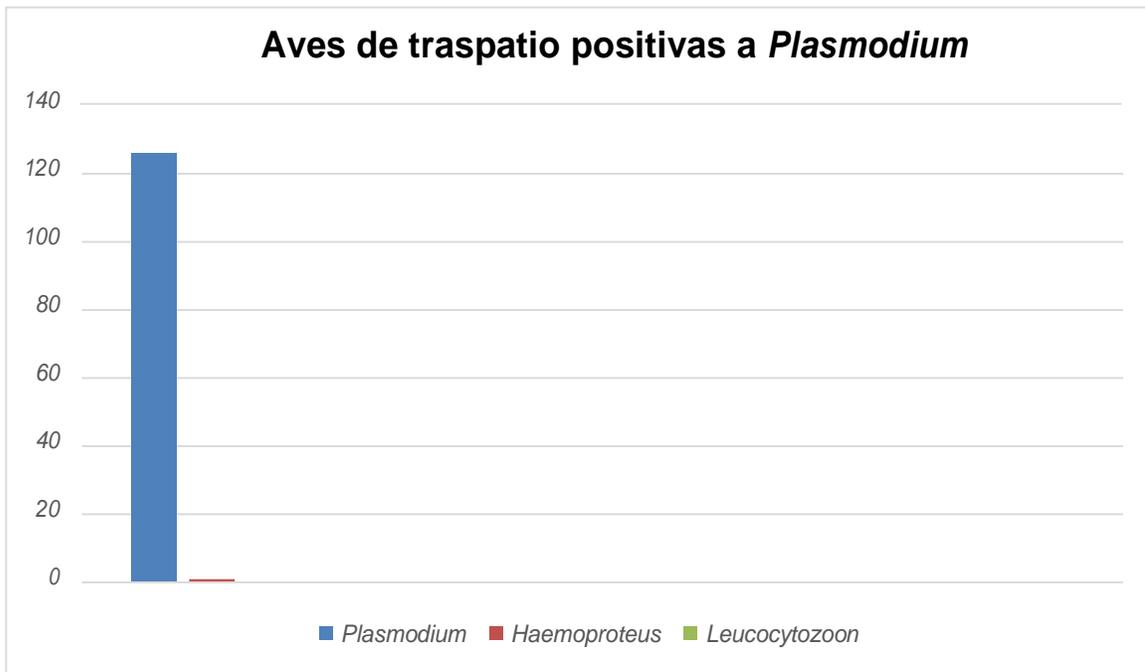


Gráfico 1: resultados obtenidos en aves de traspatio.

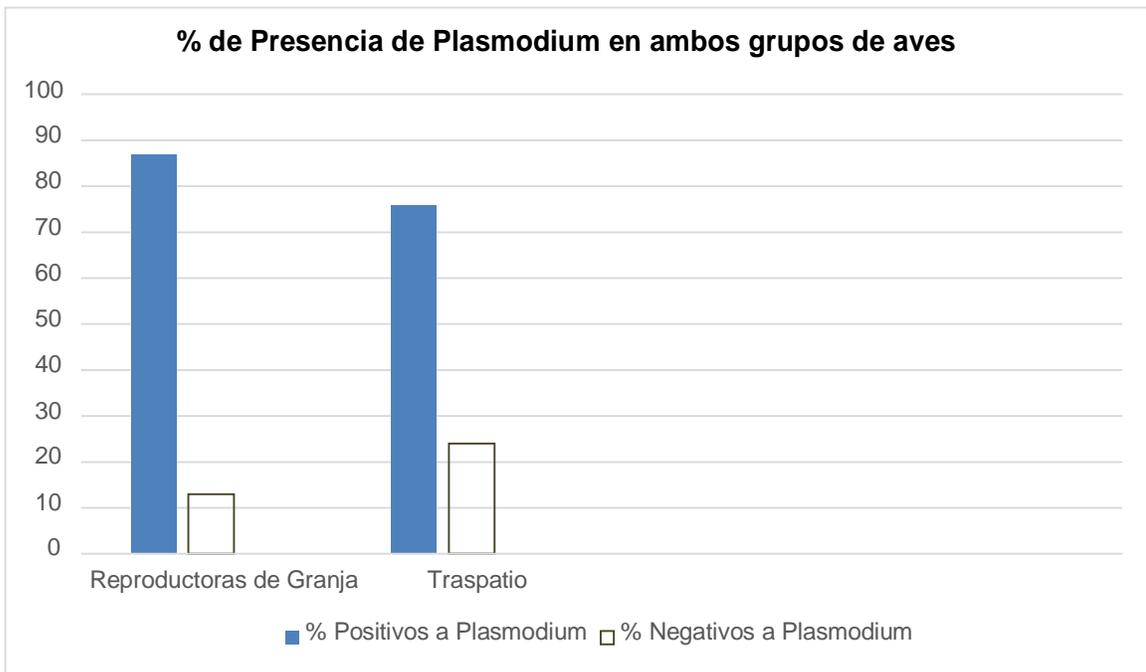


Gráfico 2: Porcentaje de presencia de *Plasmodium* en ambos grupos de aves.

6.1. Método estadístico (Chi cuadrado)

	Tecnificada	No tecnificada
Positivos	192	126
Negativos	27	40

X-squared = 9.0968

df = 1

p-value = 0.002561

	Tecnificada	No tecnificada
Positivos	180.88831	137.11169
Negativos	38.11169	28.88831

X-squared = 9.0968

df = 1

p-value = 0.002561

Chi tabulada 7.81 al 95% de confianza. Como el resultado de Chi tabulado es menor que el calculado:

Se acepta la H_a : Los valores observados son iguales a los esperados, es decir hay asociación entre la presencia de *Plasmodium* en granjas no tecnificadas y tecnificadas.

.

VII. CONCLUSIONES

- Las aves muestreadas en el municipio de Sanarate durante el periodo de estudio, tanto tecnificadas, como de traspatio evidenciaron un porcentaje elevado de positividad a *Plasmodium*.
- Se encontró solamente un ave con presencia de *Haemoproteus*, la cual también estaba infectada con *Plasmodium* (infestación mixta).
- Del género *Leucocytozoon* no hay resultados ya que ningún ave mostró presencia de este parásito con el método de diagnóstico utilizado.
- A pesar que esta es una enfermedad de países tropicales, este es el primer reporte de *Plasmodium* en granjas tecnificadas en Guatemala.
- En las aves afectadas no se determinó el grado de infestación, únicamente positividad o negatividad.
- Los valores observados son iguales a los esperados, es decir hay asociación entre la presencia de *Plasmodium* en granja tecnificada y en las aves de traspatio.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar otros estudios para determinar la distribución de *Plasmodium* en los diferentes departamentos de Guatemala.
- Confirmar por métodos moleculares la presencia de *Plasmodium juxtannucleare*.
- En la granja tecnificada realizar periódicamente pruebas de rutina para la detección de hemosporidios ya que las aves de la explotación estudiada están siendo afectadas con *Plasmodium*.
- Controlar la población de aves de traspatio aledañas a la granja de las aves reproductoras.

IX. RESUMEN

Actualmente no existen estudios registrados en el país sobre la presencia de hemoprotozoarios en aves, por lo tanto no existen datos de prevalencia relacionados con éstos. Las aves afectadas con *Haemoproteus* presentan anemia principalmente, las afectadas con *Leucocytozoon* adicionalmente presentan hemólisis intravascular y es considerada altamente patógena en galliformes. La presencia de *Plasmodium* en aves ocasiona signos como anorexia, depresión, vómitos, disnea y leves problemas nerviosos. En la granja de reproductoras, en ocasiones se observa retraso en el crecimiento durante la etapa de levante de las pollas y lento aumento al inicio de la postura en las aves aparentemente sanas; a la necropsia no presentan ninguna lesión que evidencia que el problema es ocasionado por alguna enfermedad infecciosa de otro tipo y que podrían ser ocasionados por hemoparásitos; además hay que considerar que el diagnóstico de hemoparásitos no se realiza como una prueba rutinaria en aves. En el presente estudio se determinará la presencia de tres géneros de hemoprotozoarios: *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* y *Plasmodium* en gallinas de cinco aldeas y una granja de reproductoras del municipio de Sanarate, El Progreso. Además se determinará si existe asociación de infección por hemoprotozoarios entre las gallinas de traspatio y las reproductoras de granja. Se extraerán muestras de sangre de las aves de traspatio y de la granja y serán procesadas en el laboratorio de Parasitología de la FMVZ, mediante el método de frote sanguíneo. El tamaño de muestra será de 385 gallinas. Esta población fue calculada con una confianza de 95% y 5% de error para una población de tamaño desconocido; para este propósito se utilizó el programa EpiDat. Las aves a muestrear dentro de la granja pertenecen a un lote donde anteriormente se presentó un problema de Viruela Aviar; por lo tanto se desea descartar que los dípteros hematófagos no son transmisores de hemoprotozoarios a las aves y que están siendo afectadas con estos.

SUMMARY

Currently there are no studies registered in the country on the presence of hemoprotozoa in birds, therefore there are no prevalence data related to them. Birds affected with *Haemoproteus* present anemia mainly, those affected with *Leucocytozoon* additionally present intravascular hemolysis and is considered highly pathogenic in galliforms. The presence of Plasmodium in birds causes signs such as anorexia, depression, vomiting, dyspnea and mild nervous problems. In the reproductive farm, growth retardation is occasionally observed during the lifting phase of the cocks and slow increase at the beginning of the laying in apparently healthy birds; at necropsy they do not present any lesion that shows that the problem is caused by an infectious disease of another type and that they could be caused by hemoparasites; In addition, it must be considered that the diagnosis of hemoparasites is not performed as a routine test in birds. In the present study, the presence of three hemoprotozoan genera: *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* and Plasmodium in chickens from five villages and a reproducers farm in the municipality of Sanarate, El Progreso will be determined. In addition, it will be determined if there is an association of infection by hemoprotozoa between the backyard hens and the farm reproducers. Blood samples will be taken from the backyard and farm birds and will be processed in the Parasitology laboratory of FMVZ, using the blood-rubbing method. The sample size will be 385 chickens. This population was calculated with a confidence of 95% and 5% error for a population of unknown size; For this purpose the EpiDat program was used. The birds to be sampled within the farm belong to a lot where a problem of Avian Pox was previously presented; therefore, we wish to rule out that hematophagous diptera are not transmitters of hemoprotozoa to birds and that they are being affected by them.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bowman, D. (2011). *Georgis Parasitología para veterinarios*. España: Elsevier.

Campos, S., & Pires, J. (2014). Analysis of hematologic and serum chemistry values of *Spheniscus magellanicus* with molecular detection of avian malarial parasites (*Plasmodium* spp.). *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 34, 843-856. doi: 10.1590/S0100-736X2014001200016

Clark, N.J., Adlard, R.D., Clegg, S.M. (2015). Molecular and morphological characterization of *Haemoproteus* (Parahaemoproteus) *ptilotis*, a parasite infecting Australian honeyeaters (Meliphagidae), with remarks on prevalence and potential cryptic speciation. *Parasitol*, 27, 235-240. doi: 10.1007/s00436-016-5099-x

Davis, J. (1977). *Enfermedades infecciosas y parasitarias de las aves silvestres*. España: Acribia.

De la Mora, A., & Granados, A. (2007). Distribución geoespacial del mosquito *Culex quinquefasciatus* (diptera: *Culicidae*) principal vector del virus del oeste del nilo, en la zona urbana de ciudad Juárez, Chihuahua, México. . *RESPYN*, 8(2), 1018-1028.

Elisei, Karina. (2000). Criopreservación de *Plasmodium (Novyella) juxtannucleare* con glicerol. *Parasitología al día*, 24, 22-26. doi: 10.4067/S0716-07202000000100003

Fecchio, A., Marini, M., & Braga, É. (2007). Low prevalence of blood parasites in Cerrado birds, Central Brazil. *Neotropical Biology and Conservation*. 1, 7-15. doi: 10.1590/S1984-29612012000100003

Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Baptista Lucio, P. (2003). *Conceptos Básicos de Investigación*. México D.F.: McGraw-Hill Interamericana.

Orozco, Plinio. (2014). *Determinación de la presencia de malaria en aves del Zoológico Nacional la Aurora*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Poulman, A. (2005). *Plasmodium gallinaceum*: clinical progression, recovery, and resistance to disease in chickens infected via mosquito bite. *Revista de Biología Tropical*, 73(6), 1104-1107.

Quevedo, Haydeé. (2012). *Diagnóstico de paludismo aviar en pollos (Gallus gallus) a través de la técnica de PCR convencional en el municipio la Gomera, departamento de Escuintla, Guatemala*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Quiroz, H. (1999). *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. España: Limusa.

Rodríguez, O., Moya, H., & Matta, N. (2009). Avian blood parasites in the National Natural Park Chingaza: high Andes of Colombia. *El Hornero*. 24(1), 1-6.

Sánchez, V. (2011). *vigilancia entomológica de aedes aegypti linnaeus, 1762 (diptera: culicidae) transmisor del virus deldengue en el distrito de villa el salvador durante los meses de enero-junio del 2011*. Universidad Ricardo Palma, Lima, Perú.

Santos, T., & De Oliveira, J. (2011). Health of an ex situ population of raptors (Falconiformes and Strigiformes) in Mexico: diagnosis of internal parasites. *Revista de Biología Tropical*, 3, 1265-74. doi: 10.15517/rbt.v0i0.3397

Soares, Cleber. (1999). Parasitismo de leucocitos y trombocitos de *Gallus gallus* por *Plasmodium (Novyella) juxtannucleare* (Apicomplexa: Plasmodiidae). *Parasitología al día*, 23, 2-10. doi: 10.4067/S0716-07201999000100008

Valkiunas, Gediminas. (2004). Avian Malaria Parasites and other Haemosporidia. *CRS PRESS*, 17, 714-715. doi: 10.1186/s12936-018-2385-3

Vashist, U. (2011). *Hepatic profile of Gallus gallus Linnaeus, 1758 experimentally infected by Plasmodium juxtannucleare*. España: Elsevier.

XI. ANEXOS

11.1. Fichas para toma de datos.

AVES DE TRASPATIO

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

Fecha:

Aldea:

PROPIETARIO	# DE AVES	# DE POSITIVOS <i>Plasmodium</i>	# DE POSITIVOS <i>Haemoproteus</i>	# DE POSITIVOS <i>Leucocytozoon</i>	INFESTACIÓN MIXTA

FIRMAS:

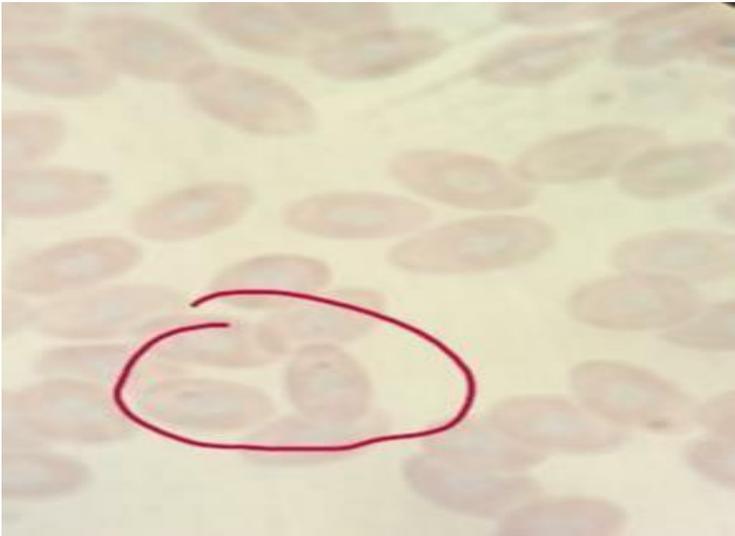
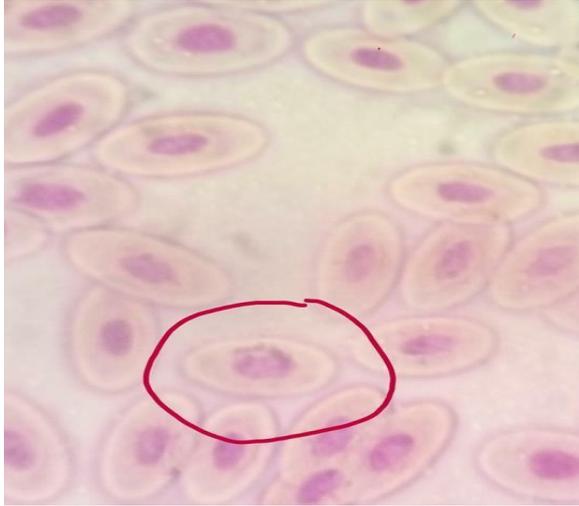
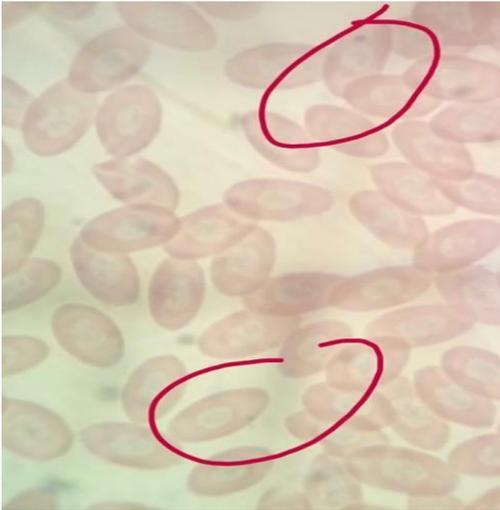
REPRODUCTORAS DE GRANJA

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

FECHA:

SECTOR	# DE LOTE	# DE AVES MUESTREADAS	# DE POSITIVOS <i>Plasmodium</i>	# DE POSITIVOS <i>Haemoproteus</i>	# DE POSITIVOS <i>Leucocytozoon</i>	INFESTACION MIXTA

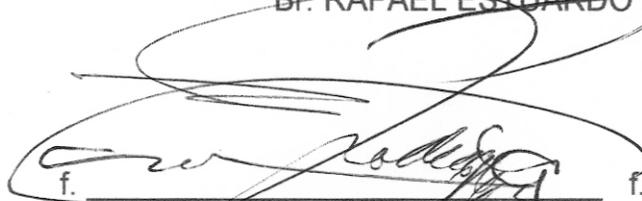
11.2. Muestras positivas a *Plasmodium*.



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

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE HEMOPROTOZOARIOS,
A TRAVÉS DEL MÉTODO DE FROTE SANGUÍNEO EN GALLINAS
DE TRASPATIO Y REPRODUCTORAS DE GRANJA EN EL
MUNICIPIO DE SANARATE, DEPARTAMENTO DE EL PROGRESO,
EN EL PERÍODO DE **ABRIL A JULIO, 2018**

f. 
Br. RAFAEL ESTUARDO JOSUE AROCHA LOPEZ

f. 
M.A. Manuel Eduardo Rodriguez Zea
ASESOR PRINCIPAL

f. 
M.sc. Lucero Serrano Arriaza
ASESOR

f. 
M.A. Ludwing Estuardo Figueroa Hernández
EVALUADOR

IMPRIMASE

f. 
M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
DECANO

