

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

**“DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA EL VIRUS DE  
INFLUENZA AVIAR EN AVES DEL CENTRO DE REHABILITACIÓN DE VIDA  
SILVESTRE ARCAS, FLORES PETÉN GUATEMALA”**



**DANIEL ANTONIO LARA RIVERA**

**GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2008**

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

**“DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA EL VIRUS DE  
INFLUENZA AVIAR EN AVES DEL CENTRO DE REHABILITACIÓN DE VIDA  
SILVESTRE ARCAS, FLORES PETÉN GUATEMALA”**

**TESIS**

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS  
DE GUATEMALA

**POR**

**DANIEL ANTONIO LARA RIVERA**

AL CONFERÍRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE

**MÉDICO VETERINARIO**

**GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2008**

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

<b>DECANO:</b>	Lic. Zoot. Marco Vinicio de la Rosa Montepeque
<b>SECRETARIO:</b>	Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina
<b>VOCAL I:</b>	Med. Vet. Yeri Edgardo Véliz Porras
<b>VOCAL II:</b>	Mag. Sc. M.V. Fredy Rolando González Guerrero
<b>VOCAL III:</b>	Med. Vet. Mario Antonio Motta González
<b>VOCAL IV:</b>	Br. David Granados Dieseldorff
<b>VOCAL V:</b>	Br. Luis Guillermo Guerra Bone

**ASESORES**

Mag. Sc. Dennis Guerra Centeno  
Med. Vet. David Morán Villatoro  
Med. Vet. Lucero Serrano

# **HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

**En cumplimiento a lo establecido por los estatutos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a consideración de ustedes el trabajo de tesis titulado**

**“DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CIRCULANTES CONTRA EL VIRUS DE INFLUENZA AVIAR EN AVES DEL CENTRO DE REHABILITACIÓN DE VIDA SILVESTRE ARCAS, FLORES PETÉN GUATEMALA”**

**EL CUAL FUERA APROBADO POR LA JUNTA DIRECTIVA DE LA**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**PREVIO A OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE**

**MÉDICO VETERINARIO**

## **ACTO Y TESIS QUE DEDICO**

**A Dios:** mi poder superior ya que mi vida se encuentra a su cuidado.

**A mi madre:** Lilian Rivera quien es el reflejo del amor de Dios en mi vida, que me dio su cuidado y abnegación además de ser un ejemplo de trabajo y perseverancia.

**A mi padre:** Jaime Lara, mi mejor amigo.

**A mis hermanas:** Katty y Helena, quienes me han apoyado siempre.

**A mis hermanos:** Juan Pablo y Andrés ya que me inspiran a seguir adelante.

**A mis cuñados:** Mélvín Palomo y Fernando Coronado un hermano más, quien me brindo constantemente sus consejos y ha sido para mí un vivo ejemplo.

**A mis sobrinos:** Tutty, Laurita, Carlitos y Pily por creer en mí.

**A mi novia:** Natascha Bachman, por llegar a mi vida en el momento justo.

**A mi grupo de apoyo:** en especial a mi tía Lizett Lara.

**A mis compañeros universitarios:** Alvaro del Valle, Jorge Melgar, Sergio Joachin, Juan Carlos Echeverría, Luis Benard, Jorge González, Susana Berganza, Clelia Veras, Juan José Azmitia, Alejandro Acevedo, Alfonso Córdova y Victoria Alkijay.

**A mis amigos:** Alejandro del Valle, Hugo Azzari, Jorge Arrazola, Mario Escobar, Eduardo Padilla, Rudy Solares, Douglas Medina y muy en especial a Marcos Zeceña cuyas palabras de apoyo fueron mi motivación por mucho tiempo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por permitirme vivir un día a la vez.

A toda mi familia y muy en especial a mi Madre Lilian cuyas plegarias hicieron posible este sueño y a mi padre Jaime por su apoyo incondicional a lo largo de toda mi vida.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A todos mis catedráticos por compartir sus conocimientos en especial al Dr. Juan Pablo Calderón mi maestro y amigo.

A mis asesores y al departamento de Vida Silvestre por toda su ayuda y dedicación.

Al personal de trabajo del Centro de Rehabilitación de Vida Silvestre Arcas, Petén, en especial a Tirso Chablé.

A mis padrinos de promoción.

# ÍNDICE

<b>I. INTRODUCCION</b>	1
<b>II. HIPOTESIS</b>	2
<b>III. OBJETIVOS</b>	3
3.1 General	3
3.2 Específicos	3
<b>IV. REVISION DE LITERATURA</b>	4
4.1. Generalidades	4
4.1.1. Información taxonómica de los psitácidos	4
4.1.1.1 <i>Ara macao</i>	4
4.1.1.2 <i>Amazona autumnalis</i>	5
4.1.1.3 <i>Amazona farinosa</i>	5
4.1.1.4 <i>Amazona albifrons</i>	5
4.1.1.5 <i>Pionus senilis</i>	5
4.2 Influenza Aviar	5
4.2.1. Definición	5
4.2.2 Sinónimos	6
4.2.3 Historia	6
4.2.4 Etiología	6
4.3. Virus de influenza aviar en aves silvestres	8
4.4. Centro de rescate arcas	11
4.4.1 Ubicación	11
4.4.2 Historia	11
<b>V. MATERIALES Y METODOS</b>	13
5.1 MATERIALES	13
5.1.1 <b>MATERIAL BIOLÓGICO</b>	13

5.1.2	<b>RECURSOS HUMANOS</b>	13
5.1.3	<b>MATERIALES DE CAMPO</b>	13
5.1.4	<b>MATERIALES DE LABORATORIO</b>	14
<b>5.2</b>	<b>MÉTODOS</b>	15
5.2.1	Área de estudio	15
5.2.2	Criterios de inclusión	15
5.2.3	Captura	15
5.2.4	Toma de muestra	16
5.2.5	Determinación de especie, sexo y edad	16
5.2.6	Transporte y conservación de la muestra	17
5.2.7	Análisis de laboratorio	17
5.2.8	Registro de los datos	17
5.2.9	Análisis Estadístico	17
<b>VI.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSION</b>	19
<b>VII.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	21
<b>VIII.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	22
<b>IX.</b>	<b>RESUMEN</b>	23
<b>X.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA</b>	24
<b>XI.</b>	<b>ANEXOS</b>	26

## I. INTRODUCCIÓN

La influenza aviar es una enfermedad muy compleja que afecta en forma natural a una gran diversidad de huéspedes. Se ha detectado en 12 órdenes diferentes de aves, entre ellas especies domésticas y silvestres incluyendo psittácidos. Esta enfermedad es causante de pérdidas económicas millonarias en la industria avícola además de ser una zoonosis de gran importancia de acuerdo a la cepa que se encuentre presente.

El estudio de la vida silvestre en el campo de la Medicina Veterinaria es muy limitado en nuestro país, a pesar de la importancia que estas especies juegan como reservorios de enfermedades. En el caso de la influenza aviar existe un monitoreo en diferentes taxa de aves, sobre todo domésticas y algunas especies silvestres (migratorias acuáticas y no acuáticas). Pero no así en loros ni guacamayas.

En nuestro medio no existe suficiente información sobre el estado sanitario de los psitácidos, por lo que es importante generar información acerca de la presencia de enfermedades en la población de estos.

Con este estudio investigué la presencia de anticuerpos circulantes contra el virus de Influenza aviar en las aves del centro de rescate de vida silvestre ARCAS, las cuales se encuentran en un proceso de rehabilitación para que en algún momento puedan ser reintroducidas a su hábitat natural.

## II. HIPÓTESIS

- Los anticuerpos contra virus de Influenza aviar están presentes en la mayoría de aves evaluadas.
- No hay efecto del taxón, edad, especie y sexo de las aves muestreadas sobre la distribución de anticuerpos en las mismas.

## **III. OBJETIVOS**

### **3.1 General**

- Generar información que contribuya al conocimiento de la epidemiología de la influenza aviar.

### **3.2 Específicos**

- Investigar por medio de pruebas serológicas la presencia de anticuerpos contra virus de Influenza Aviar en aves del centro de rehabilitación de vida silvestre ARCAS, Flores Petén, Guatemala.
- Determinar títulos de anticuerpos en aves positivas.
- Determinar si existe efecto del taxón, edad, especie y sexo de las aves muestreadas sobre la distribución de anticuerpos en las mismas

## IV. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1 GENERALIDADES FAMILIA PSITTACIDAE

El orden Psittaciformes incluye aproximadamente 350 especies de aves que generalmente se agrupa en dos familias: los Cacatuidae o cacatúas, y los Psittacidae o loros verdaderos (Alderton, 1991).

El término loro generalmente se usa para el orden entero. Todos los miembros del orden tienen una característica común que es la forma encorvada del pico, con la mandíbula superior con movilidad ligera en la unión con el cráneo. El mayor número de especies de loros está en Australia, Sur América y Centro América (Alderton, 1991).

#### 4.1.1 Información taxonómica de los Psitácidos

Reino	<i>Animalia</i>
Subreino	<i>Eumetazoa</i>
Rama	<i>Bilateria</i>
Filo	<i>Chordata</i>
Subfilo	<u><i>Vertebrata</i></u>
Superclase	<i>Gnathostomata</i>
Clase	<u><i>Aves</i></u>
Subclase	<i>Neornithes</i>
Superorden	<u><i>Neognathae</i></u>
Orden	<u><i>Psittaciformes</i></u>
Familia	<u><i>Psittacidae</i></u>

##### 4.1.1.1 *Ara macao*

Subfamilia	<u><i>Psittacinae</i></u>
Género	<i>Ara</i>
Especie	<i>Ara macao</i>

#### 4.1.1.2 *Amazona autumnalis*

Subfamilia	<u>Psittacinae</u>
Género	Amazona
Especie	<i>Amazona autumnalis</i>

#### 4.1.1.3 *Amazona farinosa*

Subfamilia	<u>Psittacinae</u>
Género	Amazona
Especie	Amazona farinosa

#### 4.1.1.4 *Amazona albifrons*

Subfamilia	<u>Psittacinae</u>
Género	Amazona
Especie	Amazona albifrons

#### 4.1.1.5 *Pionus senilis*

Subfamilia	Psittacinae
Genero	Pionus
Especie	Pionus senilis

## 4.2 INFLUENZA AVIAR

### 4.2.1 Definición:

Enfermedad infecciosa, altamente contagiosa causada por un virus de tipo A perteneciente a la familia Orthomixoviridae. Afecta aves, humanos y diversas especies de mamíferos. Provoca afecciones en aparato respiratorio, sistema digestivo y nervioso (Memorias, 2001).

#### **4.2.2 Sinónimos:**

Peste Aviar, Influenza Aviar Altamente Patógena (IAAP), Influenza Letal, Plaga aviar. Y la más reciente Gripe del Pollo (Memorias, 2001)

#### **4.2.3 Historia:**

La primera cita de la influenza corresponde a Hipócrates padre de la medicina, quien en el año 412 AC describe una enfermedad respiratoria identificada al comienzo del solsticio de invierno, cuya aparición está precedida por cambios marcados en la dirección del viento (Memorias, 2001).

La Influenza aviar altamente patógena (IAAP) conocida anteriormente como peste aviar, estaba ampliamente difundida en Europa a finales del siglo XIX y principios del XX y fue reportada en los Estados Unidos de América en la década de 1920 (Memorias, 2001)

En el año de 1983 se detectó en Estados Unidos un virus de Influenza Aviar Tipo A (H5 N2) de baja patogenicidad que luego se tornó altamente patógeno debido a una mutación o serie de mutaciones en el gen de la hemoaglutinina; este brote se logró erradicar con éxito (Slemons, 1983).

En México en 1994 se confirma el aislamiento de un virus de Influenza Aviar H5 N2 en los estados del centro del país (Memorias, 2001).

#### **4.2.4 Etiología:**

Se clasifica al virus de la influenza en la familia Orthomyxoviridae, palabra originada en el latín que significa ortos=verdadero y myxo=moco o sea, la habilidad del virus de unirse al moco (Hawkins et al. 2006).

En la envoltura del virus se encuentran ancladas dos glicoproteínas en forma de espículas, la hemaglutinina (H) que predomina y la neuraminidasa (N), en menor número que la hemaglutinina. La Hemaglutinina constituye el antígeno principal del virus, estimulando la producción de anticuerpos neutralizantes específicos (Branson, 1995 ).

Las epidemias de influenza se relacionan con cambios en su estructura antigénica (Branson, 1995, Cardona, 2003 ).

Una singularidad de los virus de influenza aviar es su capacidad de mutación, utilizando cualquiera de los siguientes mecanismos:

- Mutaciones puntuales (antigenic drift)
  - Reasociación genética (antigenic shift).
- Partículas defectivas de interferencia
  - Recombinación del RNA

Ello les permite transformarse, a partir de un virus de baja patogenicidad o apatógeno, en un virus de alta patogenicidad con las consecuencias fatales que esto implica complicando además la producción efectiva de vacunas, pues al ocurrir un cambio estructural en el virus las vacunas preparadas contra éste son ineficaces para proteger del virus de una nueva creación (Branson, 1995).

Los cambios estructurales relacionados con la formación de anticuerpos neutralizantes de influenza, ocurren fundamentalmente en la hemaglutinina y en la neuraminidasa del virus. Se reconocen 16 diferentes de la primera y 9 de la segunda (OIE, 2,005).

Las hemagglutininas tienen la característica de combinarse con las neuraminidasas. Por ejemplo, la hemagglutinina H1 se combina con una neuraminidasa N1 formando el virus H1N1. La misma hemagglutinina H1 se puede combinar con la neuraminidasa N2 y formar un virus H1N2, después la H1 con N y así sucesivamente hasta formar 9 diferentes virus de la hemagglutinina H1 con las 9 neuraminidasas (Branson, 1995, Memorias 2,001).

En teoría, las posibles combinaciones de las 16 hemagglutininas con las 9 neuraminidasas pueden dar lugar a la formación de 256 o más virus diferentes de influenza, cada uno con características antigénicas específicas. La patogenicidad de los diversos serotipos virales varían grandemente, no sólo entre un serotipo y otro, sino también en un mismo serotipo puede existir formas de alta, mediana o baja patogenicidad (Branson, 1995, OIE 2,005).

#### **4.3 VIRUS DE INFLUENZA AVIAR EN AVES SILVESTRES**

Se ha demostrado que pavos, patos, cotorros, cuervos, orioles, loros amazonas, pinzones, carpinteros, zanates, búhos y cacatúas han sido infectados naturalmente con una larga variedad de cepas de influenza tipo A y que estos pueden servir de reservorio para la actividad viral. La influenza tipo A ha sido aislada de aves psitácidas en Estados Unidos y Canadá (Alexander, 1984, Hawkins et al. 2006).

Existe evidencia de que los 16 subtipos de virus de influenza se perpetúan en la población de aves acuáticas del mundo, especialmente en patos, aves zancudas playeras y gaviotas pero muy especialmente en patos silvestres de quienes se han aislado la enorme mayoría de los subtipos antigénicos. Estas aves pueden transmitirlo a otras, así como a animales mamíferos y al hombre (Memorias, 2001, OIE, 2,005).

La sobrevivencia del virus de influenza en aves acuáticas, a diferencia de lo que ocurre en los humanos, obedece a que un enorme número de aves susceptibles, nacidas en la primavera aumentan la población aviar en las regiones boreales (Slemons, 1983).

El virus se ha aislado de patos silvestres, así como del agua de los estanques y lagunas en donde habitan durante el otoño. Es posible que el virus permanezca viable en el agua congelada de los lagos y reinfecte a los patos jóvenes, en la primavera (Slemons, 1983).

Por otra parte, ninguno de los virus de influenza A aislados en patos silvestres produce síntomas de la enfermedad en estas especies, tal vez porque el virus de la influenza en los anátidos representa un ejemplo perfecto de simbiosis parasito-huésped, que evolucionó durante siglos (Slemons, 1983).

Esta adaptación exitosa y la relación genética de las especies aviarias apoyan la posibilidad de que los virus de influenza en patos silvestres sean la fuente principal de los virus de influenza en la naturaleza. Solo en las aves se han reconocido las 16 hemaglutininas y las 9 neuraminidasas identificadas hasta hoy (Memorias, 2001, OIE, 2,005).

El mayor número de serotipos del virus de Influenza aviar se encuentra en forma natural entre el grupo de aves acuáticas migratorias, en cuyo orden de importancia destacan: Anseriformes, Charadriiformes y en menor escala otros ordenes tales como Procellariiformes, Pelecaniformes, etc. En ellos se han encontrado todos los hemoaglutininas conocidas del Virus de Influenza aviar exceptuando la HA-13, que únicamente se a reportado en gaviotas y ballenas, así mismo, en éstos animales se han detectado todas las 9 Neuraminidasas del virus de la Influenza (Johnston, 1991).

Se puede pensar que los virus de Influenza Aviar de tipo A son parte de la flora normal de estas aves y no les causa trastorno alguno. La infección se perpetúa en las lagunas, lagos, esteros del Ártico, donde año con año las aves se congregan por millones. Las deyecciones de los patos infectados contaminan con el virus de influenza estos lugares (Memorias, 2001)

Las aves juveniles nacidas durante el verano ártico siguen a los adultos y terminan su desarrollo en las lagunas contaminadas, infectándose de esta manera (Memorias, 2001).

Cuando el otoño empieza a congelar los lagos, las aves emigran al sur. Las bajas temperaturas reinantes en la tundra de  $-30^{\circ}\text{C}$  o menos favorecen la sobrevivencia de los Virus de Influenza Aviar así se infectarán los juveniles que nazcan en el siguiente verano, perpetuándose el ciclo (Memorias, 2001).

La influenza aviar ya ha sido reportada en loros del género *Amazonas* en los Estados Unidos de América. Posteriormente una caracterización genómica del virus fue realizada dando como resultado alta homología con los virus presentes en México y Centro América. Los análisis de aislamiento genético revelan que definitivamente este caso esta muy relacionado con la línea viral H5N2 que se ha transformado endémica de algunas partes de México, Guatemala, y El Salvador (Alexander, 1998, Hawkins et al. 2,006).

En la mayoría de los casos en los que el virus de influenza aviar ha sido aislado en psitácidos este ha sido en aves enjauladas, en estaciones de cuarentena durante su importación siendo los tipos de mayor prevalencia los H3 y H4 (Slemons, 1983).

La infección de poblaciones de aves con ciertos subtipos de virus A de influenza aviar plantea riesgos de infecciones zoonóticas en humanos, se han

reconocido infecciones con los subtipos H5N1 así también como con los subtipos H9 y H7. Siendo las más frecuentes las primeras (OMS, 2008).

Durante 1997 y 1998 virus de influenza del tipo H9N2 fueron aislados de dos loros de la India (*Psittacula dranieri manillensis*) importados de Pakistán hacia Japón, con aproximadamente un año de anterioridad. Estos eran genéticamente muy cercanos con más del 97% de identidad con los virus H9N2 aislados de humanos en Hong Kong en el año de 1999. Estos hallazgos sugieren que los virus de influenza de tipo A de potencial transmisión para el humano pueden circular también en poblaciones de aves psitácidas (Hawkins, et. al. 2006).

Los virus de influenza aviar de tipo A han sido detectados en psitácidos con infecciones sub clínicas como de aves que paralelamente o luego de una depresión aguda, demuestran signos de enfermedad neurológica o signos clínicos asociados con el tracto respiratorio (Johnston, 1991).

#### **4.4 CENTRO DE RESCATE ARCAS**

##### **4.4.1 Ubicación**

Departamento de Petén, municipio de Santa Elena, aldea El Arrozal.

##### **4.4.2 Historia**

La Asociación de Rescate y Conservación de Vida Silvestre ARCAS, es una organización no gubernamental sin fines de lucro. Fue fundada en 1989 por un grupo multidisciplinario de ciudadanos guatemaltecos preocupados por la conservación, dando origen al primer centro de rescate en 1991, cuyo objetivo principal es la rehabilitación de animales para su posterior incorporación al medio silvestre (Arcas, 2008).

Los animales que ingresan a este centro son decomisados por el personal del Consejo Nacional de Áreas Protegidas CONAP, y la Policía Nacional Civil PNC a través de la Dirección de protección general de la naturaleza DIPRONA, producto del tráfico ilegal por contrabandistas de fauna silvestre ; especies amenazadas que son propiedad de la nación (Arcas, 2008).

El objetivo principal del centro de rescate es la rehabilitación de los animales para la posterior incorporación a su hábitat natural fomentando la educación ambiental para la conservación de la biodiversidad (Arcas, 2008).

Gracias al apoyo de la asistencia oficial para el desarrollo del gobierno de Japón se inició la construcción del nuevo centro de Rescate comenzando este a cumplir funciones desde junio del año 2,000. Arcas recibe de 200 a 600 animales salvajes cada año de más de cuarenta especies, los cuales cursan por un proceso de cuarentena, rehabilitación y reintroducción a su hábitat (Arcas, 2008).

Personas de todo el mundo ayudan por medio de donaciones y de programas de voluntariado al desarrollo y mantenimiento del proyecto (Arcas, 2008).

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 MATERIALES:

#### 5.1.1 material biológico

- 68 loros de diferentes géneros y especies distribuidos de la siguiente manera: 39 loros cabeza roja (*amazona autumnalis*), 19 loros frente blanca (*amazona albifrons*), 4 loros reales (*amazona farinosa*) y 7 cotorras de frente blanca (*pionus senilis*).
- 20 guacamayas (*ara macao*)

#### 5.1.2 recursos humanos

- estudiante investigador
- médicos veterinarios del centro de rescate arcas
- estudiantes de modulo de vida silvestre

#### 5.1.3 materiales de campo

- Corta uñas de acero inoxidable marca seargents,
- Guantes de cuero
- Papel filtro marca whatman número 2 de 110mm
- Alcohol etílico
- Algodón
- Hojas de control
- Bolsas plásticas con cierre hermético
- Lapiceros
- Lápices
- Sobres tipo manila tamaño media carta para transporte de las muestras.
- Red de contención para aves.

- Polvo coagulante marca quick blood stopper de uso externo a base de sulfato férrico, sulfato de plata y sulfato de cobre.

#### **5.1.4 materiales de laboratorio**

se describe a continuación el detalle de los materiales utilizados para la ejecución de las pruebas serológicas.

- Micropipeta unicanal y multicanal de 50 ul
- Puntas para micropipetas de 200ul
- Congelador (-20°C)
- Refrigerador (4°C)
- Centrífuga microplacas de 96 pozos fondo en “v” con cobertores.
- Reloj timer
- canoas para los reactivos
- Pipetas serológicas de 1, 5 y 10ml
- Cilindro graduado de 100ml
- Erlenmeyer de 250ml
- Tubos para centrífuga de 15ml
- Solución buffer pbs ph 7.2
- Anticoagulante alsevers o citrato de sodio al 4%
- Solución de glóbulos rojos al 0.5%
- Antígeno inactivado ia de 4dha
- Sueros problema
- Control positivo
- Control negativo
- Solución salina buferada
- Glóbulos rojos

## **5.2 MÉTODOS**

### **5.2.1 Área de estudio**

Realicé la toma de muestras en el centro de rescate y conservación de vida silvestre ARCAS, ubicado en la aldea el arrozal, municipio de Santa Elena, departamento de Petén.

El área de estudio corresponde al bosque húmedo subtropical cálido y posee las siguientes características: precipitación entre 1,160 y 2,000 metros; biotemperatura de 22 a 27°C y una altitud entre 0 y 300 metros sobre el nivel del mar (Cruz , de la 1982).

### **5.2.2 Criterios de inclusión**

Tomé muestras de aves psitácidas presentes en todas las áreas del centro de rehabilitación ARCAS. Incluí animales jóvenes, adultos, excepto aquellos que se encontraban en programas de reproducción para evitarles el estrés de la captura.

### **5.2.3 Captura**

Capturé las aves utilizando redes de mano. Las sujeté por la cabeza, miembros torácicos y pélvicos con la ayuda de guantes de cuero y toallas.

Posteriormente realicé la lectura del número de identificación del espécimen, grabado en el anillo que cada animal posee.

### 5.2.4 Toma de muestra de sangre

Tomé la muestra de sangre haciendo un pequeño recorte de la uña, colectándose una gota de sangre en tiras de papel filtro marca Whatman número 2 de 110mm, de 1 cm de ancho y 3 de largo.

Realicé hemostasis en la uña cortada mediante la aplicación de polvo coagulante de uso externo aplicando una presión moderada por 5 a 10 segundos.

### 5.2.5 Determinación de especie, sexo y edad

Determiné la especie a la que pertenece cada ave de acuerdo a las características morfológicas individuales de cada especie.

Determiné el sexo tomando en cuenta los siguientes aspectos:

- Aves que presentan dimorfismo sexual, tal es el caso del loro frente blanca *Amazona albifrons*, cuyos machos presentan plumas rojas nivel de la alula, y la hembra verdes.
- Animales cuyo sexo ha sido determinado por pruebas de ADN, tal es el caso de la Guacamaya Roja (*Ara macao*). Estas poseen un anillo de identificación con un número correspondiente a un registro individual con los datos generales del ave.

Determiné la edad de acuerdo a la etapa de rehabilitación en la que se encontraban las aves de la siguiente manera:

- Área de crianza: corresponde a pichones de recién ingreso.
- Área de vuelo libre: aves jóvenes.

- Área de pre rehabilitación: aves adultas.

En el caso de la Guacamaya Roja *Ara macao*, fue de acuerdo al registro individual de cada ave.

### **5.2.6 Transporte y conservación de la muestra**

Almacené las muestras en bolsas con cierre de tipo hermético y las transporté en sobres manila tamaño media carta debidamente identificados.

### **5.2.7 Análisis de laboratorio**

Analicé las muestras en el Laboratorio de Ornitopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, mediante la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (HI) de acuerdo a manual de métodos de pruebas diagnósticas de la Oficina Internacional de Epizootias (OIE, 2005).

### **5.2.8 Registro de los datos**

Registré todos los datos en hojas de protocolo con un número de serie de 1 en adelante, número que corresponderá al número colocado en la muestra de cada ave. (anexo 1).

### **5.2.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para explorar la distribución de los anticuerpos contra influenza aviar en las aves muestreadas, utilicé estadística descriptiva (Sokal y Rohlf 1995).

Para determinar si los anticuerpos contra influenza aviar están presentes en la mayoría de las aves (proporción 51:49 a 99:1), utilicé una prueba de bondad de ajuste de  $\chi^2$  (Sokal y Rohlf 1995).

Para determinar si existe efecto del taxón, edad, especie y sexo de las aves muestreadas sobre la distribución de anticuerpos en las aves muestreadas utilicé tablas de contingencia de g (Sokal y Rohlf 1995).

Realicé todos los análisis estadísticos utilizando el programa STATISTICA, Stat. Sofá. Inc. 1996).

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó un monitoreo serológico en aves psitácidas de diferentes géneros y especies en el Centro de Rescate y Conservación de Vida Silvestre Arcas, en el departamento de Petén, municipio de Santa Elena, aldea El Arrozal, para determinar la presencia de anticuerpos séricos contra la enfermedad de influenza aviar.

Todas las muestras analizadas fueron negativas a la presencia de anticuerpos contra la cepa H5N2 de la enfermedad de influenza aviar. Ver cuadro No. 1

**CUADRO No 1**

<b>Número de aves muestreadas</b>	<b>N. Común</b>	<b>N. Científico</b>	<b>Resultado</b>
39	Loro cabeza roja	<i>Amazona autumnalis</i>	Negativos
19	Loro frente blanca	<i>Amazona albifrons</i>	Negativos
4	Loro real	<i>Amazona farinosa</i>	Negativos
7	Cotorra de frente blanca	<i>Pionus senilis</i>	Negativos

Los resultados que obtuve respaldan las investigaciones del ministerio de agricultura y ganadería de Guatemala (MAGA), que reportan al departamento de Petén como libre de influenza aviar.

En el caso de las aves que están en jaulas, estas no tienen contacto directo con las aves migratorias que se reproducen o transitan por la región, y que en algún momento pudiesen portar la enfermedad. Esto es debido por un lado a los hábitos de los psitácidos y por otro al confinamiento en el que se encuentran, razón por la que probablemente las aves muestreadas se encontraron serológicamente negativas.

## VII. CONCLUSIONES

1. Serológicamente los resultados fueron negativos a la presencia de anticuerpos contra el virus de Influenza aviar H5N2 en las aves del Centro de Rehabilitación de Vida Silvestre ARCAS, Petén.
2. No existe efecto del taxón, edad, especie y sexo de las aves muestreadas sobre la distribución de anticuerpos en las mismas ya que no hay presencia de los mismos.

## VIII. RECOMENDACIONES

1. Establecer protocolos de cuarentena en aves que ingresan al centro de rehabilitación de vida silvestre ARCAS.
2. Establecer diagnósticos de laboratorio por medio de necropsias de aves que mueren en el centro con la respectiva toma y envío de muestras.
3. Realizar un muestreo serológico de rutina en aves que serán liberadas, para determinar que estas se encuentran serológicamente negativas a la enfermedad de influenza aviar.
4. Realizar muestreos serológicos en poblaciones de aves psitácidas en estado silvestre.
5. Realizar investigaciones con otros métodos de diagnóstico como por ejemplo técnicas moleculares.

## IX. RESUMEN

Con el objetivo de determinar la presencia de anticuerpos séricos contra el virus de Influenza Aviar en aves del Centro de Rehabilitación de Vida Silvestre ARCAS, Flores Petén Guatemala, obtuve muestras de 68 loros de diferentes géneros y especies distribuidos de la siguiente manera: 39 loros cabeza roja (*Amazona autumnalis*), 19 loros frente blanca (*Amazona albifrons*), 4 loros reales (*Amazona farinosa*) y 7 cotorras de frente blanca (*Pionus senilis*) y de 20 guacamayas escarlatas (*Ara macao*).

Analicé las muestras sanguíneas en el laboratorio de Ornitopatología de la Facultad de Medicina veterinaria y Zootecnia, mediante la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación. Todas las muestras fueron negativas.

Mis resultados respaldan las investigaciones del Ministerio de Agricultura y Ganadería MAGA, que reportan al departamento del Petén como libre de la enfermedad de Influenza Aviar.

Con este estudio generé información sobre el estado sanitario de los psitácidos que se encuentran en un proceso de rehabilitación en ARCAS, y se pretende promover la investigación médica veterinaria en animales silvestres en nuestro país.

## X. BIBLIOGRAFÍA

1. Alderton, D. 1991. The atlas of parrots of the world. United States of North América. T.F.H. Publications. 209 p.
2. Alexander, DJ et al. 1984. Isolation of influenza virus from psittacines. s.n.t. 127 p.
3. ARCAS (Asociación de Rescate y Conservación de Animales Silvestres,GT). 2008. non-profit Guatemalan NGO. (en línea). Guatemala. Consultado 27 de abril 2008. Disponible en <http://www.arcasguatemala.com>.
4. Branson WR.; 1995. Avian Viruses Function and Control. Florida US, Wingers. 380p.
5. Cardona. C. 2003. Avian Influenza : Veterinary Medicine Extension. University of California. Davis. CA (en línea). Consultado 26 jun. 2008. Disponible en [http://www.vetmed.ucdavis.edu/vetext/INF-PO\\_AvianInfluenzaFS.html](http://www.vetmed.ucdavis.edu/vetext/INF-PO_AvianInfluenzaFS.html)
6. Cruz S., JR. De La 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala a nivel de reconocimiento. Guatemala, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. 42p.
7. Hawkins, M et al 2006. Avian Influenza A virus subtype H5N2 in red-lored Amazon parrot. JAVMA. 288(2)241p.
8. Johnston, DE. 1991. Exotic animal Medicin in Practice. Trenton, New Jersey, US, s.e. 124p.

9. Memorias. (17,2001,GT.), 2001. Congreso Latinoamericano de Avicultura. Por la seguridad alimentaria del milenio. Comisión científica del XVII Congreso Latinoamericano de Avicultura Eds. Guatemala, GT, ALA/ANAVI. 782p.
  
- 10.OIE. (Oficina Internacional de Epizootias US) 2005. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Consultado 15 mayo 2008. Disponible en [http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A\\_00037.htm](http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/A_00037.htm).
  
- 11.OMS. (Organización Mundial de la Salud US) 2006. Gripe Aviar informes de la situación. Consultado 17 agosto 2008. Disponible en [www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/updates/es/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/updates/es/index.html).
  
- 12.Slemons, RD et al 1983. Influenza type A isolated from imported exotic birds. s.n.t. 459 p.
  
- 13.Sokal, R; Rohlf, F. 1995. Biometry. The principles and practice of statistics in biological research. New York, US. W. H. Freeman and Company. 869 p.

# **XI. ANEXOS**

