



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

PROGRAMA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y
RECURSOS NATURALES

TESIS DE MAESTRÍA

HEMOPARÁSITOS EN AVES PASERIFORMES DEL
ESTADO DE MÉXICO

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS

P R E S E N T A

MVZ. DAPHNE ESTEFANY VILLALVA PASILLAS

ASESORES:

TUTORA ACADÉMICA:

Dra. en C. CELENE SALGADO MIRANDA

TUTOR ADJUNTO

Dr. en C. EDGARDO SORIANO VARGAS



Toluca, Estado de México, noviembre 2017.

DEDICATORIA

A mis padres, por apoyarme en todo momento, por permitirme realizar mis metas, y siempre estar ahí para mí, porque sin su ayuda esto no habría sido posible.

A mi tía Xochitl, porque nunca dudaste de mí, por todos los consejos, risas y cariño que siempre me diste, te extraño mucho a ti te dedico este trabajo, te quiero por y para siempre.

A mis abuelitos, mi más grande inspiración, a ustedes les debo lo que soy; su guía y enseñanzas son lo que me ha formado como persona.

A ti Rodolfo, por ser siempre mi gran apoyo, sin tu ayuda no estaría donde estoy, siempre motivándome a ser mejor a no rendirme y seguir adelante te amo.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México.

Al Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal, por permitir el uso de las instalaciones para la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional para la Ciencia y Tecnología, por la beca otorgada.

A mis tutores. El Dr. Edgardo Soriano Vargas y la Dra. Celene Salgado Miranda, por la paciencia y el gran apoyo brindado, los consejos y la ayuda, por permitirme integrarme al grupo de trabajo, para realizar este proyecto.

Al Dr. David Alejo Martínez Hernández, por su ayuda, guía e instrucción, para poder realizar este trabajo.

Al Biol. Juan Pablo Medina, por su ayuda para la captura e identificación de las aves.

A mis amigos del CIESA, por siempre estar ahí, para apoyarme y brindarme su amistad.

FINANCIAMIENTO

El presente trabajo de investigación tuvo el financiamiento del proyecto UAEM 4328/2017/CI, “Identificación genética de microorganismos infecciosos en aves endémicas distribuidas en áreas naturales protegidas del Estado de México”. Asimismo, contó con el apoyo del *Institute for Biodiversity Research, Development and Sustainability* (iBIRDS).

ABREVIATURAS Y SIGLAS

A	Accidentales (con base en su Categoría de residencia)
A	Amenazadas (con base en su Categoría oficial de riesgo)
<i>a.m.</i>	<i>ante meridiem</i>
BD	Distribución en época de reproducción
CE	Cuasiendémica
CONANP	Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas
CR	En peligro crítico
DD	Datos insuficientes
E	Probablemente extintas en medio silvestre
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EN	Endémica (con base en su Categoría de endemismo)
EN	En peligro (con base en su Categoría de riesgo ante IUCN)
EW	Extinto en estado silvestre
EX	Extinto
h	Hora
H/L	Rango heterófilo/linfocito
hs	Horas
IUCN	International Union for Conservation of Nature
kg	Kilogramo
km	Kilómetro
LC	Preocupación menor
m	Metro
m s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
MF	Microfilaria
mg	Miligramo
MI	Migratorias de invierno
mm	Milímetro
MV	Migratorias de verano
N	Norte

ND	Distribución en época no reproductiva
NE	No evaluado
NOM	Norma Oficial Mexicana
NT	Casi amenazado
O	Oceánicas
O	Oeste
°C	Grado Celsius
P	En Peligro de extinción
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
<i>p.m.</i>	<i>post meridiem</i>
PO	Vía oral
Pr	Sujetas a protección especial
PS	Tamaño de población
PT	Tendencia poblacional
R	Residentes
SC	Sin categoría
SE	Semiendémica
T	Transitorias
TB	Amenazas en época de reproducción
TN	Amenazas en época no reproductiva
VU	Vulnerable
VV	Valores de vulnerabilidad
µm	Micrómetro

ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS

Página

FIGURAS

Figura 1. Morfología de los gametocitos de <i>Haemoproteus mansonii</i> en aves	7
Figura 2. Diagrama del ciclo de vida de <i>Haemoproteus mansonii</i> en aves. .	9
Figura 3. Morfología de los gametocitos de <i>Leucocytozoon simondi</i> en aves.	16
Figura 4. Diagrama del ciclo de vida de <i>Leucocytozoon simondi</i> en aves. . .	19
Figura 5. Morfología de los gametocitos de <i>Plasmodium relictum</i> en aves. .	26
Figura 6. Diagrama del ciclo de vida de <i>Plasmodium relictum</i> en aves.	29

CUADROS

Cuadro 1. Intensidad de infección de <i>Haemoproteus</i> spp. y <i>Leucocytozoon</i> spp. en aves del orden Passeriformes, incluidas en el estudio.	71
Cuadro 2. Co-infecciones de <i>Haemoproteus</i> spp., <i>Leucocytozoon</i> spp., y microfilarias en aves del orden Passeriformes, incluidas en el estudio.	72

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	ii
FINANCIAMIENTO.....	iii
ABREVIATURAS Y SIGLAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS	ii
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
PARASITISMO	3
PROTOZOARIOS.....	4
<i>Haemoproteus</i>	5
Distribución	5
Etiología.....	6
Epizootiología	7
Signos clínicos.....	9
Patogénesis y Patología	10
Diagnóstico	11
Inmunidad	11
Impacto en la población de aves silvestres	12
Tratamiento y control.....	13
<i>Leucocytozoon</i>	13
Distribución	14
Rango de hospederos	14
Etiología.....	15
Epizootiología	17
Signos clínicos.....	19
Patogénesis	20
Patología	21
Diagnóstico	22

Inmunidad	22
Impacto en la población de aves silvestres	23
Tratamiento y control	24
<i>Plasmodium</i>	24
Distribución	24
Rango de hospederos	25
Etiología.....	25
Epizootiología	27
Signos clínicos.....	29
Patología y patogénesis	30
Diagnóstico	31
Inmunidad	32
Impacto en la población de aves silvestres	33
Tratamiento y control	34
<i>Hepatozoon</i>	34
<i>Trypanosoma</i>	35
HELMINTOS	36
Nematodos filaroides	36
Filaroides adultos	37
Microfilarias	37
Rango de hospederos y distribución	38
Epizootiología	38
Signos clínicos.....	39
Patología	40
Diagnóstico	41
Inmunidad	41
Impacto en la población de aves silvestres	42
Tratamiento y control	42
AVES PASERIFORMES DE MÉXICO.....	42
Categorías de endemismo	43
Categorías de residencia	43

Valores de vulnerabilidad	44
Categorías oficiales de riesgo	45
Categorías de riesgo de IUCN	45
ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS	46
MEDICINA DE LA CONSERVACIÓN.....	47
JUSTIFICACIÓN	48
HIPÓTESIS	49
OBJETIVOS	50
MATERIAL Y MÉTODOS.....	51
Sitios de muestreo	51
Muestreo de aves	51
Toma de muestra sanguínea.....	52
Procesamiento de las muestras	53
Identificación de hemoparásitos	53
Intensidad de infección	53
RESULTADOS	55
Artículo enviado	55
Intensidad de infección	70
DISCUSIÓN.....	73
CONCLUSIONES.....	77
BIBLIOGRAFÍA	78

RESUMEN

Los parásitos del orden Haemosporida infectan la sangre de los hospederos, su ciclo de vida incluye a un insecto hematófago como vector y un vertebrado en el que cumplen por lo menos una etapa de su desarrollo. En México habitan por lo menos 1,115 especies de aves, de las cuales por lo menos 115 son consideradas endémicas, 44 de estas se encuentran en el Estado de México. El objetivo de este trabajo fue identificar los géneros, la proporción y la intensidad de infección de los hemoparásitos que infectan a las aves paseriformes de la zona centro del país. Se detectó una proporción del 29.93% de aves parasitadas de las 157 capturadas, siete fueron endémicas de estas 5 fueron positivas, los hemoparásitos encontrados fueron *Haemoproteus* (17.19%), *Leucocytozoon* (15.92%) y microfilaria (1.91%). Se encontraron co-infecciones en el 12.76% en seis especies de aves endémicas pertenecientes a dos familias. De las 10 especies positivas a *Haemoproteus* spp., la intensidad de infección observada fue media (> 0.1 a 0.5%) y alta (> 0.5%). De las nueve especies positivas a *Leucocytozoon* spp., la intensidad de infección observada fue de media (> 0.02 a 0.1%) a alta (> de 0.1%). Este es el primer estudio sobre hemoparásitos realizado en la zona centro de México en las aves paseriformes endémicas y residentes.

Palabras clave: *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*, microfilaria, Passeriformes, endémicas.

ABSTRACT

Parasites order Haemosporida infect the blood of hosts, their life cycle includes a blood-sucking insects as vectors and vertebrate in which they accomplish at least one stage of their development. In Mexico, there are leastways 1,115 bird species, of which 115 are considered endemic, 44 of them are found in the State of Mexico. The objective of this work was to identify the genera, the proportion and intensity of infection of haemoparasites that infect passerine birds in the Central Mexico. A proportion of 29.93% of parasitized birds was detected from the 157 captured, seven were endemic of these 5 were positive, the haemoparasites found were *Haemoproteus* (17.19%), *Leucocytozoon* (15.92%) and microfilaria (1.91%). Co-infections were found in 12.76% in six species of endemic birds belonging to two families. Of the 10 species positive for *Haemoproteus* spp., the intensity of infection observed was medium (> 0.1 to 0.5%) and high (> 0.5%). Of the nine species positive for *Leucocytozoon* spp., the intensity of infection observed was medium (> 0.02 to 0.1%) at high (> 0.1%). This is the first study in haemoparasites carried out in Central Mexico for endemic and resident passerine birds

Key words: Haemoproteus, Leucocytozoon, microfilaria, Passeriformes, endemics.

INTRODUCCIÓN

México es un país privilegiado por su biodiversidad, de las 10,500 especies de aves que existen en el mundo 1,115 se encuentran en territorio mexicano (CONABIO, 2017). De las cuales 192–212 son consideradas endémicas; es decir que solo se encuentran en esta zona, ocupando el onceavo lugar en riqueza avifaunística y el cuarto en proporción de endemismos entre los países mega diversos del mundo. El 77% de las especies de aves, se reproducen en México; y la mayor parte son residentes permanentes (Navarro-Sigüenza *et al.*, 2014). En el Estado de México se ha reportado la presencia 407 especies de aves; de las cuales 44 son endémicas (CONABIO, 2017). Sin embargo, la investigación en estas especies es escasa.

La mayoría de las aves silvestres se encuentran con frecuencia infectadas por una gran diversidad de parásitos, tal es el caso de los hemoparásitos, que pueden infectar eritrocitos, leucocitos o el plasma. El grupo de los parásitos hemosporidios pertenecientes al filo Apicomplexa son un grupo de protistas heterogéneos que requieren de un insecto díptero hematófago como vector (Valkiūnas, 2005).

Diversos grupos de parásitos helmintos y protozoarios utilizan el torrente sanguíneo de las aves como hábitat para su desarrollo y reproducción. Entre estos parásitos se encuentran los nematodos filarias los cuales se pueden encontrar en los tejidos o en la cavidad peritoneal de los hospederos que infectan, estos liberan a la circulación larvas denominadas microfilarias (Bartlett, 2008).

Los parásitos hemosporidios tienen un ciclo de vida que involucra tanto un insecto (vector) como un hospedero (ave). La diversidad de este grupo de hemoparásitos es bastante amplio; en aves se han descrito con base en su morfología más de 200 especies que incluyen aproximadamente 1,000 variedades genéticas. Asimismo, la diversidad de vectores es amplia; existen cinco familias de moscas, de las cuales cada una contiene cientos de especies, las cuales pueden actuar como vectores de uno o más hemoparásitos del orden Haemosporida (Santiago-Alarcon *et al.*, 2012).

El uso de las aves como bioindicadores de cambios ambientales se fundamenta en que debido a su posición en la escala trófica se verán afectados por una gran variedad de factores. El uso de especies bioindicadoras implica su monitoreo y su uso para formular planes de manejo de los recursos naturales (Altamirano *et al.*, 2003).

REVISIÓN DE LITERATURA

PARASITISMO

El parasitismo es la relación o simbiosis en la cual uno de los participantes el parásito perjudica a su hospedero o en cierto sentido vive a expensas de él. Los parásitos pueden causar heridas mecánicas, como perforar un agujero en el hospedero o cavar en la piel u otros tejidos, estimular el sistema inmune o un daño inflamatorio, o simplemente robar los nutrientes del hospedero. El parasitismo es usualmente el resultado de una larga historia evolutiva compartida entre parásito y hospedero (Roberts *et al.*, 2009).

El parasitismo es la asociación entre dos organismos de distintas especies, en donde la dependencia del parásito respecto al hospedero es metabólica y supone un mutuo intercambio de sustancias (Quiroz, 1999). Si el parásito vive en la superficie del hospedero se le llama ectoparásito; si es interno se le llama endoparásito. La mayoría de estos son parásitos obligados, los cuales tienen como condición fundamental e indispensable que toda su existencia o parte de ella la realicen a expensas de un hospedero, sin embargo, algunos parásitos obligados tienen estadios fuera de algún hospedero, incluyendo algunos periodos de tiempo en el ambiente exterior sin protección. Los parásitos facultativos, son aquellos que normalmente no son parasíticos; sin embargo, pueden convertirse en parásitos cuando son ingeridos accidentalmente o ingresan en una herida u otra cavidad del hospedero. A los parásitos que se adhieren o ingresan a un hospedero de una especie diferente a la de su hospedero normal se le denomina como un parásito accidental o incidental (Roberts *et al.*, 2009).

Algunos parásitos pasan su vida adulta dentro o sobre sus hospederos y a estos se les denomina como parásitos permanentes, los parásitos temporales o intermitentes son aquellos que únicamente se alimentan del hospedero y después se retiran tal es el caso de los mosquitos. Los parasitoides son insectos como las avispas o

moscas que inyectan sus huevos en un hospedero, el cual comúnmente es otro insecto más pequeño y donde se desarrollan las etapas inmaduras de la avispa o mosca y finalmente matan al hospedero cuando emergen (Roberts *et al.*, 2009).

Los parásitos han sido señalados como uno de los principales protagonistas de la evolución de las especies por sus efectos sobre la selección sexual. Existen diferentes mecanismos por los que los parásitos podrían ser mediadores en la selección sexual de sus hospederos, la información más importante podría ser el nivel de infección o la inmunocompetencia del emisor; la carga de parásitos podrían condicionar a un individuo en la selección de pareja, puesto que los individuos más parasitados podrían tener una capacidad reproductiva reducida, podrían incrementar la probabilidad de contagio de los parásitos o podrían carecer de genes de resistencia frente a estos (Møller *et al.*, 1998).

Debido al costo que los parásitos ejercen en sus hospederos, el estudio del parasitismo es una herramienta fundamental para comprender el efecto de estos en las poblaciones de hospederos. Con base en esto las infecciones por parásitos sanguíneos se presentan como una de las posibles causas de la pérdida de biodiversidad en sistemas insulares como Hawái (Warner, 1968).

PROTOZOARIOS

Los protozoos son microorganismos eucariotas unicelulares considerados un subgénero del reino Protista, sin embargo, está ubicado en el reino Animalia. Se han descrito 50,000 especies, la mayoría de los cuales son organismos en vida libre; los protozoos se encuentran en casi todos los hábitats posibles. Sin embargo, todos los animales superiores se encuentran infectados con una o más especies de protozoarios. Las infecciones van desde asintomáticas a potencialmente mortales, dependiendo de la especie del parásito y la resistencia del hospedero (Yaeger, 1996).

Las estructuras orgánicas de los protozoarios son llamadas organelos, por ser diferentes porciones de la célula. Son eucariotas, es decir, con núcleo encerrado en una membrana, a diferencia de las bacterias que son procariotas en las que el núcleo no está separado del citoplasma (Quiroz, 1999).

Haemoproteus

Las especies de *Haemoproteus* que infectan a las aves son parásitos intraeritrocitarios transmitidos por un vector; relacionados estrechamente con los parásitos de la malaria de los vertebrados. Son algunos de los hemoparásitos más comunes y distribuidos en aves silvestres; sin embargo, su potencial como agente patogénico en las poblaciones de aves silvestre es desconocido. Son usados actualmente por los ecologistas como modelos para evaluar las teorías evolutivas sobre el efecto de la enfermedad en el estado de salud de los hospederos y la selección sexual, pero estos esfuerzos se han visto obstaculizados por la falta de conocimientos básicos sobre sus ciclos de vida, vectores y epizootiología. Algunas especies de *Haemoproteus* pueden ser altamente patogénicas y causar una miositis severa en las aves hospederas; no obstante, casos bien documentados son escasos (Atkinson, 2008).

Distribución

Los parásitos de la familia Haemoproteidae tienen una distribución mundial en climas templados y tropicales. Esta amplia distribución está relacionada probablemente a los diversos hábitats ocupados por sus vectores, moscas de la familia Ceratopogonidae e Hippoboscidae (Greiner *et al.*, 1975). Las especies de Haemoproteidae han sido reportadas incluso en islas remotas en donde habitan los vectores (Padilla *et al.*, 2017).

La mayor diversidad de especies se encuentra en las regiones zoogeográficas holártica, etíope y oriental, con un menor número de especies reportadas en las

regiones neotropical y australiana (Valkiūnas, 2005). En norte y sur américa, las especies de *Haemoproteus* tienden a tener una distribución relativamente uniforme en el continente y están virtualmente ausentes en la tundra ártica, principalmente por la ausencia del vector (Bennett *et al.*, 1992).

Etiología

Los representantes de este género son clasificados como miembros del filo Apicomplexa, clase Aconoidasida, orden Haemosporida, familia Haemoproteidae, y son definidos principalmente por su desarrollo intraeritrocitario, la producción de prominentes gránulos para la digestión de hemoglobina del hospedero y la ausencia de reproducción sexual en las células sanguíneas circulantes (Peirce, 2000).

Todas las especies de este género se distinguen por la morfología de los gametocitos circulantes (Figura 1), la presunta especificidad de hospedero y por los cambios distintivos en la morfología de los eritrocitos. Se reconocen cinco tipos diferentes de gametocitos por su morfología, que difieren en forma ya sea redonda o elongada y hasta donde llega alrededor del núcleo del eritrocito. Recientemente los estudios filogenéticos basados en secuencias de genes mitocondriales han ubicado a *Haemoproteus* en un grupo filogenético en el mismo clado que *Plasmodium* (Perkins y Schall, 2002).

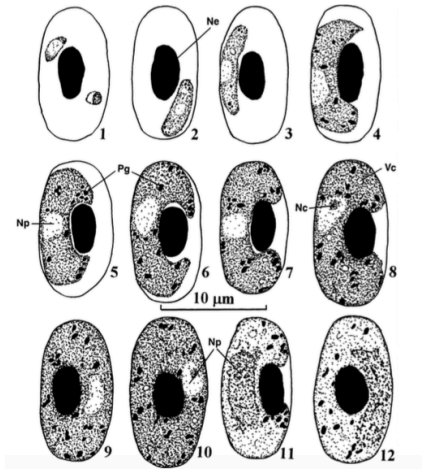


Figura 1. Morfología de los gametocitos de *Haemoproteus mansonii* en aves (Valkiunas, 2005).

Los análisis más recientes realizados con base en las técnicas moleculares han demostrado que la especie *Haemoproteus columbae* filogenéticamente no está relacionada a la mayoría de las especies del género *Haemoproteus* (Martinsen *et al.*, 2008). Algunas autoridades dividen al género *Haemoproteus* en dos subgéneros basados en los vectores; Las especies de *Haemoproteus* que infectan a columbiformes por las moscas de la familia Hippoboscidae y las especies de *Parahaemoproteus* que infectan a una gran diversidad de especies reportadas de otras familias de aves alrededor del mundo y su vector mosquitos Ceratopogonidae (Valkiūnas, 2005).

Epizootiología

El complejo ciclo de vida de *Haemoproteus* involucra tanto la reproducción sexual en el vector (esporogonia) como asexual en el vector (merogonia) (Figura 2). Los vectores para la familia Haemoproteidae incluyen tanto mosquitos del género Culicoides como moscas de la familia Ceratopogonidae e Hippoboscidae. El ciclo sexual comienza cuando la sangre que contiene los estadios sexuales maduros del parásito, macrogametocito femenino y microgametocito masculino son ingeridas por un hospedero infectado por el insecto hematófago o vector. En el estadio sexual se

lleva a cabo la gametogénesis y fertilización en el intestino medio del vector y se produce un cigoto móvil denominado ooquineto (Atkinson, 2008). El ooquineto penetra la pared del intestino medio desarrollándose los ooquistes en las células epiteliales del intestino, donde maduran y dan lugar a un gran número de esporozoítos, los cuales se dirigen a las glándulas salivales donde se acumulan (Valkiūnas, 2005).

El desarrollo del parásito en ambos vectores es similar, pero el tamaño de los oocistos, el número de esporozoítos producidos y la duración de la esporogonia difieren. En las moscas de la familia Ceratopogonidae, los oocistos miden aproximadamente 10 μm de diámetro, mientras que en las moscas de la familia Hippoboscidae los oocistos son considerablemente más grandes con un diámetro aproximado de 40 μm (Atkinson, 1991). La esporogonia típicamente tarda 4 a 6 días en las moscas de la familia Ceratopogonidae, eventualmente produciendo 100 esporozoítos por cada esporozoblasto. La esporogonia en moscas de la familia Hippoboscidae tardada aproximadamente 10 días y produce eventualmente miles de esporozoítos (Atkinson, 2008).

La transmisión ocurre cuando el esporozoíto es introducido en el hospedero por medio de la secreción de la glándula salivar del vector. Después de haber ingresado en el torrente sanguíneo los esporozoítos invaden los tejidos y desarrollan un crecimiento intracelular (Atkinson y van Riper, 1991). Se inicia el desarrollo de los merontes exoeritrocífticos en megalomerontes; encontradas generalmente en el endotelio vascular de los pulmones y en menor medida en el hígado (Ferrell *et al.*, 2007). Durante su desarrollo los merontes pueden dividirse formando citómeros multinucleados, los cuales pueden liberar una gran cantidad de merozoíftos en la sangre (Valkiūnas, 2005).

Los merozoíftos dan lugar a los microgametocitos y a los macrogametocitos, los cuales surgen entre 2 o 3 días después de que los merozoíftos ingresen en los eritrocitos. Tanto los macro gametocitos como lo micro gametocitos se desarrollan

y dificultad de movimiento (Cardona *et al.*, 2002).

En aves domésticas pavos, patos, gansos y palomas los signos clínicos específicos son pocos, sin embargo, apatía, letargia y anemia pueden ser indicadores de la enfermedad (Pierce 2016). Otros estudios en paseriformes han reportado anemia en infecciones con *Haemoproteus* spp. (Ots y Hōrak, 1998). De igual manera se ha reportado en *Bubo scandiacus* anemia regenerativa con policromasia marcada (Evans y Otter 1998).

Patogénesis y Patología

Se conoce poco respecto a la patogénesis de las infecciones de las especies de *Haemoproteus* y su desarrollo en los hospederos tanto de manera natural como experimental. Se reportó en dos aves oropéndola en donde la cavidad celómica se encontraba llena de fluido oscuro y sanguinolento, esplenomegalia y hepatomegalia. El hígado de estas aves se observó de color morado con numerosos focos de color rojo a negro que variaban de tamaño de 1 a 4 mm distribuidos aleatoriamente a través del parénquima. En la chara verde se observó la cavidad celómica llena de un fluido viscoso de color rojo, hemorragias equimóticas fueron visibles en el pericardio, se observó hepatomegalia con focos amarillos que varían de tamaño dispersos aleatoriamente a través del parénquima. El bazo se encontró rojizo y significativamente alargado. En crías de flamencos se encontraron áreas de hemorragia subcutánea en el tejido blando cervical, esplenomegalia, hepatomegalia (Ferrell *et al.*, 2007).

En codornices blancas se han reportado brotes recurrentes de *Haemoproteus lophortyx*, con mortalidad de 20% asociada con la parasitemia, anemia y la presencia de grandes megaloesquizontes en musculo esquelético, particularmente en los muslos y dorso, la mortalidad se aumentaba alrededor de las 5 a 6 semanas de edad (Cardona *et al.*, 2002).

En uno de los trabajos experimentales más detallados que existen se reportó que en el día 57 post infección, en los juveniles de urraca azul se encontraron lesiones microscópicas en el tejido de hígado, bazo y pulmones. Se observaron células necróticas en el hígado, en el bazo de algunas de las aves infectadas hubo un incremento del número de macrófagos, células plasmáticas, así como linfocitos necróticos dispersados (Garvin *et al.*, 2003).

Diagnóstico

La técnica de diagnóstico por elección para *Haemoproteus*, es un frotis sanguíneo en donde se podrá observar la presencia de los gametocitos intraeritrocitarios. La identificación de la especie tradicionalmente es definida por la morfometría de estos. Actualmente, los métodos moleculares han ayudado a la identificación y diferenciación de los géneros y linajes (Valkiūnas *et al.*, 2007).

Las especies de *Haemoproteus* pueden ser difíciles de distinguir de las especies de *Plasmodium* en las aves, particularmente en infecciones crónicas donde el número de los gametocitos circulantes es bajo y donde puede ser difícil determinar si las características de los merontes intracelulares de *Plasmodium* están presentes o ausentes (Atkinson, 2008). El uso de la morfología en los estadios en tejidos es complicado para realizar diagnósticos precisos de infección con *Haemoproteus*. La pared oval de los merontes que es característica de algunas especies de *Haemoproteus* en columbiformes son similares en morfología en los estadios en tejidos a especies de *Leucocytozoon* y *Plasmodium* (Atkinson, 2008).

Inmunidad

Prácticamente nada se conoce acerca de los mecanismos inmunológicos de las infecciones de las especies de *Haemoproteus* (Atkinson, 2008). Se ha reportado en infecciones con *Haemoproteus columbae* recuperaciones espontáneas en las aves afectadas, sin evidencia de inmunidad conferida a una segunda infección. En la mayoría de los casos las aves probablemente permanecen infectadas por largos

periodos de tiempo y tienen recaídas espontaneas que pueden disminuir en frecuencia y eventualmente conducen a una recuperación (Ahmed y Mohammed, 1978). Las recaídas asociadas con infecciones crónicas probablemente por los estadios persistentes en los tejidos, pero esto no ha sido probado en estudios experimentales (Atkinson, 2008).

Impacto en la población de aves silvestres

Los efectos individuales de la infección con *Haemoproteus* son difíciles de determinar en las poblaciones silvestres. En la gran mayoría de los estudios realizados hasta el momento las aves están infectadas frecuentemente con otros hemoparásitos incluyendo *Leucocytozoon*, *Plasmodium* y *Trypanosoma* (Atkinson, 2008).

Diversos estudios se han realizado tanto en infecciones naturales como experimentales para determinar el impacto en la salud de las aves en vida libre y en cautiverio. La mortalidad asociada con la infección por *Haemoproteus* y otros hemoparásitos en aves silvestres probablemente ocurre con mayor frecuencia de la reportada puesto que los individuos enfermos pueden ser difíciles de encontrar para ser muestreados o recuperados para realizar la necropsia (Bennett, 1993).

Algunos estudios sugieren que las infecciones con estos hemoparásitos ocasionan cambios en la coloración del plumaje (Hörak *et al.*, 2001). En cernícalos muestreados se reportó una correlación positiva entre la coloración y brillo del plumaje y la carga parasitaria, las parejas de los machos infectados con *Haemoproteus* tiene un menor número de huevos que los que no están parasitados, esto puede ser debido a que los parasitados proveen menos alimento lo que puede afectar el periodo de puesta y el número de huevos de su pareja (Korpimäki *et al.*, 1995).

Se ha reportado una pobre condición corporal en hembras parasitadas de cernícalo americano durante la incubación. Los hemoparásitos están asociados con la reducción de la condición (Dawson y Bortolotti, 2000). En las hembras de *Ficedula hypoleuca* se encontró un aumento en el abandono del nido durante el periodo de incubación y una disminución en el éxito de la nidada en los individuos parasitados (Sanz *et al.*, 2001). En un estudio realizado en *Cyanistes caeruleus* infectados de manera natural con *Haemoproteus majoris* y *Leucocytozoon majoris* se realizó de manera experimental el tratamiento de una dosis única subcutánea de primaquina, el grupo tratado tubo un mayor éxito de los polluelos y una disminución en la mortalidad de estos (Merino *et al.*, 2000).

Tratamiento y control

Se utilizan compuestos antimaláricos los cuales han resultado efectivos para reducir la intensidad de la parasitemia tanto en aves silvestres y domesticas infectadas con *Haemoproteus*. Estos incluyen sulfato de cloroquina y primaquina (Remple, 2004). En aves en cautiverio la infección con *Haemoproteus* puede ser controlada en las viviendas colocando mallas para controlar o eliminar los vectores (Atkinson, 2008).

Leucocytozoon

La leucocytozoonosis, es una enfermedad de las aves causada por una gran variedad de especies del filo Apicomplexa del género *Leucocytozoon*. Existen muchas especies de *Leucocytozoon*, pero solo algunas se saben patogénicas para sus hospederos. Los grupos de aves en riesgo incluyen aves acuáticas, palomas, galliformes, falconiformes y avestruces. Todas las especies de *Leucocytozoon* son específicas de hospederos en órdenes y en algunos casos a nivel de especie. Están estrechamente relacionados con especies de los géneros *Plasmodium* y *Haemoproteus* con ciclos de vida similares, pero que son transmitidos por moscas negras de la familia Simuliidae, excepto por *L. caulleryi* el cual es transmitido por moscas de la familia Ceratopogonidae (Valkiūnas, 2005).

Distribución

Las especies de *Leucocytozoon* se distribuyen a nivel mundial excepto en la Antártida (Valkiūnas, 2005). Todas las especies conocidas se encuentran en la región holártica, etíope y occidental del planeta con algunas especies siendo encontradas en la región neotropical y australiana. La alta prevalencia de especies de *Leucocytozoon*, la alta diversidad de especies y el gran número de especies específicas ocurren particularmente en la región zoo geográfica holártica (Forrester y Greiner, 2008). El incremento en la prevalencia de especies de *Leucocytozoon* en una zona geográfica se ha atribuido al incremento de la densidad de hospederos en la región norte y los cambios en la dinámica de transmisión (White *et al.*, 1978).

Las tres especies de mayor importancia en poblaciones silvestres incluyen *L. simondi* en aves acuáticas, *L. marchouxi* en palomas y pichones y *L. toddi* en rapaces. Las tres se encuentran comúnmente en la región holártica. *Leucocytozoon toddi* es probablemente la más distribuida de las tres especies encontrándose también en la región neotropical, no hay reportes de transmisión de *L. simondi* en África, Sur Asia y México (Forrester y Greiner, 2008). Se ha reportado la asociación de *Leucocytozoon* con ambientes en grandes altitudes, donde es más abundante en grandes elevaciones, en donde ocho de los nueve linajes reportados se encontraron cerca de los 2200 m s.n.m. Dos de estos linajes se encontraron a altitudes excepcionales 4123 y 4384 m s.n.m. (Galen y Witt, 2014).

Rango de hospederos

Las especies de *Leucocytozoon* han sido reportadas en 22 de los 28 órdenes y 113 de las 204 familias de aves reconocidas, 41 especies de *Leucocytozoon* han sido reconocidas (Valkiūnas, 2010). La gran mayoría de especies ocurre en las Passeriformes, cerca del 45% de las especies de aves en el mundo han sido

investigadas buscando especies de *Leucocytozoon* y ha sido reportado en el 30% de estas (Valkiūnas, 2005).

Ninguna especie de *Leucocytozoon* ha sido reportada de 5 ordenes de aves, Tinamiformes, Podicipediformes, Procellariiformes, Phoenicopteriformes y Pteroclitiformes. En algunos casos para algunos ordenes pueden ser reportadas infecciones esporádicas o accidentales en hospederos anormales, estos casos han ocurrido en cautiverio (Forrester y Spalding, 2003).

La leucocytozoonosis ocurre principalmente en las familias Anatidae y Columbidae y es menos común en las familias Accipitridae y Falconidae. *Leucocytozoon simondi* es el agente más importante y patogénico en aves silvestres, particularmente en la región holártica, ha sido reportada en 46 especies de aves acuáticas de 17 países (Forrester y Greiner, 2008).

Etiología

Las especies de *Leucocytozoon* son parásitos protozoarios y están clasificados en el filo Apicomplexa, Clase Aconoidasida, orden Achromatorida, familia Leucocytozoidae. Históricamente la desaparición de las especies de *Leucocytozoon* han sido basadas en la morfología de los gametocitos en las células sanguíneas (Figura 3) sin embargo, existen algunos problemas asociados con esta práctica (Valkiūnas, 2005).

La intensidad de la infección en aves silvestres es baja, y se requiere revisiones extensas y prolongadas de los frotis sanguíneos al microscopio para encontrar un número adecuado de células infectadas, los gametocitos a menudo se encuentran deformados cuando se preparan los frotis sanguíneos si no se toman las precauciones adecuadas; asimismo, existen menos características morfológicas disponibles para comparar las especies de *Leucocytozoon* con otras especies de protozoarios y a menudo la morfología de las células del hospedero es más

importante que la morfología del parásito y por último el empleo de la morfología de los merontes para propósitos taxonómicos no siempre es válido debido a que estos son desconocidos para la mayoría de las especies y algunas especies producen merontes que son diferentes dependiendo del ave hospedera (Forrester y Greiner, 2008).

Tomando en cuenta el enfoque donde las especies de *Leucocytozoon* son específicas de la familia del hospedero el número descrito de especies sería 143 aproximadamente, mientras que la especificidad del hospedero y el enfoque morfológico resulta en numerosas sinonimias y solo 36 especies válidas. La investigación combinada de técnicas tradicionales parasitológicas y las técnicas moleculares resultara en la determinación o reubicación de las especies de *Leucocytozoon* (Forrester y Greiner, 2008).

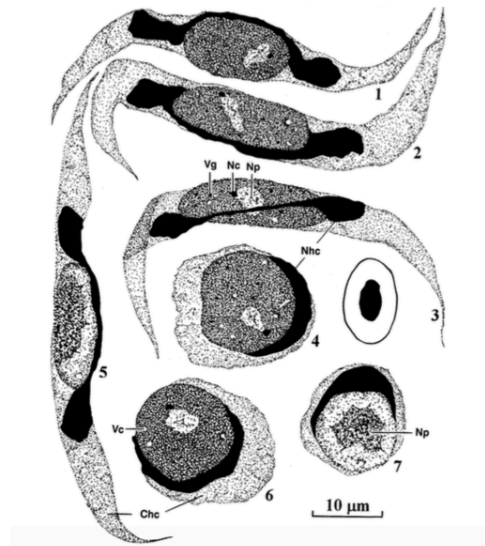


Figura 3. Morfología de los gametocitos de *Leucocytozoon simondi* en aves (Valkiūnas, 2005).

Epizootiología

Históricamente la desaparición de las especies de *Leucocytozoon* han sido basadas en la morfología de los gametocitos en las células sanguíneas, sin embargo, existen algunos problemas asociados con esta práctica (Valkiūnas, 2005).

El ciclo de vida de las especies de *Leucocytozoon* ha sido estudiado en 1/3 de las especies descritas hasta el momento, las moscas de la familia Simuliidae hematófagas son los vectores de este parásito; sin embargo, *Leucocytozoon caulleryi* utiliza a los mosquitos de la familia Ceratopogonidae como vector. La merogonia exoeritrocítica en las aves ocurre en los hepatocitos, en los macrófagos y otras células del sistema fagocítico mononuclear (SFM), (antes llamado sistema retículo-endotelial), incluyendo las células endoteliales de los capilares (Figura 4). Los gametocitos y todos los estadios del desarrollo no poseen el pigmento malárico. Los gametocitos se desarrollan los eritroblastos, eritrocitos y leucocitos mononucleares. La merogonia no ocurre en las células sanguíneas (Valkiūnas, 2005).

Los esporozoítos son introducidos en las aves por las moscas de la familia Simuliidae durante la ingestión de sangre por los vectores, se pueden desarrollar únicamente en los hepatocitos. Los esporozoítos viables son encontrados en las aves por varios días. Los esporozoítos penetran gradualmente en los hepatocitos y es una de las propiedades de la merogonia en el hígado. Los esporozoítos dan lugar a los merontes hepáticos de la primera generación. El crecimiento de los merontes está acompañado por un incremento de la cantidad del citoplasma y la división múltiple del núcleo (Valkiūnas, 2005).

El citoplasma del parásito logra un gran número de invaginaciones y romperse en partes separadas conteniendo un gran número de núcleos. Esta parte es denominada citómero. La invaginación del citoplasma y la división del núcleo en citómeros dirige la apariencia de los merozoítos mononucleares, los cuales tienen un

diámetro de 1 a 2 μm . Los fragmentos citoplasmáticos, los cuales están rodeados por una membrana plasmática y que contiene múltiples núcleos desarrollándose simultáneamente; estos fragmentos son denominados sincitio. Los merontes hepáticos maduros alcanzan un diámetro de 45 μm , pero usualmente son menores. Los núcleos de las células infectadas están marcadamente agrandados. El desarrollo de los merontes hepáticos está completa de cuatro a cinco días (Valkiūnas, 2005).

Después de que los merozoítos ingresan a la sangre, estos penetran en los eritrocitos maduros e inmaduros dando lugar a los gametocitos. El periodo pre patente es de aproximadamente cinco días. Los gametocitos jóvenes causan una marcada hipertrofia y deformación de las células hospederas y sus núcleos. El crecimiento de los gametocitos está completo en dos días. Los gametocitos completamente desarrollados son redondeados u ovals (Valkiūnas, 2005).

Algunos merozoítos de los merontes hepáticos inducen una merogonia exoeritrocítica secundaria en los hepatocitos. El sincitio ingresa a la sangre y se propaga a varios órganos. Son fagocitados por macrófagos y otras células del SFM, dando lugar a una segunda generación de merontes los cuales son llamados megalomerontes o megaloesquizontes debido a su gran tamaño. Este término define el complejo célula hospedera-parásito (Valkiūnas, 2005).

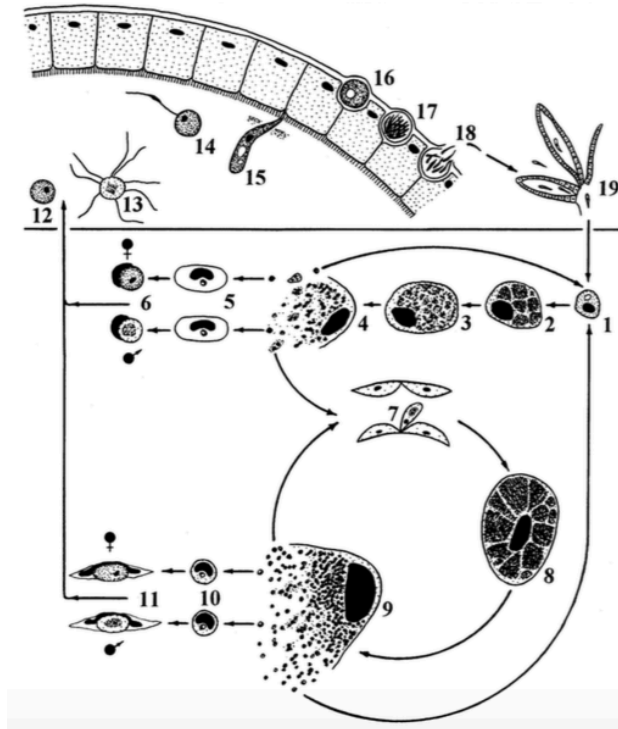


Figura 4. Diagrama del ciclo de vida de *Leucocytozoon simondi* en aves (Valkiūnas, 2005).

Signos clínicos

Los signos clínicos de la leucocytozoonosis usualmente no son específicos, los patos y gansos juveniles son los más susceptibles para desarrollar la enfermedad y pueden morir poco después de infectarse. Los signos clínicos pueden variar dependiendo de la edad y la condición física del hospedero. Los patos juveniles manifiestan inapetencia, debilidad, disnea, y algunas veces muerte dentro de las 24 hs. Los signos en adultos son menos abruptos y son consistentes con debilidad y una baja mortalidad. Cerca del 60% de las fatalidades ocurren entre 11 y 19 días pos exposición. En pavos juveniles los signos incluyen anorexia, polidipsia, depresión, somnolencia y algunas veces incoordinación, la muerte puede ocurrir súbitamente durante el estadio agudo de la enfermedad (Bermudez, 2013).

Las palomas infectadas con *L. marchouxi* han sido reportadas por exhibir debilidad, plumas erizadas, anemia y disminución de peso (Peirce, 1984). Los signos clínicos en rapaces infectadas pueden variar entre vuelo errático, reducción de la velocidad de vuelo, ausencia de coordinación, depresión, ceguera o vocalización espontánea (Raidal y Jensch, 2000). También ha sido reportado en rapaces convulsiones, anorexia, pérdida de peso, vomito, debilidad, respiración dificultosa y plumas erizadas (Tarello, 2006).

Patogénesis

Tres especies de *Leucocytozoon* han sido reportadas como patogénicas para aves silvestres, *L. simondi*, *L. marchouxi* y *L. toddi*. Asimismo, se ha reportado mortalidad en búhos juveniles atribuidas a lesiones severas por picaduras de moscas negras y a la infección de *L. danilewskyi*, reportando que en varios de los ejemplares analizados los gametocitos ocupaban casi todos los eritrocitos del ave. Estas aves tenían numerosos esquizontes dentro de las células endoteliales del pulmón y megaloesquizontes en el hígado, corazón, músculos y bazo (Hunter *et al.*, 1997).

La patogénesis en patos y gansos está bien documentada, esta puede ser bien entendida por el ciclo de vida y el desarrollo de gametocitos y estadios exoeritrocíticos en los tejidos de las aves infectadas. Comienza con la inyección de los esporozoítos dentro del torrente sanguíneo y la subsecuente invasión de los hepatocitos. En ellos se desarrollan los merontes por un periodo de cinco días. En el día cuatro a seis post-infección, los eritrocitos se vuelven frágiles y el ave se encuentra anémica por la disminución del número de eritrocitos. La anemia está asociada con la ruptura de los merontes y la liberación de los merozoítos a la circulación. Los merozoítos invaden los eritrocitos y se desarrollan en los gametocitos redondos; los sincitios son llevados por la sangre a varios órganos incluyendo bazo, linfonodos, hígado y cerebro para posteriormente ser consumidos por los macrófagos y formar numerosos megalomerontes que contienen miles de merozoítos (Desser, 1976).

La ruptura de los megalomerontes y la liberación de los merozoítos ocurre entre el día nueve a 12 post-infección y coincide con el pico de fragilidad de los eritrocitos y la anemia. La alta mortalidad de los patos juveniles ocurre en el día 12 post-infección cuando la anemia alcanza su punto más alto y la mayoría de los megalomerontes se han roto (Valkiūnas, 2005).

Numerosas muertes de gansos jóvenes atribuidas a la infección de *L. simondi* fueron observadas en el Refugio Nacional de Fauna Silvestre en Canadá, con mortalidades del 70% cada cuatro años (Herman *et al.*, 1975).

Patología

Las lesiones macroscópicas en leucocytozoonosis fatal incluyen esplenomegalia, hepatomegalia y palidez de los tejidos (Wobeser, 1997).

Los capilares del pulmón, hígado y bazo se encuentran distendidos por la presencia de múltiples gametocitos; sin embargo, las reacciones en los tejidos del hospedero no son evidentes. Los megalomerontes en el cerebro tienen reacciones celulares de moderadas a marcadas, los merontes pueden provocar o no reacciones ligeras a moderadas. Los megalomerontes están localizados en asociación con pequeños vasos sanguíneos y la reacción del hospedero está caracterizada por la proliferación de grandes células mononucleares. Algunos megalomerontes en el pulmón tienen reacciones marcadas consistentes con múltiples estratos de células linfoides, células plasmáticas y grandes células mononucleares y fibroblastos. Una variedad de cambios microscópicos se observa en varios órganos. En el hígado se observa una severa necrosis central que se encuentra extendida en algunos casos. El bazo se observa agrandado y congestionado. Algunas aves presentan congestión pulmonar y en algunas se reporta infiltrados de histiocitos. La infiltración de linfocitos en el miocardio se ha observado en algunas aves. se presenta hiperplasia de moderada a marcada (Forrester y Greiner, 2008).

Se ha reportado en aves de la familia Artamidae, reacciones inflamatorias y los efectos patológicos de los esquizontes pueden ser observados en el miocardio y en los riñones con un infiltrado inflamatorio de macrófagos, células plasmáticas, granulocitos en el miocardio y el pericardio, así como hemorragia en el miocardio e inflamación en los riñones (Peirce *et al.*, 2004).

Diagnóstico

El diagnóstico de la infección por especies de *Leucocytozoon* y el diagnóstico de la enfermedad causada por *Leucocytozoon* spp. debe ser considerado de manera separada. Las infecciones por *Leucocytozoon* spp. puede ser diagnosticada fácilmente por la examinación de frotis sanguíneos encontrando en ellos los característicos gametocitos (Forrester y Greiner, 2008). Mientras que el diagnóstico de leucocytozoonosis puede incluir la observación de los signos clínicos especialmente la anemia, la presencia de las lesiones histológicas y la identificación de los gametocitos de *Leucocytozoon* spp. en la sangre (Wobeser, 1997).

Inmunidad

La información que se tiene con respecto a la respuesta inmunológica provocada por la infección causada por las especies de *Leucocytozoon* es poca en aves silvestres, sin embargo, se cuenta con estudios experimentales tanto en patos como en pollos (Forrester y Greiner, 2008).

Se desconoce si la respuesta inmune que ocurre en pollos infectados con *L. caulleryi* también ocurre en infecciones primarias en aves silvestres con otras especies de *Leucocytozoon*. En aves acuáticas infectadas con *L. simondi*, no se observa esta reacción, sin embargo, los patos expuestos a infecciones primarias de *L. simondi* y posteriormente vueltos a exponer a los vectores infectados tres semanas después presentaron una persistencia menor en la parasitemia que los

patos no infectados del grupo control que fueron expuestos a los vectores infectados al mismo tiempo (Fallis *et al.*, 1951).

Impacto en la población de aves silvestres

El impacto de la leucocytozoonosis en las poblaciones de aves silvestres no es claro, las tres especies a considerar para las aves silvestres son; *L. simondi* en aves acuáticas, *L. marchouxi* en pichones y palomas y *L. toddi* en rapaces; sin embargo, puede haber otras especies patogénicas que no han sido reconocidas como tal hasta el momento (Forrester y Greiner, 2008).

Se ha reportado que existe una asociación en la prevalencia de *Leucocytozoon* con un incremento en el riesgo a la depredación de los hospederos, existe una relación entre la vulnerabilidad a ser presa con la masa corporal, y la densidad de la población (Moller y Nielsen, 2007).

En las palomas rosadas se reportó mortalidad atribuida a una infección ocasionada por *L. marchouxi*, las palomas de menos de un año de edad presentaron una mayor prevalencia comparada con las aves de mayor edad. La mortalidad en las aves muestreadas fue del 21% (Bunbury *et al.*, 2007).

Las aves silvestres comúnmente tienen infecciones concurrentes con una gran variedad de otros agentes infecciosos y no infecciosos. Las infecciones con *Leucocytozoon* pueden tener efectos adicionales o interactuar con estos agentes en sinergia y comprometer el comportamiento o la salud de las aves. Las infecciones por *Leucocytozoon* pueden no ser la causa directa de muerte, pero puede elevar la susceptibilidad del hospedero a la depredación o comprometer el estado físico para la reproducción o la migración. Se conoce poco acerca del costo fisiológico y ecológico ocasionado por la infección con *Leucocytozoon* (Forrester y Greiner, 2008).

Tratamiento y control

Una variedad de técnicas ha sido usada para prevenir y tratar clínicamente la enfermedad causada por *Leucocytozoon caulleryi* y *Leucocytozoon smithi* en aves domésticas (Forrester y Greiner, 2008).

En aves marinas positivas a infección con *Leucocytozoon* han sido tratadas con metronidazol a dosis de 40 mg/kg PO (vía oral) por 10 días (Parsons *et al.*, 2017).

Se han desarrollado dos vacunas contra los megalomerontes de *L. caulleryi* para proteger a pollos contra leucocytozoonosis. La vacuna recombinante O-rR7 está basada en esquizontes de segunda generación la cual fue verificada en condiciones de campo obteniendo resultados positivos para la inmunización y un incremento en la producción de huevo (Ito y Gotanda, 2004).

Plasmodium

Las infecciones causadas por las especies de *Plasmodium* en aves se conocen como Malaria aviar, la cual es una enfermedad de las aves que es transmitida por mosquitos, tiene un amplio rango de hospederos y una gran distribución geográfica. Las especies de *Plasmodium* que afectan a las aves comparten características morfológicas y de desarrollo que están relacionadas estrechamente con los parásitos hemosporidios del género *Haemoproteus* y *Leucocytozoon*, sin embargo, se distinguen de estos por la presencia de la fase de reproducción asexual en los eritrocitos circulantes (Atkinson, 2008).

Distribución

Las especies de *Plasmodium* que infectan a las aves tienen una distribución cosmopolita, se encuentran en la mayoría de las zonas zoo geográficas del planeta con excepción de la Antártica, donde los vectores responsables de la transmisión

no se encuentran. Los reportes de *Plasmodium* de la región australiana son mucho menores que en otras zonas del planeta (Atkinson, 2008). Se tiene reporte de siete especies de *Plasmodium*, las cuales tienen un amplio rango de hospederos, con reportes de por lo menos 67 especies de aves hospederas (Valkiūnas, 2005).

Rango de hospederos

Las infecciones con *Plasmodium* han sido reportadas en casi todos los órdenes de aves con la excepción de los Struthioniformes, Coliiformes y Trogoniformes, sin embargo, solo la mitad de todas las especies de aves han sido muestreadas buscando este parásito (Atkinson, 2008). La mayor diversidad de especies de *Plasmodium* se ha registrado en los Galliformes, Columbiformes y Passeriformes (Valkiūnas, 2005).

Plasmodium relictum es una de las especies más distribuidas en los hospederos, la infección natural ocurre en por lo menos 70 familias de aves. El amplio rango de hospederos de las especies de *Plasmodium* es considerado característico de este género. Basadas en la identificación por métodos tradicionales como la morfometría algunas especies parecen tener una distribución bastante estricta de hospederos en las poblaciones silvestres (Atkinson, 2008).

Las aplicaciones recientes de los métodos moleculares en las aves hospederas ha revelado una gran complejidad de los linajes del género *Plasmodium* y lo estrechamente relacionado que se encuentra con el género *Haemoproteus*, actualmente es difícil relacionar las especies por medio de la morfometría tradicional (Bensch *et al.*, 2004).

Etiología

Los miembros de este género están clasificados en el filo Apicomplexa, orden Haemosporida, familia Plasmodiidae y están definidos por su desarrollo intraeritrocitario y su reproducción asexual en el torrente sanguíneo (Peirce, 2000).

Se reconocen seis subgéneros en las especies de Plasmodioides, estos inusuales parásitos de las aves carecen de gránulos pigmentados en todos los estadios del desarrollo y se desarrollan exclusivamente en los leucocitos y trombocitos circulantes (Atkinson, 2008).

Las especies de *Plasmodium* se distinguen principalmente por el rango de hospederos, los vectores y el desarrollo característico de estadios exoeritrocíticos en el tejido (Figura 5). Se reconocen más de 40 especies, sin embargo, este número está cambiando continuamente ya que regularmente nuevas especies son descritas (Atkinson, 2008).

Gracias a la reciente aplicación de métodos moleculares a la taxonomía de este grupo se han identificado nuevas especies, mientras que otras se han redefinido (Bensch *et al.*, 2004). El entendimiento de la taxonomía y la filogenia de estos parásitos, así como su clasificación probablemente se someterá a una nueva revisión en los próximos años (Valkiūnas, 2005).

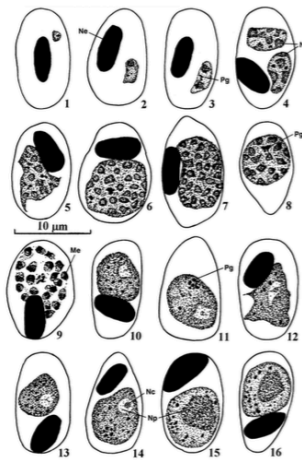


Figura 5. Morfología de los gametocitos de *Plasmodium relictum* en aves (Valkiūnas, 2005).

Epizootiología

El conocimiento del ciclo de vida de los parásitos de la malaria aviar ha sido posible gracias a los modelos experimentales, principalmente por que se ha usado como modelo de estudio de la malaria en humanos. El desarrollo de las especies del subgénero *Haemamoeba* es el más estudiado. Los mosquitos hematófagos (Diptera: Culicidae) son los vectores del parásito de la malaria en aves. Únicamente las hembras de estos insectos son las que consumen sangre y por consiguiente participan en la diseminación de la infección. La gran mayoría de las especies de vectores pertenecen a los géneros *Culex*, *Aedes* y *Culiseta*. Los mosquitos del género *Anopheles* también son vectores de ciertas especies (Valkiūnas, 2005).

La merogonia exoeritrocítica ocurre en las células de las aves de origen mesodérmico, es decir en las células endoteliales que recubren los capilares, en las células hematopoyéticas y macrófagos del sistema linfoide (Figura 6). Los merontes eritrocitarios se desarrollan en las células de la serie eritrocitaria, mientras que los gametocitos se desarrollan principalmente en eritrocitos maduros (Valkiūnas, 2005).

El desarrollo en las aves puede estar dividido en merogonia exoeritrocítica, merogonia eritrocitaria y la formación de gametocitos. La merogonia exoeritrocítica es dividida en primaria (pre-eritrocitaria) y secundaria (post eritrocitaria). La merogonia exoeritrocítica primaria consiste en dos generaciones de merontes, los cuales son llamados criptozoitos y metacriptozoitos, respectivamente. La merogonia exoeritrocítica secundaria incluye múltiple generación de merontes, llamados fanerozoitos (Valkiūnas, 2005).

Los esporozoítos son inyectados por el vector en las aves dando lugar a la primera generación de merontes exoeritrocíticos primarios (criptozoitos). Estos se desarrollan predominantemente en las células reticulares de varios órganos y tejidos incluyendo la piel. Frecuentemente los criptozoitos son encontrados en el bazo, usualmente el diámetro de estos no excede los 30 μm , menos de 100

merozoítos se forman ahí; estos aun no pueden infectar las células sanguíneas. Los merozoítos desarrollados en criptozoitos inducen una segunda generación de merontes exoeritrocíticos primarios, los cuales se desarrollan en los macrófagos. Los metacriptozoitos son muy parecidos a los criptozoitos, pero usualmente contienen un gran número de merozoítos (Valkiūnas, 2005).

Los merozoítos formados en metacriptozoitos pueden infectar las células de la serie eritrocitaria. Una parte de los merozoítos desarrollados en metacriptozoitos induce la siguiente generación de metacriptozoitos y fanerozoitos, mientras que otra parte invade los eritrocitos, dando lugar a los estadios asexuales y los gametocitos, que simultáneamente aparecen en la sangre. En este estadio del desarrollo, el número de parásitos en las células sanguíneas aun no es grande. El tiempo para la inoculación de los esporozoítos en las aves hasta la maduración de la primera generación de metacriptozoitos se conoce como periodo pre patente del desarrollo lo cual usualmente no excede las 120 hs para *Plasmodium relictum* (Valkiūnas, 2005).

El desarrollo de los merozoítos en metacriptozoitos induce el desarrollo asexual en los eritrocitos. El parásito penetra tanto en los eritrocitos jóvenes como maduros, volviéndose de forma redondeada y dando lugar a los trofozoítos. Algunas veces los trofozoítos juveniles poseen una gran vacuola y un núcleo excéntrico, el cual se ve como un anillo. El anillo sin embargo no se forma en todas las especies de malaria aviar. La forma creciente de los trofozoítos varía. La cantidad del citoplasma y el tamaño del núcleo se incrementan con el crecimiento del parásito y después aparecen los gránulos pigmentados de la malaria. Desde el momento de la primera división del núcleo, el parásito se desarrolla en un estadio denominado meronte eritrocitario. Como resultado de división múltiple asexual los merozoítos unicelulares se forman los merontes eritrocitarios. Su número es un de las mayores características en la identificación de las especies. Los merontes eritrocitarios de los parásitos de la malaria contienen gránulos pigmentados de color dorado, café o negro, que frecuentemente se agrupan en merontes maduros. El pigmento es un

residuo insoluble formado en el proceso de la digestión de la hemoglobina. Los gránulos pigmentados son fáciles de distinguir bajo el microscopio (Valkiūnas, 2005).

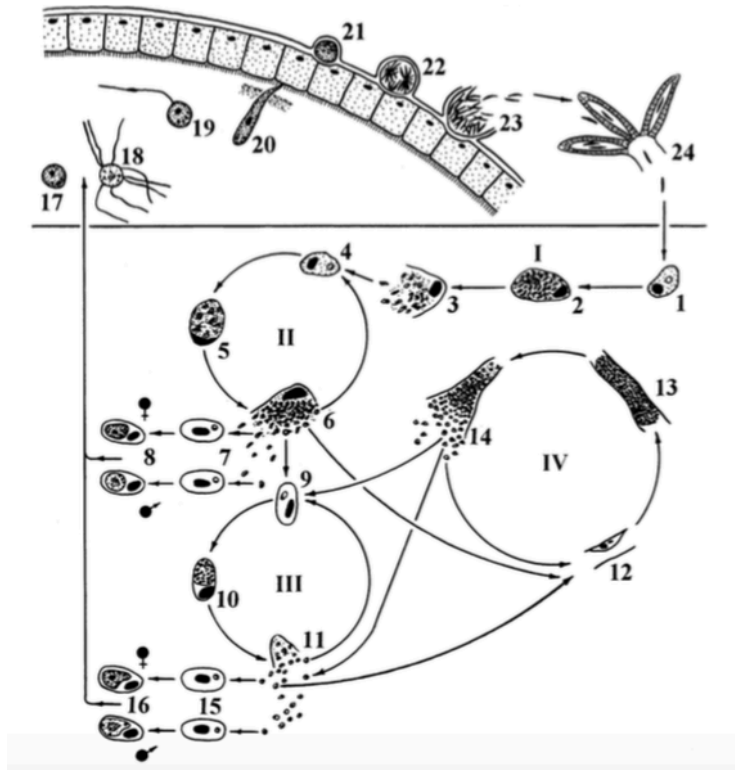


Figura 6. Diagrama del Ciclo de vida de *Plasmodium relictum* en aves (Valkiūnas, 2005).

Signos clínicos

Las aves infectadas se observan anémicas, letárgicas, anoréxicas y con las plumas erizadas. El hematocrito puede estar disminuido en más del 50%. En pollos infectados *Plasmodium gallinaceum* y *Plasmodium juxtannucleare* se ha descrito letargia, crestas pálidas, heces verdosas, diarrea y parálisis parcial o total. En pavos jóvenes infectados con *Plasmodium durae* se observan pocos signos antes de la muerte cuando ocurren severas convulsiones, en adultos se observan letárgicos, anoréxicos y en ocasiones desarrollan hipertensión pulmonar derecha como consecuencia de hipertensión arterial pulmonar hipóxica, también se llega a

desarrollar edema en las patas. Los capilares cerebrales pueden estar bloqueados por el desarrollo de los merontes exoeritrocíticos y las aves infectadas pueden exhibir signos neurológicos y parálisis antes de la muerte (Atkinson, 2008).

Patología y patogénesis

La malaria aviar es una enfermedad principalmente de la sangre y el SFM, y el progreso de la enfermedad y los signos clínicos están relacionados con el incremento del número de parásitos en la circulación periférica (van Riper *et al.*, 1994). Las especies más patogénicas pueden causar el 90% de mortalidad. Algunos cambios patológicos de la malaria aviar están relacionados con los estadios exoeritrocíticos, en donde se pueden llegar a bloquear los capilares del cerebro, resultado en la muerte por el colapso del sistema nervioso central (Bermudez, 2013).

Se ha reportado en pingüinos infectados con *Plasmodium* lesiones subcutáneas, edema pulmonar y epicárdico, hidropericardio, así como hepato y esplenomegalia, el mayor número de esquizontes exoeritrocíticos se encontró en los pulmones, seguido de bazo, hígado y corazón, un menor número se encontró en riñones, musculo esquelético, intestinos, cerebro y medula espinal (Fleischman *et al.*, 1968).

En aves paseriformes muestreadas en Austria se observó esplenomegalia, hepatomegalia y un severo edema pulmonar en 42 de las 233 aves positivas, en nueve de estas se observaron signos neurológicos como ataxia, torticolis lo cual era observado justo antes de la muerte. Se observaron merontes predominantemente en cerebro, hígado, pulmón, bazo y corazón. En el cerebro la mayor cantidad de merontes estaban presentes en el endotelio de los capilares, frecuentemente ocasionado una oclusión del lumen. En el hígado se observaron grandes merontes que contenían numerosos merozoítos en el endotelio sinusoidal y en el citoplasma de las células de von Kupffer. En el pulmón el endotelio contenía generalmente grandes números de merontes. El bazo mostró necrosis multifocal y de moderado a grandes números de merontes (Dinhopl *et al.*, 2015).

En aves paseriformes de Hawái se han realizado estudios experimentales con *Plasmodium*, reportando que 10 aves murieron a consecuencia de la infección, observando oscurecimiento y agrandamiento del hígado y el bazo y la presencia de edema en corazón, las aves murieron a los 21 días post infección (Atkinson *et al.*, 2000).

Las infecciones con *P. cathemerium* produce miopatía inflamatoria en musculo esquelético en canarios infectados experimentalmente. Esta caracterizado por la degradación de los capilares y las fibras musculares y la presencia de infiltrado de células mononucleares, también se observó anemia, deficiencia circulatoria e hipertrofia del corazón (Carmona *et al.*, 1996).

Diagnóstico

La técnica diagnóstica por excelencia para *Plasmodium* es un frotis sanguíneo, en donde es posible demostrar la presencia de los merontes eritrocíticos y los gametocitos con prominentes gránulos pigmentados. Tradicionalmente se identifica la especie por el tamaño y la forma de los gametocitos y los merontes intraeritrocitarios, el número de merozoítos producidos por los merontes maduros, los cambios y la morfología de los eritrocitos del hospedero y otras características biológicas como el rango del hospedero, la susceptibilidad de las especies de mosquitos, la morfología y localización de los merontes exoeritrocíticos (Valkiūnas, 2005).

La mayoría de las infecciones por *Plasmodium* en aves silvestres son crónicas sin embargo la intensidad puede ser extremadamente baja. En estos casos puede ser imposible de identificar al parásito bajo el nivel de subgénero. Cuando los merontes eritrocíticos no están presentes, puede volverse difícil distinguir los gametocitos de *Plasmodium* de los de *Haemoproteus*, a pesar de que los gametocitos de

Haemoproteus son más pequeños y robustos que los de *Plasmodium* (Atkinson, 2008).

El desarrollo relativamente reciente de las técnicas moleculares como métodos de diagnóstico de la malaria aviar usando PCR (por sus siglas en inglés: *polymerase chain reaction*), el desarrollo de oligonucleótidos para genes ribosomales y mitocondriales ayudan como método diagnóstico, aportando una mayor sensibilidad en casos con una parasitemia extremadamente baja (Jarvi *et al.*, 2002).

Inmunidad

Las aves infectadas con *Plasmodium* desarrollan anticuerpos y una respuesta celular a los parásitos eritrocitarios (van Riper *et al.*, 1994). Inmunológicamente las especies endémicas que no han tenido contacto con la malaria aviar y no han co evolucionado con el parásito se ven más afectados por la infección. La introducción accidental de especies de *Plasmodium* en el archipiélago Hawaiano es una prueba de esto, cuando el mosquito vector fue introducido en las islas la prevalencia de la infección y la parasitemia fue alta en aves paseriformes de la familia Fringillidae, por lo que la infección produjo una marcada disminución de la masa corporal, el hematocrito y finalmente una alta mortalidad (Atkinson *et al.*, 2000).

Durante el curso de la infección, la primera fase estimula una respuesta inflamatoria con la liberación de compuestos citotóxicos seguidos por una respuesta adquirida y la producción de anticuerpos. Previa exposición al patógeno confiere una protección parcial a una infección subsecuente (Sorci, 2013). Se han realizado estudios en el proceso de resistencia/tolerancia a los parásitos de la malaria, estos han sido realizados experimentalmente en canarios domésticos infectados con *Plasmodium relictum* (Cellier-Holzem *et al.*, 2010).

La persistencia de infecciones subclínicas puede hacer que las aves sean vulnerables a los parásitos eritrocitarios sobre todo si el hospedero esta

inmunológicamente comprometido por estrés o por infecciones causadas por otros patógenos. La exposición a otras enfermedades puede comprometer el sistema inmunológico e incluso intensificar la infección (Atkinson, 2008).

Impacto en la población de aves silvestres

Existe poca evidencia de que las especies de *Plasmodium* ocasionen alta mortalidad en sus hospederos naturales, solo el 4% de los estudios realizados han reportado mortalidad o patogenicidad en las aves infectadas, la mayoría de estos estudios son en aves domésticas o en aves de colecciones zoológicas. Existe poca evidencia de los efectos directos e indirectos en la vida de las aves o su éxito reproductivo. En un estudio realizado en el comportamiento del canto en gorriones corona blanca (*Zonotrichia leucophrys*), la consistencia del canto fue influenciada por la infección por *Plasmodium* y *Leucocytozoon*. Las aves infectadas con *Plasmodium* producían menos cantos después de la reproducción experimental de cantos grabados (Gilman *et al.*, 2007). Lo cual puede provocar un impacto significativo en la elección de pareja y el éxito reproductivo en machos infectados. Efectos similares en infecciones agudas pueden incrementar el riesgo de ser depredados (Møller y Nielsen, 2007).

En estudios experimentales en donde se manipuló el tamaño de la nidada, esto condujo a un incremento en la prevalencia de *Plasmodium* en hembras de *Parus major* que tuvieron un mayor número de huevos, soportando la idea en que existe un intercambio entre el costo de la producción de huevos y la respuesta contra los parásitos (Oppliger *et al.*, 1996).

Los reportes más significativos de la patogenicidad de las especies de *Plasmodium* que infectan a las aves se han realizado en aves de colecciones privadas, colecciones zoológicas o en islas aisladas que no han tenido contacto con el agente y por lo tanto son interacciones nuevas entre hospedero y parásito. La malaria aviar es particularmente patogénica en pingüinos en cautiverio que no han tenido

contacto con los vectores en ambientes naturales, no se han documentado casos de mortalidad por *Plasmodium* en pingüinos en vida libre (Sturrock y Tompkins, 2007).

La introducción accidental de *P. relictum* y del vector (*C. quinquefasciatus*) a las islas hawaianas ha tenido un devastador impacto en las aves endémicas de Hawái conduciendo a la extinción a una especie endémica de las islas (Warner, 1968).

Tratamiento y control

El fosfato de cloroquina, el fosfato de primaquina y la mefloquina son efectivos en el tratamiento de canarios, pingüinos y rapaces infectados con malaria aviar (Remple, 2004). Los fármacos anticoccidiostáticos como la Sulfamonometoxina y Sulfacloropiridazina han resultado ser efectivos en el tratamiento de *P. durae* en pavos domésticos y también puede ser efectiva contra *P. gallinaceum*. La Sulfamonometoxina suprime la parasitemia, pero no provee una protección completa contra la mortalidad cuando aparecen los parásitos circulantes. Sulfacloropiridazina reduce la mortalidad, pero no tiene efecto en la parasitemia, puede tener alguna eficacia contra los esquizontes exoeritrocíticos (Huchzermeyer, 1993).

Hepatozoon

El género *Hepatozoon* son hemoparásitos pertenecientes al filo Apicomplexa, que puede infectar un gran rango de hospederos mamíferos, reptiles, anfibios y aves (Smith, 1996). En las aves se ha reportado la presencia de *Hepatozoon* en varias familias y en total 15 especies se consideran validas (Peirce, 2005).

En general el ciclo de vida consiste en el desarrollo en el invertebrado cuando ingiere la sangre de un vertebrado infectado y la infección de un vertebrado por la ingestión de un invertebrado hematófago. En algunos casos los vertebrados pueden

funcionar como hospederos intermediarios e infectar a los predadores cuando estos los consumen. El parásito puede infectar los eritrocitos o comúnmente leucocitos en aves y mamíferos (Smith, 1996).

Las especies de *Hepatozoon* exhiben una amplia variedad de ciclos de vida lo cual es consistente con el rango de hospederos vertebrados e invertebrados que utilizan estos parásitos. Sin embargo, un ciclo de vida básico sería el desarrollo esporogónico y la formación de oocistos ocurren en el invertebrado hematófago, y el desarrollo merogónico y gametogónico ocurren en los vertebrados que ingieren a los invertebrados infectados. La complejidad del ciclo de vida se manifiesta en la formación de quistes dizoicos latentes en los órganos internos, especialmente en el hígado y pulmones de algunos hospederos vertebrados infectados con especies de *Hepatozoon* (Smith, 1996).

Trypanosoma

Los parásitos clasificados en el género *Trypanosoma* tienen un ciclo de vida con estadios en la sangre del hospedero vertebrados, el cual se puede encontrar también en estadios en un hospedero invertebrado. A pesar de que se conocen 100 especies de tripanosomas en las aves se cuestiona la viabilidad de muchas de estas (Votypka *et al.*, 2002). *Trypanosoma avium* ha sido reportado en un amplio rango y número de especies de aves. Típicamente *Trypanosoma* spp. tiene una baja parasitemia. Por lo tanto, los frotis sanguíneos deben revisarse completamente con un menor objetivo para facilitar la detección de los parásitos. Sin embargo, el tamaño y la morfología distintiva de los parásitos ayudan a su identificación. Se observa una variedad en la morfología de los diferentes estadios del ciclo de vida del *Trypanosoma* spp. El estadio más reconocido es el tripomastigote. Generalmente, los tripomastigotes tienen una forma elongada que se estrecha hasta formar un flagelo. Una membrana ondulante se extiende a lo largo de gran parte de la longitud del parásito, un cinetoplasto focal basófilo oscuro, está ubicado en la parte anterior de este. El citoplasma es típicamente de un color basófilo pálido.

La morfología y la dimensión relativa de las estructuras varia con las especies y los estadios del desarrollo en el hospedero (Clark *et al.*, 2009).

HELMINTOS

Los helmintos son parásitos parecidos a gusanos, son invertebrados caracterizados por cuerpos alargados, planos o redondos. Los gusanos planos o platelmintos incluyen a los trematodos y tenias. Los gusanos redondos son nematodos, estos grupos se subdividen por conveniencia de acuerdo con el órgano del hospedero en el que residen. Los helmintos se desarrollan en etapas, huevos, larva (juvenil) y adulto. El conocimiento de las diferentes etapas en relación con su crecimiento y desarrollo es la base para comprender la epidemiología y la patogénesis de las enfermedades causadas por helmintos, así como para el diagnóstico y el tratamiento de los hospederos que albergan estos parásitos (Castro, 1996).

Nematodos filaroides

Los filaroides son parásitos nematodos altamente especializados que parasitan los tejidos de las aves, mamíferos, anfibios y reptiles. Aproximadamente 160 especies se conocen en las aves. Sin embargo, las infecciones son mucho más comunes de lo que se reportan puesto que los estadios adultos pueden ser difíciles de encontrar y estos no son vistos o son pasados por alto en la necropsia. En algunas excepciones las filarias que infectan a las aves pueden no ser patogénicas. Aunado a esto algunas especies tiene una vida corta y desaparecen después de que aparezca las microfilarias (MF), primera etapa larvaria producida por la hembra adulta (Bartlett, 2008).

El ciclo de vida de todos los filaroides incluye un insecto hematófago como vector que ingiere las MF. Después de que estas son liberadas por las hembras adultas, las MF generalmente ingresan al torrente sanguíneo para que el vector las absorba. Las MF en el torrente sanguíneo son relativamente fáciles de detectar, la mayoría

de lo que se sabe con respecto a los filaroides de las aves como parásitos comunes de las aves está basado en la examinación de los hospederos sobrevivientes y la examinación de los frotis sanguíneos. Sin embargo, no siempre se hacen las pruebas para detectar hemoparásitos, la mayoría no incluyen examinación microscópica de la piel, en donde podríamos observar la presencia de las MF, probablemente están más distribuidas de lo que esta reportado. Por lo tanto, un ave puede ser portadora de más de una especie filaroide, tanto del mismo género como de otro, y esta posibilidad no siempre es tomada en cuenta en las necropsias (Bartlett, 2008).

Filaroides adultos

Todos los géneros de los filaroides de las aves están clasificados en la familia Onchocercidae, se han reconocido 16 géneros. Aproximadamente se conocen 160 especies basadas en la descripción de los estadios adultos, por lo tanto, cuando la descripción está basada únicamente en las MF esta desaprobada. Los estadios adultos de los filaroides en las aves son nematodos esbeltos de color blancuzco con una cutícula delgada. Generalmente miden de 1 a 5 cm de longitud, sin embargo, especímenes más cortos o largos no son inusuales. Las hembras generalmente son más largas que los machos. En comparación con otros parásitos nematodos de los vertebrados, los filaroides tienen una morfología externa simple. Las papilas cefálicas están reducidas. El extremo caudal en los machos tiene una papila caudal y en algunas especies están presentes estructuras parecidas a alas. Se pueden observar estriaciones cuticulares delicadas o marcadas a lo largo del cuerpo (Bartlett, 2008).

Microfilarias

Los filaroides de las aves producen MF (microfilarias) que pueden estar en la sangre o en la piel. La morfología de las MF puede proveer pistas útiles para una identificación genérica, pero es insuficiente como una base sólida para la

identificación de las especies la cual está basada principalmente en los estadios adultos. Las características clave de las MF son más fácilmente y mejor observadas en montajes frescos ya que pueden ser oscurecidas en frotis sanguíneos secos (Bartlett, 2008). Al preparar los frotis sanguíneos es necesario dejar una preparación sin teñir fijada en metanol al 100%, para poder contar los núcleos de las MF, una característica importante para la identificación taxonómica y estos se pierden con la tinción o no son fácilmente identificables cuando la preparación está teñida (Santiago-Alarcon, 2015).

Rango de hospederos y distribución

De las 175 familias de aves en las que se ha reportado la presencia de estos parásitos se cruzaron referencias con los 16 géneros de filaroides reportados en aves. De estos *Pelecitus* es el género más distribuido se ha reportado en 17 ordenes, seguido por *Chandlerella* en 13, y *Paronchocerca*, *Splendidofilaria* y *Cardiofilaria* en 11. La familia Phasianidae ha sido más estudiada dado su importancia económica por lo que se han reportado ocho géneros. De igual manera se han reportado más géneros en las familias de aves que son más comunes en las colecciones zoológicas o como mascotas, en la familia Psittacidae se reportaron siete géneros y tanto en Muscicapidae y Corvidae se reportaron siete géneros. Con base en esto se ha reportado la presencia de MF en 97 familias de aves de las 175 reportadas (Bartlett, 2008).

La distribución de los filaroides en las aves es reducida cuando los vectores son específicos de los hospederos y más amplia cuando el vector tiene un rango de hospedero más extenso (Bartlett, 2008).

Epizootiología

El ciclo de vida de los filaroides en las aves sigue un patrón estándar que invariablemente involucra a un vertebrado como hospedero definitivo y un

invertebrado como intermediario o vector. Los estadios adultos de los gusanos hembra y macho se reproducen en los vertebrados, y la hembra produce las MF que entran en la sangre del hospedero o en la piel. El tercer estadio larvario infeccioso migra a la cabeza y a las glándulas salivales del artrópodo y una vez que el insecto se alimenta ingresa en la piel del hospedero. Con las condiciones adecuadas de humedad rápidamente entran por la herida hecha por el artrópodo y tienen acceso al cuerpo del hospedero. En el vertebrado continua el desarrollo del cuarto estadio larvario y finalmente el quinto estadio adulto (Bartlett, 2008).

El género *Eulimdana* y *Pelecitus* se sabe que tienen algunas especies que producen MF que habitan en la piel y otras especies que producen MF que habitan en el torrente sanguíneo. Otros géneros solo tienen estadios de MF en el torrente sanguíneo. Algunas especies de filaroides de las aves tienen rasgos de su historia de vida que aún no se conocen (Bartlett, 2008).

Signos clínicos

Poco ha sido reportado con respecto a los signos clínicos producidos por la infección con filaroides en aves puesto que pocas son las especies patogénicas e incluso cuando lo son las infecciones generalmente son subclínicas. Aunado a esto, los signos clínicos de la enfermedad, solo se observan en pocas aves (Bartlett, 2008).

Se ha reportado casos en loros donde los signos clínicos varían desde letargia, heces sanguinolentas, inflamación de las articulaciones de ambas patas y muerte (Greve *et al.*, 1982). En palomas domesticas se ha observado pérdida del apetito, emaciación y muerte (Pizarro *et al.*, 1994). En un tucán se reportó disminución del peso, plumaje maltratado, inflamación de las articulaciones, disminución del movimiento y muerte (Madani y Dorrestein, 2012). En emús se ha reportado torticolis, ataxia progresiva y muerte (Law *et al.*, 1993).

Patología

Las MF generalmente se consideran no patogénicas, sin embargo, existen excepciones. En cuervos americanos infectados con MF de *Splendidofilaria caperata*, en torrente sanguíneo se observa una inflamación en las paredes de las arterias pulmonares. Las MF atrapadas in situ y la infección se mantiene oculta. En palomas domesticas en las que se observan MF en la piel está la posibilidad de que causen enfermedad (Bartlett, 2008).

En varias especies de anátidos se ha reportado debilidad, cardiomegalia, hemorragia en miocardio, inflamación del miocardio, necrosis y eventualmente fibrosis, la severidad de las lesiones incrementan cuando el número de gusanos aumenta (Bartlett, 2008). En palomas domesticas se observó moderada traqueítis catarral, necrosis del hígado, el tejido subcutáneo del cuello congestionado y hemorrágico (Pizarro *et al.*, 1994).

En aves de la familia Corvidae en la urraca piquirroja (*Urocissa erythrorhyncha*) infectadas con MF, se ha observado neumonía aguada, caracterizada por congestión, edema e infiltración de los capilares por un gran número de granulocitos. Los granulocitos son visibles en las paredes del lumen del para bronquio. Se observaron MF en el hígado asociadas con marcada infiltración linfoide peri vascular (Simpson *et al.*, 1996).

Se ha reportado dilatación del ventrículo derecho del corazón en un tucán y las arterias coronarias congestionadas. Los riñones se observaron oscurecidos y congestionados, el duodeno y otras partes de intestino estaban llenos de contenido mucoso anaranjado (Madani y Dorrestein, 2012).

En el loro eclecto (*Eclectus roratus*) se observaron MF distribuidas en pequeños vasos del cerebro, corazón, pulmones, hígado y riñones. La vena central se encontró llena con numerosas MF, en el cerebro se observaron múltiples

microfilarias grandes y oscuras en los vasos del cerebelo. Se observaron MF en las arterias renales y en los capilares glomerulares e incluso presentes en las venas y sinusoides del hígado (Huang *et al.*, 2016).

Diagnóstico

Para la identificación de la especie es esencial encontrar los estadios adultos en la necropsia, esto provee gran información acerca del género de los filaroides, para posteriormente cotejarlo con lo que ha sido reportado en algunas familias de aves (Bartlett, 2008).

Es importante usar técnicas apropiadas para la observación de las MF, cuando el cadáver de un animal es examinado una pequeña porción del pulmón y de la piel se puede dividir en pequeñas partes en laminillas con unas gotas de solución salina. Después de remover un pedazo del tejido se coloca en una laminilla y se colocan unas gotas de formol al 2-5%, y posteriormente se coloca un cubre objetos para observarla al microscopio. Cuando el ave está viva se toma una muestra de sangre, preferiblemente usando técnicas que no involucren el secado de la sangre. La técnica de centrifugación de hematocrito permite estudiar las MF en un montaje húmedo. Después de la centrifugación el capilar del hematocrito se debe romper entre el suero y las células sanguíneas donde las MF están concentradas y se colocan en una laminilla para su observación. Los frotis sanguíneos para su posterior tinción y observación también son utilizados (Bartlett, 2008).

Inmunidad

Muy poco es lo que se conoce con respecto a la respuesta inmune producida por la infección de filaroides en aves silvestres. Los adultos, sin embargo, pueden ser más vulnerables ante la respuesta inmunológica del hospedero; sin embargo, se requieren más estudios al respecto (Anderson y Bartlett, 1994).

La presencia de MF está asociada con el incremento del rango heterófilo/linfocito, este aumento es provocado por el incremento de heterófilos y la disminución de linfocitos lo que supone una respuesta inmunológica a la presencia de las MF (Clark *et al.*, 2016).

Impacto en la población de aves silvestres

Muy poco se conoce acerca del impacto de los filaroides en las poblaciones de aves y en este aspecto ha sido poco estudiado. Las MF pueden causar inflamación de las venas y arterias ocasionando impactos negativos en los hospederos, llegando a ocasionar mortalidades, lo que puede llegar a una disminución o desbalances en la diversidad de las especies de aves en vida silvestre (Silva *et al.*, 2015).

Tratamiento y control

Las infecciones con filaroides en aves son raras y de preocupación menor, usualmente no está indicado el tratamiento, sin embargo, se ha empleado levamisol, mebendazol y febendazol en psitácidos (Bartlett, 2008). Se han tratado emús con ivermectina parece prevenir los signos clínicos (Law *et al.*, 1993).

AVES PASERIFORMES DE MÉXICO

Las aves son uno de los grupos de vertebrados más exitosos y diversos del mundo, entre sus principales características están sus coloridos plumajes, llamativos cantos y la capacidad de volar. Se han diversificado ampliamente y se encuentran distribuidas en todos los ambientes terrestres y acuáticos, excepto en los desiertos más extremos y en el centro de la Antártida, por lo cual constituyen uno de los grupos de vertebrados más ricos en especies (Navarro-Sigüenza *et al.*, 2014).

Existen 10,500 especies de aves en el mundo, de las cuales aproximadamente seis mil especies pertenecen al orden passeriformes (Ricklefs, 2012). En México se

reportan 1,150 especies. El 77% de las especies se reproducen en el país y la mayor parte de estas especies son residentes permanentes. Entre 194 y 212 se consideran endémicas de México, lo que representa entre el 18 y 20% del total de especies que están registradas en el país y entre 298 y 388 especies de la avifauna mexicana se encuentran en alguna categoría de amenaza de acuerdo a autoridades nacionales o internacionales (Navarro-Sigüenza *et al.*, 2014). En el Estado de México se reportan 221 especies de aves passeriformes (CONABIO, 2017).

Categorías de endemismo

Una especie endémica (EN) es aquella que se restringe a una región geográfica y no se encuentra en ningún otro lugar, es decir pertenecen a los límites políticos del territorio de México. Las especies cuasiendémicas (CE) son aquellas que se encuentran distribuidas ligeramente a algún país vecino debido a la continuidad del hábitat o sistemas orográficos, las especies semiendémicas (SE) incluyen a las especies cuya población completa se distribuye únicamente en México durante cierta época del año (González-García y Gómez de Silva, 2002; Berlanga *et al.*, 2015).

Categorías de residencia

Las especies consideradas Residentes (R) son las especies que viven a lo largo de todo el año en una misma región, las Migratorias de invierno (MI) son aquellas especies que se reproducen al norte del continente y pasan el invierno en México y más al sur, por lo general entre los meses de septiembre y abril, las especies Migratorias de verano (MV) son aquellas que están en México únicamente durante la temporada de reproducción en verano, por lo general entre marzo y septiembre, las especies Transitorias (T) son las que durante la migración van de paso por México para dirigirse a sus áreas de invernación al sur en el otoño, o a hacia sus áreas de reproducción en el norte durante la primavera, las Accidentales (A) son especies cuya presencia en México es rara o irregular, es decir individuos en

dispersión que están fuera de sus áreas de distribución habitual, o individuos que han sido arrastrados por fenómenos meteorológicos extremos como huracanes y tormentas y las Oceánicas (O) están representadas por las especies de aves pelágicas que pasan la mayor parte del tiempo en mar abierto, y que por lo general se reproducen en las islas. Si bien esta no es una categoría de residencia, destaca su presencia regular en el mar abierto durante la mayor parte del año (Berlanga *et al.*, 2015).

Valores de vulnerabilidad

Para la evaluación del estado de conservación de las aves del Norte América, se realizó un análisis de vulnerabilidad de las aves de México, con la participación de expertos que trabajaron en talleres organizados por la Coordinación Nacional de la Iniciativa para la Conservación de las Aves de América del Norte de la CONABIO. Se utilizó el método de la iniciativa *Partners in Flight*, asignando puntajes globales para seis factores que evalúan aspectos independientes de la vulnerabilidad de las especies en toda su área de distribución. Estos parámetros son: Tamaño de la población (PS), Distribución en época de reproducción (BD), Distribución en época no reproductiva (ND), Amenazas en época de reproducción (TB), Amenazas en época no reproductiva (TN) y Tendencia poblacional (PT). Cada puntaje refleja el grado de vulnerabilidad de una especie como resultado de una variable o factor, estos valores van desde 1, para baja vulnerabilidad, hasta 5, para alta vulnerabilidad (Berlanga *et al.*, 2015).

El valor o índice de vulnerabilidad global (VV) resulta de la suma de los valores PS más los valores más altos de BD y NB y de TB y TN más PT. Estos valores varían entre 4 y 20 y mientras mayor sea el índice, más vulnerable es la especie (Berlanga *et al.*, 2015).

Categorías oficiales de riesgo

La Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 señala aquellas especies o poblaciones de vida silvestre que se encuentran en alguna categoría de riesgo en México. De acuerdo con esta Norma Oficial, las especies se clasifican como: Sujetas a protección especial (Pr), son aquellas que podrían llegar a encontrarse amenazadas por factores que inciden negativamente en su viabilidad, por lo que se determina la necesidad de propiciar su recuperación y conservación o la recuperación y conservación de poblaciones de especies asociadas; Amenazadas (A), aquellas que podrían llegar a encontrarse en peligro de desaparecer a corto o mediano plazo, si siguen operando los factores que inciden negativamente en su viabilidad, al ocasionar el deterioro o modificación de su hábitat o disminuir directamente el tamaño de sus poblaciones; En peligro de extinción (P), aquellas cuyas áreas de distribución o tamaño de sus poblaciones en el territorio nacional han disminuido drásticamente poniendo en riesgo su vulnerabilidad biológica e todo su hábitat natural, debido a factores como la destrucción o modificación drástica del hábitat, aprovechamiento no sustentable, enfermedades o depredación, entre otros; Probablemente extintas en el medio silvestre (E), aquellas especies nativas de México cuyos ejemplares en vida libre dentro del Territorio Nacional han desaparecido, hasta donde la documentación y los estudios realizados lo prueban, y de la cual se conoce la existencia de ejemplares vivos, en confinamiento o fuera del territorio Mexicano (SEMARNAT, 2010).

Categorías de riesgo de IUCN

La Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés: *International Union for Conservation of Nature*), clasifica en la Lista Roja a aquellas especies que enfrentan un alto riesgo de extinción global. De acuerdo con esta lista, las especies se agrupan en: Extinto (EX), cuando todos los individuos han desaparecido; Extinto en estado silvestre (EW), cuando sobrevive únicamente en cautiverio o como naturalizada fuera de su área de distribución original; En

peligro crítico (CR), cuando enfrenta un riesgo de extinción extremadamente alto en vida silvestre; En peligro (EN), cuando enfrenta un riesgo de extinción muy alto en vida silvestre; Vulnerable (VU), cuando enfrenta un riesgo de extinción alto en vida silvestre; Casi amenazado (NT), cuando no se cumple con los criterios para considerarla En peligro crítico, En peligro o Vulnerable, pero podría llegar a estarlo en un futuro cercano; Preocupación menor (LC), cuando la especie evaluada es abundante y de amplia distribución; Datos insuficientes (DD), cuando no existe información adecuada sobre la abundancia y distribución para realizar una evaluación del riesgo de extinción del taxón; No evaluado (NE), cuando la especie no ha sido analizada y clasificada con base en los criterios de valoración (Berlanga *et al.*, 2015).

ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS

Las Áreas Naturales Protegidas son las zonas del territorio nacional y aquellas sobre las que la nación ejerce su soberanía y jurisdicción en donde los ambientes originales no han sido significativamente alterados por la actividad del ser humano o que requieren ser preservadas y restauradas. Se crean mediante un decreto presidencial y las actividades que pueden llevarse a cabo en ellas se establecen de acuerdo con la Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente, su reglamento, el programa de manejo y los programas de ordenamiento ecológico. Están sujetas a regímenes especiales de protección, conservación, restauración y desarrollo, según categorías establecidas en la Ley. La Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP) administra actualmente 176 áreas naturales de carácter federal que representan más de 25,394,779 hectáreas. Y están divididas en nueve regiones en el país (CONANP, 2016).

El Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca es una de las Áreas Naturales Protegidas con más antigüedad en nuestro territorio mexicano, decretado inicialmente como Parque Nacional el 25 de enero de 1936, y modificado por decreto del presidente Lázaro Cárdenas el 19 de febrero de 1937 para establecer

una reserva forestal nacional dentro del parque. Nuevamente se modificó el decreto presidencial del Nevado de Toluca, el 1 de octubre de 2013, para establecerla como Área de Protección de Flora y Fauna. El Nevado de Toluca forma parte del Sistema Volcánico Transversal, cuya vertiente oeste y norte desciende al Valle de Toluca, y la vertiente sur y suroeste desciende a la cuenca del Río Balsas. Es el cuarto volcán más grande de México, formado por sucesivas capas de lava, con un cráter de forma elíptica. Destacan dos cumbres, el Pico del Fraile con una altitud de 4,660 m s.n.m. y el Pico del Águila con 4,550 m s.n.m. (CONANP, 2016).

MEDICINA DE LA CONSERVACIÓN

La medicina de la conservación examina la interacción entre patógenos y enfermedades y sus vínculos con las sinergias que ocurren entre especies y ecosistemas. Por lo tanto, se enfoca en el estudio del contexto ecológico de la salud y la solución de problemas ecológicos. En respuesta a las crecientes implicaciones a la salud de la degradación ambiental, la medicina de la conservación incluye la examinación de la relación entre (a) cambios climáticos, calidad del hábitat y uso de suelo (b) agentes infecciosos emergentes y re-emergentes y los contaminantes ambientales y (c) el mantenimiento de la biodiversidad y la función de los ecosistemas puesto que ellos mantienen la salud de las comunidades de plantas y animales incluido el ser humano (Aguirre *et al.*, 2012).

La ciencia y la práctica de la medicina de la conservación involucra una visión global en: clima, destrucción y alteración de hábitats, biodiversidad; incluyendo las poblaciones de fauna silvestre, animales domésticos, patógenos, parásitos y contaminantes. Además, la medicina de la conservación se enfoca en los vínculos explícitos entre estas entidades. Como una disciplina orientada a la solución, la utilidad de la medicina de la conservación dependerá en última instancia en aplicarla para resolver problemas (Aguirre *et al.*, 2012).

JUSTIFICACIÓN

Las aves participan en el equilibrio de los ambientes naturales, ejercen funciones ecológicas vitales como la diseminación de semillas y el control de plagas en los cultivos. México ocupa el onceavo lugar en la riqueza avifaunística, el cuarto en proporción de endemismos; y el Estado de México cuenta con el 20.75% de estas especies endémicas. La parasitosis en las aves silvestres de México ha sido poco estudiada. Las infecciones por parásitos sanguíneos pueden provocar enfermedad y algunas veces la muerte del hospedero. Por lo tanto, conducir trabajos de investigación para identificar los hemoparásitos que infectan a las aves de la región, con especial énfasis en aquellas que son endémicas, permitirá establecer el estado de salud de las aves paseriformes del Estado de México.

HIPÓTESIS

Las aves paseriformes del Estado de México están infectadas con parásitos del orden Haemosporida, y el género de hemoparásitos con mayor proporción en las aves es *Haemoproteus*.

OBJETIVOS

Identificar los géneros de los hemoparásitos que infectan a las aves paseriformes del Estado de México.

Determinar la proporción de aves paseriformes infectadas con hemoparásitos.

Determinar la densidad de parasitemia en las aves infectadas con hemoparásitos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sitios de muestreo

El muestreo se llevó a cabo en dos sitios. En el Parque Ecoturístico Corral de Piedra, localizado en el municipio de Amanalco de Becerra, Estado de México; entre las coordenadas 19°13'25" N 99°57'57" O; 19°13'26" N 99°13'76" O; 19°12'31" N 99°57'27" O; 19°12'39" N 99°56'53" O y a una altitud que va desde los 2,830 m s.n.m. a los 2,960 m s.n.m., con una temperatura media anual de 13.4 °C con una mínima de 0.5 °C y una máxima de 29.7 °C, y una precipitación pluvial anual de 1,155 mm; cuenta con un clima templado subhúmedo con lluvias en verano (CONABIO, 2008). El tipo de bosque es Abeto (*Abies* spp.), con Pino (*Pinus* spp.), y pastizales al pie de la montaña (Beltrán y Díaz de la Vega, 2010). Y en el Parque Ecológico Ejidal de Cacalomacán, localizado en el Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca, Estado de México; entre las coordenadas geográficas: 19°12'37.6" N, 99°44'42.6" O; 19°12'31.9" N, 99°43'51.1" O; 19°11'31.9" N; 99°44'22.8" O, 19°11'47.3" N; 99°45'09.2" O, con un gradiente altitudinal que va de los 2,800 a los 3,247 m s.n.m., con una temperatura media anual de 12 a 18 °C, con una mínima de -3 a 9 °C y una máxima de 13 a 22 °C, y una precipitación pluvial anual de 1,200 a 1,800 mm. El tipo de vegetación corresponde a un bosque con Cedro blanco (*Cupressus lindleyi*), Goma azul de Tasmania (*Eucalyptus globulus*), Pino blanco mexicano (*Pinus ayacahuite*), Pino llorón mexicano (*P. patula*) y Pino Montezuma (*P. montezumae*) (Sánchez-Jasso *et al.*, 2013).

Muestreo de aves

Se tramita el permiso correspondiente ante la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, para poder llevar a cabo la investigación y colecta científica de flora y fauna silvestre en territorio mexicano con base en la NOM-126-SEMARNAT-2000 donde establece las especificaciones para la realización de actividades de colecta científica de material biológico de especies de flora y fauna silvestres y otros

recursos biológicos en el territorio nacional (SEMARNAT, 2000). Obteniendo los permisos: SGPA/DGVS/07613/14 y SGPA/DGVS/00955/16.

Se muestrearon mensualmente las aves paseriformes de las áreas descritas anteriormente. Se utilizó muestreo por puntos y redes de niebla, ya que este es el método principal de captura de aves (Santiago-Alarcon, 2015).

Se colocaron de 8 redes de niebla de 3 a 9 metros de largo y 3 metros de alto, de color negro, durante las horas de mayor actividad, de 6:00 *a.m.* a 3:00 *p.m.* Una vez colocadas las redes se revisaron cada 30 minutos, para comprobar si algún ave había caído en las redes, para extraer a las aves de las redes el proceso debe realizarse de manera segura y delicada para evitar lastimar al ave. Una vez extraídas las aves de la red, se colocaron en bolsas de tela, para transportarlas al sitio de procesamiento, tratando de que sufrieran el menor estrés posible. Se realizó la identificación de la especie y previo a su liberación se registró el peso, la longitud del tarso y el ala, la condición corporal y la presencia del parche de incubación, para posteriormente colocarle un anillo de identificación o registrar si se trataba de una recaptura y guardar registro de todos sus datos.

Toma de muestra sanguínea

El volumen total de sangre de un ave es el 10% de su peso corporal, el máximo que se puede extraer de sangre como regla estricta es el 1% del peso corporal. La sangre se colecta de la vena braquial por elección sin embargo también puede ser obtenida de la yugular. La piel de las aves es delicada y se daña fácilmente, sangrado excesivo y el desarrollo de hematomas pueden ocurrir fácilmente, por lo que se debe tener mucho cuidado. Las muestras deben ser conservadas con EDTA como anticoagulante, también pueden ser usados capilares con heparina (Samour, 2006).

Una vez capturadas las aves se procedió a tomar la muestra de sangre, se separaron las plumas del interior del ala para exponer la vena braquial, se limpió el área y se realizó la punción de la vena y la colecta de la sangre, se procedió a realizar el frotis sanguíneo, el cual se dejó secar para posteriormente ser fijado en Metanol al 100% (Valkiūnas, 2005).

Procesamiento de las muestras

Cada frotis fue identificado con el número del anillo del ave, su especie, fecha de colecta y lugar. Posteriormente en el laboratorio se tiñeron los frotis mediante la tinción May-Grünwald Giemsa (Piaton *et al.*, 2015).

Identificación de hemoparásitos

Mediante la observación de los frotis sanguíneos teñidos, se realizó la determinación morfológica de los parásitos (Valkiūnas, 2005). Los frotis, fueron observados en un microscopio Primo Star, marca Carl Zeiss (USA). Cada frotis fue observado con el objetivo 40×, y posteriormente con el 100× (con aceite de inmersión); este procedimiento se realizó aproximadamente durante 35 minutos o hasta observar el frotis en su totalidad para determinar la presencia o ausencia de hemoparásitos (Godfrey *et al.*, 1987). Para determinar el género del parásito, se consultó bibliografía especializada (Valkiūnas, 2005); asimismo, mediante el uso de imágenes se comparó la morfología del parásito hasta lograr su identificación (Clark *et al.*, 2009).

Intensidad de infección

Si la muestra fue positiva, se procedió a determinar la intensidad de infección. Se contó el número de parásitos por 10,000 eritrocitos y la intensidad se clasificó de la siguiente manera: *Haemoproteus*: intensidad baja = un parásito por frotis hasta 0.1% de eritrocitos afectados, intensidad media > 0.1 a 0.5% de eritrocitos

afectados, intensidad alta > 0.5% de eritrocitos afectados. *Leucocytozoon*: intensidad baja = un parásito por frotis hasta el 0.02% de eritrocitos afectados, intensidad media > 0.02 a 0.1% de eritrocitos afectados, e intensidad alta > 0.1% de eritrocitos afectados (Hauptmanová *et al.*, 2006).

RESULTADOS

Artículo enviado

International Journal of Parasitology



International Journal of Parasitology, es una revista médica internacional de la Sociedad Australiana de Parasitología, publicada por la editorial Elsevier. La revista publica los resultados de la investigación original en todos los aspectos de la parasitología básica y aplicada, incluidos todos los campos cubiertos por sus Editores Especialistas, y que van desde parásitos y relaciones hospedero-parásito de interés biológico intrínseco a los de importancia social y económica en medicina y agricultura humana y veterinaria. La revista, cuenta con un factor de impacto de 3.730. En 2016, el ISI Journal Citation Reports®.

El ISSN de la revista en formato impreso es: 0020-7519.

El ISSN de la revista en formato electrónico es: 1879-0135.

Elsevier Editorial System(tm) for
International Journal for Parasitology
Manuscript Draft

Manuscript Number: IJParal7_S51

Title: Haemoparasites in endemic and other passerine birds from Mexico
Central Highlands

Article Type: Succinctus

Keywords: Haemoparasites
Passeriformes
endemic
bird
Mexico
Haemoproteus
Leucocytozoon
microfilariae

Corresponding Author: Professor CELENE SALGADO,

Corresponding Author's Institution: UAEM

First Author: Daphne Estefany Villalva-Pasillas, MVZ.

Order of Authors: Daphne Estefany Villalva-Pasillas, MVZ.; J P Medina,
M. Sc.; Edgardo Soriano-Vargas, D. Sc.; David Alejo Martínez-Hernández,
MVZ.; Jessica Mariana Sánchez-Jasso, M. Sc.; Martín Talavera-Rojas, D.
Sc.; CELENE SALGADO

Manuscript Region of Origin: MEXICO

Abstract: The occurrence of the blood parasites from endemic and other
passerine birds from Mexico Central Highlands, was investigated. We
detected an occurrence of 29.93% (47/157 birds). Avian haematozoa and
microfilaria were found: Haemoproteus 17.19%, Leucocytozoon 15.92% and
1.91% microfilariae. Five of seven endemic bird species were positive.
Co-infections occurred in six (12.76%) endemic specimens of two families.
This is the first recorded study of haemoparasites in passerine birds
from Mexico Central Highlands. However, it is unknown if these haematozoa
infections could significantly affect the health of these bird
populations.

Suggested Reviewers: Gediminas Valkiūnas D. Sc.
Head of Laboratory, Chief researcher, Institute of Ecology, Nature
Research Centre
gedvalk@ekoi.lt
The doctor is the leader in the genus of Haemoproteus.

Nubia Estela Matta D. Sc.
Profesora Titular del Departamento de Biología, Departamento de Biología,
Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia
nemattac@unal.edu.co
Recognized parasitologist.

Diego Santiago-Alarcón D. Sc.



Submissions Being Processed for Author CELENE SALGADO

Page: 1 of 1 (1 total submissions)

Display results per page.

Action <input type="button" value="v"/>	Manuscript Number <input type="button" value="v"/>	Title <input type="button" value="v"/>	Initial Date Submitted <input type="button" value="v"/>	Status Date <input type="button" value="v"/>	Current Status <input type="button" value="v"/>
Action Links	IJPara17_S51	Haemoparasites in endemic and other passerine birds from Mexico Central Highlands	24 Nov 2017	28 Nov 2017	With Editor

Page: 1 of 1 (1 total submissions)

Display results per page.

*Manuscript

[Click here to view linked References](#)

1 *Succinctus*

2

3 **Haemoparasites in endemic and other passerine birds from Mexico Central Highlands**

4

5 Daphne Estefany Villalva-Pasillas ^a, JP Medina ^b, Edgardo Soriano-Vargas ^c, David Alejo

6 Martínez-Hernández ^d, Jessica Mariana Sánchez-Jasso ^b, Martín Talavera-Rojas ^c, Celene Salgado-

7 Miranda ^{c,*}

8

9 ^a Programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad Autónoma
10 del Estado de México. C. P. 50000, Toluca, Estado de México, México.

11

12 ^b Institute for Biodiversity Research, Development and Sustainability (iBIRDS), Toluca, Estado de
13 México.

14

15 ^c Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria
16 y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México. Carretera Toluca-Atlacomulco km 15.5,
17 C. P. 50200, Toluca, Estado de México, México.

18

19 ^d Profesionales en Veterinaria. C. P. 52172, Metepec, Estado de México, México.

20

21

22 * Corresponding author.

23 *E-mail address:* salgadamiranda@uaemex.mx (C Salgado-Miranda).

24 *Phone/Fax:* + 52 (722) 2965555.

25

26

1 **Abstract**

2

3 The occurrence of the blood parasites from endemic and other passerine birds from Mexico Central
4 Highlands, was investigated. We detected an occurrence of 29.93% (47/157 birds). Avian
5 haematozoa and microfilaria were found: *Haemoproteus* 17.19%, *Leucocytozoon* 15.92% and 1.91%
6 microfilariae. Five of seven endemic bird species were positive. Co-infections occurred in six
7 (12.76%) endemic specimens of two families. This is the first recorded study of haemoparasites in
8 passerine birds from Mexico Central Highlands. However, it is unknown if these haematozoa
9 infections could significantly affect the health of these bird populations.

10

11 **Key words:** Haemoparasites, Passeriformes, endemic, bird, Mexico, *Haemoproteus*, *Leucocytozoon*,
12 microfilariae.

13

14

1 Parasitism definition is generally taken to mean an obligatory trophic association between
2 individuals of two species: in which one, called the parasite, obtains its food from a living organism
3 of another species which is called the host (Wobeser, 2008). Some parasites: protozoa and
4 helminths, use the blood of birds as habitat for growth and reproduction. Parasites of the order
5 Haemosporida are wide-spread and infect many species of the major groups of vertebrates, which
6 are exposed to bites of blood-sucking dipteran insects (Order: Diptera) (Santiago-Alarcon et al.,
7 2012). The haemoparasitic protozoans *Plasmodium*, *Haemoproteus* and *Leucocytozoon* (Phylum
8 Apicomplexa and Order Haemosporida) are the three main genera found in birds (Valkiūnas, 2005).
9 Other relevant blood parasite, are the filariae; which are highly specialized nematodes that house in
10 almost any organ or tissue of terrestrial vertebrates, and their larval forms are the microfilariae,
11 which have been reported in numerous species of birds (Bartlett, 2008).

12 Mexico has a megadiverse avifauna, included endemic bird species, as well as species birds ranging
13 farther north or farther south in the Americas (Peterson and Navarro-Sigüenza, 2016). Worldwide,
14 there are approximately 10,500 bird species, of which; 1,123 to 1,150 are in Mexico; of these, from
15 194 to 212 species of birds are endemic (Navarro-Sigüenza et al., 2014). However, in Mexico very
16 little work has been conducted on blood parasites in passerine birds. The first information of
17 haemoparasites in Mexican birds was reported in 1940 by Beltrán, including birds mainly from
18 illegal birder traders (called *pajareros*), of which 24.7% were positive: *Plasmodium* (11.76%),
19 *Haemoproteus* (9.4%), and *Plasmodium* co-infections with *Haemoproteus* (2.3%) (Beltrán, 1940).
20 The material reviewed by Beltrán in 1940, was later analysed by Hewitt, who identified a level of
21 species samples parasitized by the genus *Plasmodium* (Hewitt, 1940). Two years later, Beltrán
22 analysed a total of 142 preparations of samples from birds captured in northern Mexico, and found
23 parasites of *Plasmodium*, *Haemoproteus* and *Trypanosoma* (Beltrán, 1942). Later, Beltrán found for
24 the first time microfilariae in birds from the northern and the southeast Mexico (Beltrán, 1944).

1 The aim of present study was to determine the occurrence of the blood parasites from passerine
2 birds from Mexico Central Highlands. We carry out the study once a month during three-day
3 samplings, from June 21th, 2014 to November 12th, 2017, in two study sites (Figure 1): at the
4 Parque Ecológico Ejidal de Cacalomacán (PEEC), located in the Nevado de Toluca Natural
5 Protected Area (NTNPA) (19°12'37" N, 99°44'42" W; 19°12'31" N, 99°43'51" W; 19°11'31" N;
6 99°44'22" W, 19°11'47" N; 99°45'09" W), State of Mexico, Mexico; on an elevational gradient
7 ranging from 2,800 to 3,247 meters above sea level (m a.s.l.), with an average annual temperature
8 ranges between 12 and 18 °C, with a minimum between -3 and 9 °C, and a maximum between 13
9 and 22 °C, the type of vegetation corresponds to a forest with: White Cedar (*Cupressus lindleyi*),
10 Tasmanian Blue Gum (*Eucalyptus globulus*), Mexican White Pine (*Pinus ayacahuite*), Mexican
11 Weeping Pine (*P. patula*), and Montezuma Pine (*P. montezumae*) (Sánchez-Jasso et al., 2013), and
12 the Parque Ecoturístico Corral de Piedra (PECP), located in the Valle de Bravo Natural Protected
13 Area (VBNPA), (19°13'25" N 99°57'57" W; 19°13'26" N 99°13'76" W; 19°12'31" N 99°57'27" W;
14 19°12'39" N 99°56'53" W), State of Mexico, Mexico; on an elevational gradient ranging from 2,830
15 to 2,960 m a.s.l., with an annual average temperature of 13.4 °C, with a minimum of 0.5 °C, and a
16 maximum of 29.7 °C; the type of forest is Fir (*Abies* spp.), with Pine (*Pinus* spp.), and grassland at
17 the foothill (Beltrán and Díaz de la Vega, 2010).

18 In each study site, we place eight mist nets to capture the birds. The nets were placed at the relevant
19 points of bird activity as previously recorded (Sánchez-Jasso et al., 2013). Birds were caught from
20 6:00 a.m. to 03:00 p.m. After capture and prior to their release, we recorded the following traits:
21 weight, tarsus and wing lengths, body condition, and presence of brood patch. These data will be
22 used in further studies. We banded individuals to compare health status upon their recapture. Blood
23 samples were collected from the brachial vein. Thin smears on glass slides were made immediately
24 after the blood collection. All capture methods and sampling procedures for approved by the

1 Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, of Mexico (SEMARNAT) (permits numbers:
2 SGPA/DGVS/07613/14, SGPA/DGVS/00955/16). Blood slides were air-dried, fixed in absolute
3 methanol immediately after sample collection the field, and later stained with May-Grünwald
4 Giemsa (Piaton et al., 2015). Slides were identified with the bird species, bird band code, and
5 sampling day. For the presence of blood parasites, the entire smears were examined microscopically
6 (40× and 100×), using a microscope, Primo Star, Carl Zeiss, USA. For the identification of parasites,
7 the procedures described by Valkiūnas (2005) were followed.

8 In this study, we captured 157 passerine birds belonging to 17 families and 29 species. A total of
9 314 blood smears (two replicas per bird) were examined. Hemoparasites were observed in 47
10 individuals representing an occurrence of 29.93%. The positive samples belong to *Haemoproteus*
11 17.19%, *Leucocytozoon* with 15.92%, and 1.91% with microfilariae. A positive occurrence of 100%
12 was observed in: (1/1) the Hutton's Vireo (*Vireo huttoni*) and the Townsend's Warbler (*Setophaga*
13 *townsendi*), (2/2) the House Wren (*Troglodytes aedon*) and (4/4) the Spotted Towhee (*Pipilo*
14 *maculatus*); followed by (6/4) the Yellow-eye Junco (*Junco phaeonotus*), (34/18) the Russet
15 Nightingale-thrush (*Catharus occidentalis*), (6/3) the Mexican Chickadee (*Poecile sclateri*), (2/1)
16 the Gray Silky-flycatcher (*Ptiliogonys cinereus*) and (2/1) the Black-headed Grosbeak (*Pheucticus*
17 *melanocephalus*). In this study, a total of seven Mexican endemic passerines birds were studied.

18 Birds with blood parasites are from three families and they are three endemic birds: family
19 Turdidae: Russet Nightingale-thrush (*C. occidentalis*), family Passerellidae: Green-Striped Brush
20 Finch (*Arremon virenticeps*), Rufous-capped Brush Finch (*Atlapetes pileatus*), and Striped Sparrow
21 (*Oriturus superciliosus*), and family Parulidae: Red Warbler (*Cardellina rubra*). The occurrence of
22 haemoparasites in endemic and other passerine birds from Mexico Central Highlands are shown in
23 Table 1.

1 Co-infections were observed in 6 of 47 (12.76%) positive birds. The six birds were endemic
2 belonging to two families (Turdidae and Passerellidae). Co-infection of *Haemoproteus* spp. and
3 *Leucocytozoon* spp. were observed in three Russet Nightingale-thrush (*C. occidentalis*), and one
4 Rufous-capped Brush Finch (*A. pileatus*). Co-infections of *Haemoproteus* spp., *Leucocytozoon* spp.
5 and microfilaria were observed in two individuals of *C. occidentalis*.

6 In a study carried out from 2012 to 2013, in three resident bird species at a shrubland dominated
7 landscape of the Mexican highland plateau, the microscopy analysis revealed the presence of
8 haemosporidian parasites in House Finches (*Haemorhous mexicanus*), and Canyon towhees
9 (*Melospiza fusca*). The haemosporidian prevalence (*Haemoproteus* and *Plasmodium*), was 47.5 %
10 for the Canyon Towhee, and 44.3 % for the House Finch (Reinoso-Pérez *et al.*, 2016). In our study,
11 we observed a lower (17.9%) percentage of *Haemoproteus*. We observed no *Plasmodium* parasites
12 in the blood smear samples. It could be due to the altitude of the location of study sites, since at high
13 elevation (>1700 m a.s.l.), larval mosquito habitat is typically scarce, and cooler temperatures
14 restrict seasonal abundance of mosquitoes and slow parasite development as elsewhere described
15 (LaPointe *et al.*, 2012).

16 Worldwide, the presence of microfilariae has been reported in 97 bird families (Bartlett, 2008). In
17 the present study, we reported microfilariae in two families Troglodytidae and Turdidae, and for
18 first time in the Russet Nightingale-thrush (*C. occidentalis*), an endemic Mexican bird. The
19 percentage of co-infections found in the birds included in this study is lower than the reported in
20 birds of the genus *Zosterops* (Family: Zosteropidae, Order: Passeriformes), where concluded that
21 wildlife co-infections are frequent, and can be presented up to the 35.9% of infected birds (Clark *et*
22 *al.*, 2016).

23 Russet Nightingale-thrush (*C. occidentalis*) birds were the most captured and 18 of 34 (52.94%)
24 were positive to blood parasites. Also, co-infections of *Haemoproteus* spp. and *Leucocytozoon* spp.,

1 as well as with *Haemoproteus* spp., *Leucocytozoon* spp. and microfilaria, were found. The findings
2 in this endemic bird are interesting, further studies on *C. occidentalis* populations are necessary. A
3 systematic search of the main scientific databases (Web of Knowledge, PubMed, Searchable
4 Ornithological Research Archive, Scopus, SciELO and Redalyc), showed that this work is the first
5 recorded study of haemoparasites in endemic passerine birds from Mexico Central Highlands.
6 Further studies focused on measure the impact of these blood parasites on endemic and other
7 passerine bird populations from Mexico are needed.

8

9 **Ethics statement**

10

11 Scientific collection and the sampling of the animals were performed under the direct supervision of
12 a veterinary specialist, and according to Mexico law and guidelines on Animal Welfare and the
13 specific regulations of the Mexican government. Permits numbers: SGPA/DGVS/07613/14,
14 SGPA/DGVS/00955/16, covers all the handling done in birds, presented in this paper and was
15 approved by the Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) of Mexico.

16

17 **Acknowledgements**

18

19 Daphne Estefany Villalva-Pasillas received the support of a Master's scholarship from CONACYT
20 (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología). We would like to thank to SEMARNAT for scientific
21 collection permits. A special thanks to Cacalomacán Ejidal Community and Amanalco de Becerra
22 Ejidal Community for their support. This work was funded by Universidad Autónoma del Estado de
23 México, project 4328/2017/CI, and Institute for Biodiversity Research, Development and
24 Sustainability (iBIRDS).

1

2 **Declarations of interest**

3 The authors declare no conflict of interest.

4

5 **References**

6

7 Bartlett, C.M., 2008. Filarioid Nematodes. In: Atkinson, C.T., Thomas, N.J., Hunter, D.B. (Ed.),

8 Parasitic Diseases of Wild Birds. Wiley-Blackwell, USA, pp. 439-462.

9 Beltrán, E., 1940. Examen protozoológico de la sangre de algunos pájaros mexicanos. *Ciencia* 1, 20-
10 21.

11 Beltrán, E., 1942. Protozoarios sanguíneos de aves de Nuevo León y Tamaulipas. *Rev. Soc. Mex.*

12 *Hist. Nat.* 3, 15-21.

13 Beltrán, E., 1944. Protozoarios sanguíneos de las aves de Chiapas. *An. Esc. Nac. Cienc. Biol.* 3,

14 361-366.

15 Beltrán, V.C.Y., Díaz de la Vega, M.A.D., 2010. Estimación de la densidad poblacional del venado

16 cola blanca texano (*Odocoileus virginianus texanus*), introducido en la UMA “Ejido de Amanalco”

17 Estado de México. *Cienc. ergo-sum* 17, 154-158.

18 Clark, N.J., Wells, K., Dimitrov, D., Clegg, S.M., 2016. Co-infections and environmental conditions

19 drive the distributions of blood parasites in wild birds. *J. Anim. Ecol.* 85, 1461-1470.

20 Hewitt, R., 1940. Studies on blood protozoa from Mexican birds. *J. Parasitol.* 26, 287-295.

21 LaPointe, D.A., Atkinson, C.T., Samuel, M. D., 2012. Ecology and conservation biology of avian

22 malaria. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1249, 211-226.

- 1 Navarro-Sigüenza, A.G., Rebón-Gallardo, M.F., Gordillo-Martínez, A., Peterson, A.T., Berlanga-
2 García, H., Sánchez-González, L.A., 2014: Biodiversidad de las aves en México. *Rev. Mex.*
3 *Biodivers. Supl.* 85, S476-S495.
- 4 Piaton, E., Fabre, M., Goubin-Versini, I., Bretz-Grenier, M.F., Courtade-Saïdi, M., Vincent, S.,
5 Belleannée, G., Thivolet, F., Boutonnat, J., Debaque, H., Fleury-Feith, J., Vielh, P., Cochand-
6 Priollet, B., Egelé, C., Bellocq, J.P., Michiels, J.F., 2015. Technical recommendations and best
7 practice guidelines for May-Grünwald-Giemsa staining: literature review and insights from the
8 quality assurance. *Ann. Pathol.* 35, 294-305.
- 9 Peterson, A.T., Navarro-Sigüenza, A.G., 2016. Bird conservation and biodiversity research in
10 Mexico: status and priorities. *J. Field Ornithol.* 87, 121-132.
- 11 Reinoso-Pérez, M.T., Canales-Delgadillo, J.C., Chapa-Vargas, L., Riego-Ruiz, L., 2016.
12 Haemosporidian parasite prevalence, parasitemia, and diversity in three resident bird species at a
13 shrubland dominated landscape of the Mexican highland plateau. *Parasit. Vectors* 9, 307.
- 14 Sánchez-Jasso, J.M., Aguilar-Miguel, X., Medina-Castro, J.P., Sierra-Domínguez, G., 2013.
15 Riqueza específica de vertebrados en un bosque reforestado del Parque Nacional Nevado de Toluca,
16 México. *Rev. Mex. Biodivers.* 84, 360-373.
- 17 Santiago-Alarcon, D., Palinauskas, V., Schaefer, H.M., 2012. Diptera vectors of avian
18 Haemosporidian parasites: untangling parasite life cycles and their taxonomy. *Biol. Rev. Camb.*
19 *Philos. Soc.* 87, 928-64.
- 20 Valkiūnas, G. 2005. Avian malaria parasites and other haemosporidia. CRC Press, Boca Raton.
- 21 Wobeser, G.A. 2008. Parasitism: Cost and Effects. In: Atkinson, C.T., Thomas, N.J., Hunter, D.B.
22 (Ed.), *Parasitic Diseases of Wild Birds*. Wiley-Blackwell, USA, pp. 3-9.

Table

1 **Table legend**

2

3 **Table 1.** Occurrence of haemoparasites in endemic and other passerine birds from Mexico Central

4 Highlands.

5

Family	Host	Occurrence		Parasite species		
		Examined	Infected	<i>Haemoproteus</i> spp.	<i>Leucocytozoon</i> spp.	Microfilaria
Furnariidae						
	<i>Lepidocolaptes leucogaster</i> *	1	0			
Tyrannidae						
	<i>Empidonax hammondi</i>	1	0			
	<i>Empidonax affinis</i>	2	0			
Vireonidae						
	<i>Vireo huttoni</i>	1	1		1	
Paridae						
	<i>Poecile sclateri</i>	6	3		3	
Aegithalidae						
	<i>Psaltriparus minimus</i>	1	0			
Certhiidae						
	<i>Certhia americana</i>	6	0			
Troglodytidae						
	<i>Troglodytes aedon</i>	2	2		1	1
Regulidae						
	<i>Regulus satrapa</i>	3	0			
Turdidae						
	<i>Myadestes townsendi</i>	1	0			
	<i>Catharus occidentalis</i> *	34	18	11	12	2
	<i>Turdus migratorius</i>	7	0			
Mimidae						
	<i>Melanotis caerulescens</i> *	1	0			
Ptiligonatidae						
	<i>Ptiliogonys cinereus</i>	2	1	1		
Peucedramidae						
	<i>Peucedramus taeniatus</i>	3	1		1	
Fringillidae						
	<i>Spinus notatus</i>	2	0			
	<i>Spinus psaltria</i>	1	0			
Passerellidae						
	<i>Arremon virenticeps</i> *	7	2	2		
	<i>Atlapetes pileatus</i> *	20	4	2	3	
	<i>Pipilo maculatus</i>	4	4	3	1	
	<i>Oriturus superciliosus</i> *	6	2	1	1	
	<i>Melospiza lincolni</i>	1	0			
	<i>Junco phaeonotus</i>	6	4	4		
Parulidae						
	<i>Setophaga townsendi</i>	1	1	1		
	<i>Basileuterus belli</i>	13	0			
	<i>Cardellina rubra</i> *	14	2		2	
	<i>Myioborus miniatus</i>	7	1	1		
Cardinalidae						
	<i>Pheucticus melanocephalus</i>	2	1	1		

1

Thraupidae

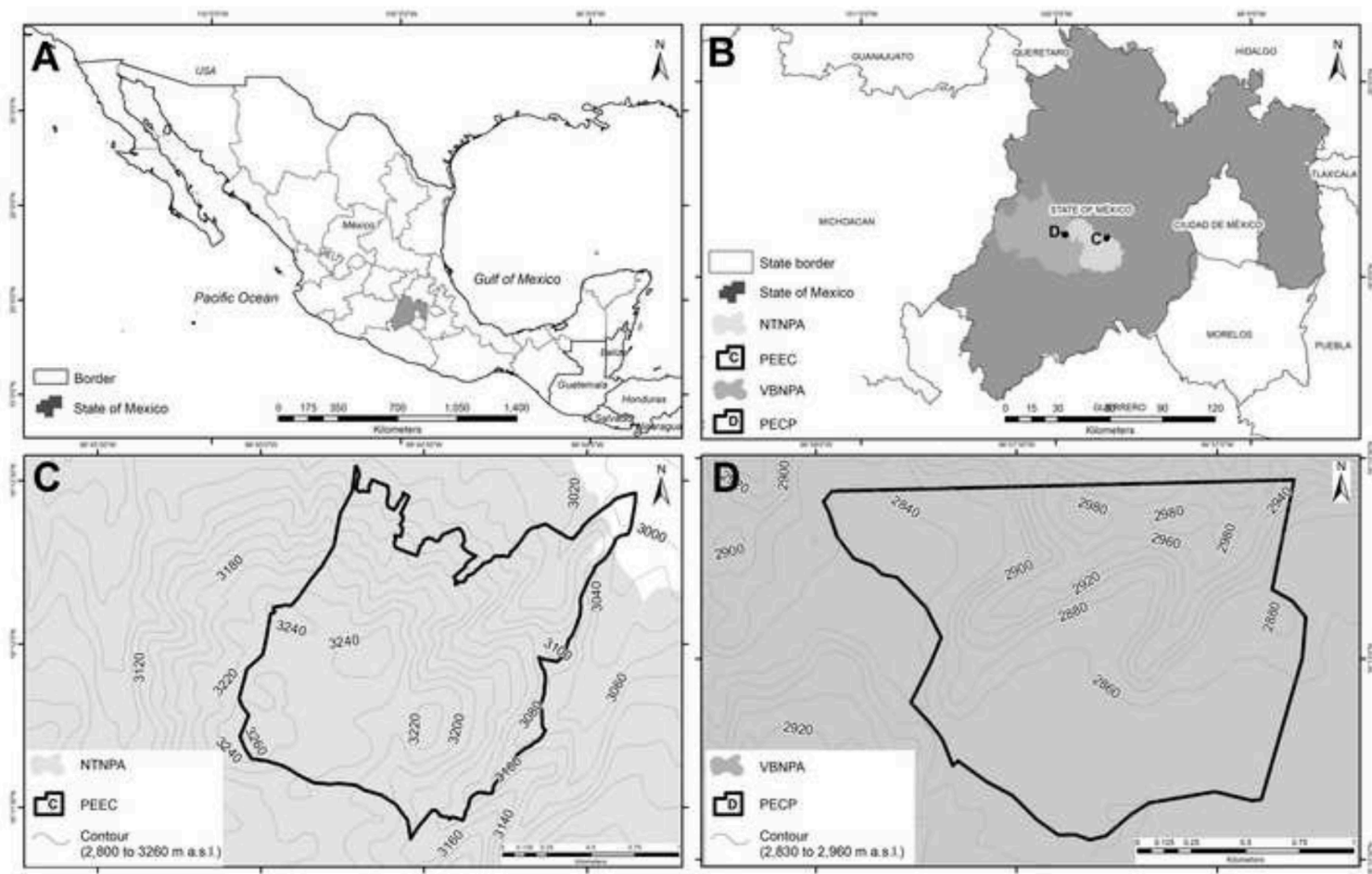
<i>Diglossa baritula</i>	2	0			
Total	157	47	27	25	3
Occurrence (%)		29.93	17.19	15.92	1.91

1 * Endemic Mexican passerine bird.

2

3

Figure 1
[Click here to download high resolution image](#)



Intensidad de infección

En el Cuadro 1, se muestra la intensidad de infección de *Haemoproteus* spp. y *Leucocytozoon* spp., de las aves Passeriformes, incluidas en el estudio. De las 10 especies de aves positivas a *Haemoproteus* spp., la intensidad de infección observada fue media (> 0.1 a 0.5%) y alta (> 0.5%). No se encontró intensidad baja en las aves positivas a *Haemoproteus* spp. En el caso de las nueve especies positivas a *Leucocytozoon* spp., la intensidad de infección observada fue de media (> 0.02 a 0.1%) a alta (> de 0.1%). Ninguna especie presentó una intensidad baja.

Es muy importante resaltar que se encontraron co-infecciones en seis aves, de las cuales cinco pertenecen a la especie *Catharus occidentalis* y solo una a la especie *Atlapetes pileatus*. Las co-infecciones en *C. occidentalis* corresponden a tres aves con *Haemoproteus* spp. y *Leucocytozoon* spp. y dos con *Haemoproteus* spp., *Leucocytozoon* spp., y microfilarias (Cuadro 2).

Cuadro 1. Intensidad de infección de *Haemoproteus* spp. y *Leucocytozoon* spp. en aves del orden Passeriformes, incluidas en el estudio.

Familia	Especie	Número de aves infectadas	Intensidad de infección					
			<i>Haemoproteus</i> spp. (número de aves)			<i>Leucocytozoon</i> spp. (número de aves)		
			B	M	A	B	M	A
Vireonidae								
	<i>Vireo huttoni</i>	1					1	
Paridae								
	<i>Poecile sclateri</i>	3					1	2
Troglodytidae								
	<i>Troglodytes aedon</i>	1						1
Turdidae								
	<i>Catharus occidentalis</i>	12		1	5			6
Ptiligonatidae								
	<i>Ptiliogonys cinereus</i>	1			1			
Peucedramidae								
	<i>Peucedramus taeniatus</i>	1					1	
Passerellidae								
	<i>Arremon virenticeps</i>	2			2			
	<i>Atlapetes pileatus</i>	3			1		2	
	<i>Pipilo maculatus</i>	4		1	2			1
	<i>Oriturus superciliosus</i>	2		1			1	
	<i>Junco phaeonotus</i>	3			3			
Parulidae								
	<i>Setophaga townsendi</i>	1			1			
	<i>Cardellina rubra</i>	2					1	1
	<i>Myioborus miniatus</i>	1		1				
Cardinalidae								
	<i>Pheucticus melanocephalus</i>	1			1			

Haemoproteus spp.: B (intensidad baja) un parásito por frotis hasta 0.1% de eritrocitos afectados, M (intensidad media) > 0.1 a 0.5% de eritrocitos afectados A (intensidad alta) > 0.5% de eritrocitos afectados.

Leucocytozoon spp.: B (intensidad baja) un parásito por frotis hasta el 0.02% de eritrocitos afectados, M (intensidad media) > 0.02 a 0.1% de eritrocitos afectados, A (intensidad alta) > 0.1% de eritrocitos afectados.

Cuadro 2. Co-infecciones de *Haemoproteus* spp., *Leucocytozoon* spp., y microfilarias en aves del orden Passeriformes, incluidas en el estudio.

Espece	Número de aves infectadas	<i>Haemoproteus</i> spp. y <i>Leucocytozoon</i> spp. (número de aves positivas)	<i>Haemoproteus</i> spp., <i>Leucocytozoon</i> spp. y microfilarias (número de aves positivas)
Turdidae			
<i>Catharus occidentalis</i>	5	3	2
Passerellidae			
<i>Atlapetes pileatus</i>	1	1	

DISCUSIÓN

Se analizaron 337 laminillas de 157 especies de aves del orden Passeriformes, de las cuales el 29.9% fueron positivas a alguna especie de hemoparásito; hasta el momento este es el primer estudio realizado en la zona centro del país que reporta la presencia de hemoparásitos en aves paseriformes de la región.

Los trabajos realizados en el país son escasos. Históricamente, Beltrán en 1940 reporta los hemoparásitos de las aves mexicanas, analizó 85 aves en su mayoría del orden Passeriformes, obtenidas principalmente de pajareros, de las cuales el 24.7% fueron positivas, el parásito con mayor proporción en este estudio fue *Plasmodium* (11.76%), seguido por *Haemoproteus* (9.4%), así como co-infecciones de *Plasmodium* y *Haemoproteus* (2.3%) (Beltrán, 1940). A estos trabajos, se suman los realizados por Hewitt, quien analizó 94 muestras proporcionadas por Beltrán; reportando un 26.5% de muestras positivas a *Trypanosoma* (especie no identificada por Beltrán), un 13.8% a *Haemoproteus* y un 12.7% a *Plasmodium* (Hewitt, 1940). Posteriormente, Beltrán realizó el estudio de 102 muestras pertenecientes a 79 especies de aves del norte de México, de las que el 26.4% resultaron positivas, encontrando parásitos del género *Haemoproteus* (14.7%), *Plasmodium* (4.9%), *Leucocytozoon* (4.9%) y *Trypanosoma* (1.9%) (Beltrán, 1942). Después en 1944, Beltrán analizó muestras de 16 especies de aves provenientes del norte y el sureste del país reportando por primera vez para el país la presencia de microfilarias en estas especies de aves (Beltrán, 1944).

Continuando con los estudios en México, Pardiñas en 1946 analizó los protozoarios sanguíneos de las aves de Oaxaca en donde se examinaron 102 muestras de aves de las cuales el parásito con mayor proporción fue *Plasmodium* (55.8%), seguido de *Trypanosoma* (16.6%), *Haemoproteus* (3.92%) (Pardiñas, 1946). De los estudios más recientes se encuentra el realizado en el noreste de México, en donde se analizaron 196 aves de 15 familias, de estas en 25 aves se encontró la presencia de algún hemoparásito, 15 de estas fueron positivas a *Haemoproteus* (Bennett et

al., 1991). El estudio realizado en algunas zonas del norte de San Luis Potosí, en donde se muestrearon 162 aves de 3 especies, 65 de estas fueron positivas a una o más especies de hemosporidios (Reinoso-Pérez *et al.*, 2016). El estudio más reciente realizado en el zacatonero garganta negra (*Amphispiza bilineata*) un ave residente del país, se obtuvieron 104 muestras, la prevalencia general fue del 22.1%. La prevalencia y la parasitemia fueron mayores para *Haemoproteus* spp. que para *Plasmodium* spp. (Ham-Deñás *et al.*, 2017).

Sin embargo, estos estudios en su mayoría fueron realizados en áreas del territorio en donde el clima es cálido, lo que tiende a representar una mayor prevalencia de parásitos en estas zonas, así mismo, se relaciona con la presencia de los vectores (Durrant *et al.*, 2006). por lo cual la mayor proporción de aves parasitadas corresponde a los géneros *Plasmodium* y *Trypanosoma* y con menor proporción *Haemoproteus* y *Leucocytozoon*, lo que contrasta con lo encontrado en el presente estudio en donde la mayor proporción fue *Haemoproteus* con el 17.19% lo que concuerda con la literatura que señala que este género es el más común en las zonas neotropicales (White *et al.*, 1978), en México los trabajos realizados previamente también señalan a *Haemoproteus* como el parásito con mayor frecuencia, sin embargo la prevalencia que ellos reportan es menor que la reportada en el presente trabajo (Hewitt, 1940; Beltrán, 1944; Bennett *et al.*, 1991; Pardiñas, 1946).

La ausencia de infecciones causadas por *Plasmodium* en el presente trabajo puede atribuirse a que las aves se capturaron a una altitud de entre 2,800 y 3,000 m s.n.m. y se menciona que su presencia a grandes altitudes (>1,700 m s.n.m.), el hábitat para las larvas del mosquito es escaso y las temperaturas más frías restringen la abundancia estacional de los mosquitos (LaPointe *et al.*, 2012).

Las co-infecciones se encontraron en el 12.76% de las aves infectadas en seis aves endémicas de dos familias, en otros lugares la prevalencia de co-infecciones se ha reportado entre 6% (Ishtiaq *et al.*, 2007) y 8.2% (Savage *et al.*, 2009), se ha

señalado que las co-infecciones no son comunes, posiblemente por una especificidad en los parásitos hacia ciertos hospederos (Sehgal *et al.*, 2011, Marsello *et al.*, 2006). Sin embargo, desde la aplicación de técnicas moleculares para la detección de hemoparásitos se ha aumentado la detección de co-infecciones, por lo que podrían estar subestimadas (Santiago-Alarcon *et al.*, 2011).

Es muy poco lo que se conoce con respecto a los hemoparásitos que infectan a las aves de nuestro país, en especial a las aves endémicas, las cuales tienen una gran importancia para la biodiversidad, de las 157 especies de aves muestreadas siete son endémicas (EN), de las cuales cinco fueron positivas a alguna especie de hemoparásito; cuatro son CE y una SE, todas positivas, esto es un dato importante puesto que es el primer reporte de la presencia de estos parásitos en estas aves, debido al poco conocimiento que se tienen sobre estas especies.

La especie más capturada en los muestreos *Catharus occidentalis* es también el ave con mayor prevalencia con el 52.9% de aves positivas y con la mayor diversidad de hemoparásitos, encontrando *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* y microfilarias y algunas co-infecciones, sin embargo, es poco lo que se conoce con respecto a la historia de vida de esta especie, se encuentra catalogada según la NOM-059-SEMARNAT-2010, como SC (sin categoría), sin embargo su VV es de 14, por lo tanto es importante todo lo que se pueda obtener de información con respecto a esta especie para poder aportar un mayor conocimiento sobre su estatus y por lo tanto sobre el estado de salud de su población (SEMARNAT, 2010).

La intensidad de infección reportada en el presente trabajo es mayor a lo ya reportado en México (Ham-Dueñas *et al.*, 2017, Reinoso-Pérez *et al.*, 2016), todas las especies positivas tuvieron una intensidad de infección entre media y alta, estos resultados contrastan con lo reportado por otros autores en donde la parasitemia es baja (Blanco *et al.*, 2001, Basto *et al.*, 2006, Fast *et al.*, 2016). Sin embargo, intensidades mayores de infección a lo reportado en este trabajo, se han encontrado en otras aves paseriformes (Hauptmanová *et al.*, 2006). En ninguno de estos

trabajos se observan signos clínicos en las aves aun con altos niveles de infección, sin embargo, se han realizado estudios en los que se relaciona la presencia de hemoparásitos con cambios en la coloración del plumaje (Hörak *et al.*, 2001), un incremento en la vulnerabilidad de ser presa (Møller y Nielsen, 2007). Se desconoce hasta el momento como la presencia o la intensidad de infección pueden afectar el estado de salud de las aves paseriformes del Estado de México, por lo que se requieren más estudios al respecto.

Este es el primer estudio en el Estado de México; reportando por primera vez la presencia de hemoparásitos en las aves endémicas: *Catharus occidentalis*, *Cardellina rubra*, *Atlapetes pileatus*, *Arremon virenticeps*, *Oriturus superciliosus*. Y en las aves cuasiendémicas: *Poecile sclateri*, *Ptiliogonys cinereus* y *Junco phaeonotus*. También es el primer registro para las aves residentes: *Vireo huttoni*, *Peucedramus taeniatus*, *Troglodytes aedon*, *Myioborus miniatus*, *Pipilo maculatus* y *Pheucticus melanocephalus*.

La información obtenida durante este trabajo se suma a los pocos estudios realizados en nuestro país, por lo que se requiere realizar más estudios incrementando el número de muestra y las áreas de muestreo para poder realizar comparación entre las especies de aves, así como analizar la intensidad de parasitemia y el estado de salud de las aves, de igual manera se requiere realizar estudios filogenéticos de las especies de hemoparásitos encontrados.

CONCLUSIONES

Este es el primero estudio registrado de hemoparásitos en aves paseriformes de la zona alta de México.

La proporción de aves positivas a hemoparásitos fue 29.93%. Se identificaron los géneros de *Haemoproteus* spp. (17.9%) y *Leucocytozoon* spp. (15.92%), así como la presencia de microfilarias (1.91%).

Se observaron co-infecciones en seis (12,76%) especímenes endémicos de dos familias.

La intensidad de infección en las aves positivas a la presencia de hemoparásitos, fue de media a alta. No se encontró intensidad de infección baja en ninguna de las aves muestreadas.

Es necesario, realizar más estudios de hemoparásitos en las aves paseriformes del Estado de México; incrementando el esfuerzo de muestreo, así como los sitios de captura de las aves. De igual manera, se requiere llevar a cabo estudios filogenéticos para determinar las especies de hemoparásitos.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre AA, Tabor GM y Ostfeld RS. (2012): Conservation Medicine. En: New Directions in Conservation Medicine. Editado por Aguirre AA, Ostfeld RS y Daszak P., 3-16. Oxford University Press, USA.
- Ahmed FE y Muhammed AH. (1978): *Haemoproteus columbae*: course infection, relapse and immunity to reinfection in the pigeon. Parasitology Research, 57:229-236.
- Altamirano González-Ortega MA, Guzmán Hernández J, Martín Gómez MF y Domínguez Velázquez LE. (2003): Un método para la selección de aves bioindicadoras con base en sus posibilidades de monitoreo. Huitzil, Revista Mexicana de Ornitología, 4:10-16.
- Anderson RC y Bartlett CM. (1994): Ephemerality and Reproductive Senescence in Avian Filarioids. Parasitology Today, 10:33-35.
- Atkinson CT y van Riper C III. (1991): Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: *Plasmodium*, *Leucocytozoon* and *Haemoproteus*. En: Bird Parasite Interaction Ecology, Oxford University Press, USA.
- Atkinson CT, Dusek RJ, Woods KL y Iko WM. (2000): Pathogenicity of avian malaria in experimentally-infected Hawaii Amakihi. Journal of Wildlife Diseases, 36:197-204.
- Atkinson CT. (1991): Sporogonic development of *Haemoproteus meleagridis* (Haemosporina: Haemoproteidae) in *Culicoides edeni* (Diptera: Ceratopogonidae). Canadian Journal of Zoology, 69:1880-1888.
- Atkinson CT. (2008): Avian Malaria. En: Parasitic Diseases of Wild Birds. Editado por Atkinson C, Thomas NJ, y Hunter BD., 35-53, Wiley-Blackwell, USA.
- Atkinson CT. (2008): *Haemoproteus*. En: Parasitic Diseases of Wild Birds. Editado por Atkinson CT, Thomas NJ, y Hunter DB., 13-14, Wiley-Blackwell, USA.
- Bartlett CM.(2008): Filarial Nematodes. En: Parasitic Diseases of Wild Birds. Editado por Atkinson C, Thomas NJ, y Hunter BD., 439-462, Wiley-Blackwell, USA.

- Basto N, Rodríguez OA, Marinkelle CJ, Gutiérrez R y Matta NE. (2006): Hematozoa in birds from La Macarena National Natural Park (Colombia). *Caldasia*, 28:371-377.
- Beltrán E. (1940): Examen protozoológico de la sangre de algunos pájaros mexicanos. *Ciencia*, 1:20-21.
- Beltrán E. (1942): Protozoarios sanguíneos de las aves de Nuevo León y Tamaulipas. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 3:15-21.
- Beltrán E. (1944): Protozoarios sanguíneos de las aves de Chiapas. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas*, 3:361-366.
- Beltrán VCY y Díaz de la Vega MAD. (2010): Estimación de la densidad poblacional del venado cola blanca texano (*Odocoileus virginianus texanus*), introducido en la UMA "Ejido de Amanalco" Estado de México. *CIENCIA ergo sum*, 17:154-158.
- Bennett GF, Aguirre AA y Cook RS. (1991): Blood parasites of some birds from northeastern Mexico. *Journal of Parasitology*, 77:38-41.
- Bennett GF. (1993): Phylogenetic distribution and possible evolution of the avian species of the Haemoproteidae. *Systematic Parasitology*, 26:39-44.
- Bensch S, Perez-Tris J, Waldenström J y Hellgren O. (2004): Linkage between nuclear and mitochondrial DNA sequences in Avian Malaria parasites: multiple cases of cryptic speciation? *Evolution*, 58:1617-1621.
- Berlanga H, Gómez de Silva H, Vargas-Canales VM, Rodríguez-Contreras V, Sánchez-González LA, Ortega-Álvarez R y Calderón-Parra. (2015): Aves de México: Lista actualizada de especies y nombres comunes. CONABIO, México.
- Bermudez AJ. (2013): Miscellaneous and Sporadic Protozoal Infection. En: *Disease of Poultry*. 13th ed. Editado por Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Suarez DL y Nair V., 1185-1188, Wiley-Blackwell, USA.
- Blanco G, Rodríguez-Estrella R, Merino S y Bertellotti M. (2001): Effects of spatial and host variables on hematozoa in White-Crowned sparrow wintering in Baja California. *Journal of Wildlife Diseases*, 37:786-790.
- Bunbury N, Barton E, Jones CG, Greenwood AG, Tyler KM y Bell DJ. (2007): Avian blood parasites in an endangered columbid: *Leucocytozoon marchouxi* in the Mauritian Pink Pigeon *Columba mayeri*. *Parasitology*, 134:797-804.

- Cardona CJ, Iherika A y MacClellan L. (2002): *Haemoproteus lophortyx* Infection in bobwhite quail. *Avian Diseases*, 46:299-255.
- Carmona M, Finol HJ, Marquez A y Noya O. (1996): Skeletal muscle ultrastructural pathology in *Serinus canarius* infected with *Plasmodium cathemerium*. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 28:87-91.
- Castro GA. (1996): Helminths: Structure, Classification, Growth, and Development. En: *Medical Microbiology*, 4^a ed, Editado por Baron S. University of Texas Medical Branch. USA.
- Cellier-Holzem E, Esparza-Salas R, Garnier S y Sorci G. (2010): Effect of repeated exposure to *Plasmodium relictum* (lineage SGS1) on infection dynamics in domestic canaries. *International Journal for Parasitology*, 40:1447-1453.
- CONANP. (2016): Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. <http://www.conanp.gob.mx/regionales/>, (octubre de 2017).
- Clark NJ, Wells K, Dimitrov D y Clegg SM. (2016): Co-infections and environmental conditions drive the distributions of blood parasites in wild birds. *Journal of Animal Ecology*, 85:1461-1470.
- Clark P, Boardman WSJ y Raidal SR. (2009): Hemoparasites of birds. En: *Atlas of Clinical Avian Hematology.*, 125-138. Wiley-Blackwell, UK.
- CONABIO. (2008): Principales tipos de Vegetación en Valle de Bravo. http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/cambios_veg/doctos/tipos_valle.html, (octubre de 2017).
- CONABIO. (2017): Especies de aves en el Estado de México. http://www.avesmx.conabio.gob.mx/EspeciesRegion.html#ESTADO_15, (junio de 2017).
- Dawson RD y Bortolotti G. (2000): Effects of hematozoan parasites on condition and return rates of American kestrels. *The Auk*, 117:373-380.
- Desser SS. (1976): Schizogony and gametogony of *Leucocytozoon simondi* and associated reactions in the avian host. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 14:244-254.
- Dinhopl N, Nedorost N, Mostegl MM, Weissenbacher-Lang C y Weissenböck H.(2015): In situ hybridization and sequence analysis and association of

- Plasmodium* spp. with mortalities in wild passerine birds in Austria. *Parasitology Research*, 114:1455-1462.
- Durrant KL, Beadell JS, Ishtiaq F, Graves GR, Olson SL, Gering E, Perice MA, Milensky CM, Schmidt BK, Gebhard C y Fleischer RC. (2006): Avian hematozoa in South America: A comparison of temperate and tropical zones. *Ornithological Monographs*, 60: 98-111.
- Evans M y Otter A. (1998): Fatal combined infection with *Haemoproteus noctuae* and *Leucocytozoon ziemanni* in juvenile snowy owls (*Nyctea scandiaca*). *The Veterinary Record*, 143:72-76.
- Fallis AM, Davies DM y Vickers MA. (1951): Life history of *Leucocytozoon simondi* Mathis and Leger in natural and experimental infections and blood changes produced in the avian host. *Canadian Journal of Zoology*, 29:305-328.
- Fast KM, Walstrom WV y Outlaw DC. (2016): Haemosporidian Prevalence and Parasitemia In the Tufted Titmouse (*Baeolophus bicolor*). *Journal of Parasitology*, 102:636-642.
- Ferrell ST, Snowden K, Marlar AB, Garner M y Lung NP. (2007): Fatal Hemoproteozoal infection in multiple avian species in zoological park. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 38:309-316.
- Fleischman RW, Squire RA y Slandenjohn Moore WJL. (1968): Pathologic confirmation of malaria (*Plasmodium elongatum*) in African penguins (*Spheniscus demersus*). *Journal of Wildlife Disease*, 4:144-135.
- Forrester DJ y Greiner EC. (2008): Leucocytozoonosis. En: *Parasitic Diseases of Wild Birds*. Editado por Atkinson C, Thomas NJ y Hunter BD., 54-107, Wiley-Blackwell, USA.
- Forrester DJ y Spalding MG (2003): *Parasites and Diseases of Wild Birds in Florida*. University Press of Florida, Gainesville, USA.
- Galen SC y Witt CC. (2014): Diverse avian malaria and other haemosporidian parasites in Andean house wrens: evidence for regional co-diversification by host-switching. *Journal of Avian Biology*, 45:001-013.

- Garvin MC, Homer BL y Greiner EC. (2003): Pathogenicity of *Haemoproteus danilewskyi*, Kruse, 1890, in Blue Jays (*Cyanocitta cristata*). *Journal of Wildlife Diseases*, 39:161-169.
- Gilman S, Blumstein DT y Foufopoulos J. (2007): The effect of hemosporidian infection on white-crowned sparrow singing behavior. *Ethology: International Journal of behavioral biology*, 113:437-445.
- Godfrey RD, Fedynich AM y Pence DB. (1987): Quantification of hematozoa in blood smears. *Journal of Wildlife Diseases*, 23:558-565.
- González-García F y Gómez de Silva Garza H. (2002): Especies endémicas: riqueza, patrones de distribución y retos para su conservación. En: *Conservación de aves: Experiencias en México*. Editado por Gómez de Silva H, y Oliveras de Ita A., 150-194. CIPAMEX, México.
- Greiner EC, Bennett GF, White EM y Coombs RF. (1975): Distribution of the avian hematozoa of North America. *Canadian Journal of Zoology*, 53:1762-1787.
- Greve JH, Graham DL y Nye RR. (1982): Tenosynovitis caused by *Pelecitus calamiformis* (Nematoda: Filarioidea) in the Legs of a Parrot. *Avian Diseases*, 26:431-436.
- Ham-Dueñas JG, Chapa-Vargas L, Stracey CM y Huber-Sannwald E. (2017): Haemosporidian prevalence and parasitemia in the Black-throated sparrow (*Amphispiza bilineata*) in central-Mexican dryland habitats. *Parasitology research*, 116:2527-2537.
- Hauptmanová K, Benedikt V y Literák I. (2006): Blood Parasites in Passerine Birds in Slovakian East Carpathians. *Acta Protozoologica*, 45:105-109.
- Herman CM, Barrow JH y Tarshis IB. (1975): Leucocytozoonosis in Canada geese at the Seney National Wildlife Refuge. *Journal of Wildlife Diseases*, 11:404-411.
- Hewitt R. (1940): Studies on blood protozoa from Mexican birds. *Journal of Parasitology*, 26:287-295.
- Hörak P, Ots I, Vellau H, Spottiswoode C y Møller AP. (2001): Carotenoid-based plumage coloration reflects hemoparasite infection and local survival in breeding great tits. *Oecologia*, 126:166-173.

- Huang YL, Tsai SS, Thongchan D, Khatri-Chhetri R y Wu HY. (2016): Filarial nematode infection in eclectus parrots (*Eclectus roratus*) in Taiwan. *Avian Pathology*, 46:188-194.
- Huchzermeyer FW. (1993): Pathogenicity and chemotherapy of *Plasmodium durae* in experimentally infected domestic turkeys. *Journal of Veterinary Research*, 60:103-110.
- Hunter BD, Rohner C y Currie DC. (1997): Mortality in fledgling great horned owls from black fly hematophaga and leucocytozoonosis. *Journal of Wildlife Diseases*, 33:486-491.
- Ishtiaq F, Gering E, Rappole JH, Rahmani AR, Jhala YV, Dove CJ, Milensky C, Olson SL, Peirce MA y Fleischer RC. (2007): Prevalence and diversity of avian hematozoa parasites in Asia: a regional survey. *Journal of Wildlife Diseases*, 43:382-398.
- Ito A y Gotanda T.(2004): Field efficacy of Recombinant R7 Vaccine against Chicken Leucocytozoonosis. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 66:483-487.
- Jarvi SI, Schultz JJ y Atkinson CT. (2002): PCR diagnostics underestimate the prevalence of avian malaria (*Plasmodium relictum*) in experimentally-infected passerines. *Journal of Parasitology*, 88:153-158.
- Korpimäki E, Tolonen P y Bennett GF. (1995): Blood parasites, sexual selection and reproductive success of European kestrels. *Ecoscience*, 2:335-343.
- LaPointe DA, Atkinson CT y Samuel MD. (2012): Ecology and conservation biology of avian malaria. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1249:211-226.
- Law JM, Tully TN y Stewart TB. (1993): Verminous Encephalitis Apparently Caused by the Filarioid Nematode *Chandlerella quisqualis* in Emus (*Dromaius novaehollandiae*). *Avian Diseases*, 37: 597-601.
- Madani SA y Dorrestein GM. (2012): Filarial Tenosynovitis Caused by *Pelecitus* species (Spirurida, Filarioidea, Onchocercidae) in the Legs of a Channel-billed Toucan (*Ramphastos vitellinus*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 26:36-39.

- Marsello JF, Choconi RG, Sehgal RNM, Tell L y Quillfeldt P. (2006): Blood and intestinal parasites in wild psittaciformes: a case study of burrowing parrots (*Cyanoliesus patagonus*). *Ornitologia neotropical*, 17:515-529.
- Martinsen ES, Perkins SL y Schall JJ. (2008): A three-genome phylogeny of malaria parasites (*Plasmodium* and closely related genera): Evolution of life-history traits and host switches. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47:261-273.
- Merino S, Moreno J, Sanz J y Arrieto E. (2000): Are avian blood parasites pathogenic in the wild? A medication experiment in blue tits. *Proceedings. Biological Sciences*, 267: 2507-2510.
- Møller AP y Nielsen JT. (2007): Malaria and risk of predation: a comparative study of birds. *Ecology*, 88:871-881.
- Møller AP, Barbosa A, Lope F, Merino S y Saino N. (1998): Sexual selection and tail streamers in the barn swallow. *Proceedings: Biological Sciences*, 265: 409-414.
- Navarro-Sigüenza AG, Rebón-Gallardo MF, Gordillo-Martínez A, Peterson AT, Berlanga-García H y Sánchez-González LA. (2014): Biodiversidad de las aves en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, Supl. 85: S476-S495.
- Oppliger A, Christe P y Richner H. (1996): Clutch size and malaria resistance. *Nature*, 381:565.
- Ots I y Hõrak P. (1998): Health impact of blood parasites in breeding great tits. *Oecología*, 116:441-448.
- Padilla DP, Illera JC, Gonzalez-Quevedo C, Villalba M y Richardson DS. (2017): Factors affecting the distribution of haemosporidian parasites within an oceanic island. *International Journal for Parasitology*, 47:225-235.
- Pardiñas A. (1946): Protozoarios sanguíneos de las aves de Oaxaca. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, 7:1-4.
- Parsons NJ, Voogt NM, Schaefer AM, Peirce MA y Vanstreels RE. (2017): Occurrence of blood parasites in seabirds admitted for rehabilitation in the Western Cape, South Africa, 2001-2013. *Veterinary Parasitology*, 233:53-61.
- Peirce MA, Lederer R, Adlard RD y O'Donoghue PJ. (2004): Pathology associated with endogenous development of haematozoa in birds from southeast Queensland. *Avian Pathology*, 33:445-450.

- Peirce MA. (1984): Hematozoa of Zambian birds. I. General survey. *Journal of Natural History*, 18:105-122.
- Peirce MA. (2000): Order Haemosporida Danilewsky, 1885. En: *An illustrated Guide to the Protozoa*, Vol. 1, 2^a ed. Editado por Lee JJ, Leedale GF, y Bradbury P., 339-347, Society of Protozoologists, Lawrence KS, USA.
- Peirce MA. (2005): A checklist of the valid avian species of *Babesia* (Apicomplexa: Piroplasmorida), *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* (Apicomplexa: Haemosporida), and *Hepatozoon* (Apicomplexa: Haemogregarinidae). *Journal of Natural History*, 39:3621-3632.
- Peirce MA. (2016): Hemoparasites. En: *Avian Medicine* 3 ed. Editado por Samour J., 500-502, Elsevier, USA.
- Perkins SL y Schall J. (2002): A molecular phylogeny of malarial parasites recovered from cytochrome *b* gene sequences. *Journal of Parasitology*, 88:972-978.
- Piaton E, Fabre M, Goubin-Versini I, Bretz-Grenier MF, Courtade-Saïdi M, Vincent S, Belleannée G, Thivolet F, Boutonnat J, Debaque H, Fleury-Feith J, Vielh P, Cochand-Priollet B, Egelé C, Bellocq JP y Michiels JF. (2015): Technical recommendations and best practice guidelines for May-Grünwald-Giemsa staining: literature review and insights from the quality assurance. *Annales de pathologie*, 35:294-305.
- Pizarro M, Villegas P, Rodríguez A y Rowland GN. (1994): Filariasis (*Pelecitus* sp.) in the cervical subcutaneous tissue of a pigeon with trichomoniasis. *Avian Diseases*, 38:385-389.
- Quiroz H. (1999): *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. 4^a ed., Limusa, México.
- Raidal SR y Jaensch SM. (2000): Central nervous disease and blindness in Nankeen Kestrels (*Falco cenchroides*) due to a novel *Leucocytozoon*-like infection. *Avian Pathology* 29:51-56.
- Reinoso-Pérez MT, Canales-Delgadillo JC, Chapa-Vargas L y Riego-Ruiz L. (2016): Haemosporidian parasite prevalence, parasitemia, and diversity in three resident bird species at a shrubland dominated landscape of the Mexican highland plateau. *Parasites & Vectors*, 9:307.

- Remple DJ. (2004): Intracellular Hematozoa of Raptors: A review and Update. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 18:75-88.
- Ricklefs RE. (2012): Species richness and morphological diversity of passerine birds. *PNAS*, 109:1482-1487.
- Roberts LS, Janovy J y Schmidt GD. (2009): Gerald D. Schmidt & Larry S. Roberts' *Foundations of Parasitology*. 8th ed., MacGraw-Hill, USA.
- Samour J. (2006): Diagnostic Value of Hematology. En: *Clinical Avian Medicine- Volume II*, por Harrison G. and Lightfoot T., 587-609, Spix Publishing, Inc, USA.
- Sánchez-Jasso JM, Aguilar-Miguel X, Medina-Castro JP y Sierra-Domínguez G. (2013): Riqueza específica de vertebrados en un bosque reforestado del Parque Nacional Nevado de Toluca, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84:360-373.
- Santiago-Alarcon D, Bloch R, Rolshausen G, Schaefer HM y Segelbacher G. (2011): Prevalence, diversity, and interaction patterns of avian haemosporidians in a four-year study of blackcaps in a migratory dive. *Parasitology*, 138:824-835.
- Santiago-Alarcon D, Palinauskas V y Schaefer HM. (2012): Diptera vectors of avian Haemosporidian parasites: untangling parasite life cycles and their taxonomy. *Biological Reviews*, 87:928-964.
- Santiago-Alarcon D. (2015): Técnicas de campo y laboratorio para el estudio de parásitos sanguíneos del orden Haemosporida en aves terrestres. En: *Manual de técnicas del estudio de la fauna*. Editado por Gallina Tessaro S., 53-86, Instituto de Ecología, México.
- Sanz JJ, Arriero E, Moreno J y Merino S. (2001): Female Hematozoan Infection Reduces Hatching success but not Fledging success in Pied Flycatchers *Ficedula Hypoleuca*. *The Auk*, 118:750-755.
- Savage AF, Robert V, Goodman SM, Raharimanga V, Raherilalao MJ, Adrianarimisa A, Arie F y Greiner EC. (2009): Blood parasites in birds from Madagascar. *Journal of Wildlife Diseases*, 45:907-920.
- Sehgal RNM, Buermann W, Harrigan RJ, Bonneaud C, Losieau C, Chasar A, Sepil I, Valkiūnas G, Iezhova T, Saatchi S y Smith TB. (2011): Spatially explicit

- predictions of blood parasites in a widely distributed African rainforest bird. *Proceedings of the Royal Society B*, 278:1025-1033.
- SEMARNAT. (2000): Norma Oficial Mexicana NOM-126-SEMARNAT-2000. *Diario Oficial de la Federación (DOF)*, martes 20 de marzo de 2001.
- SEMARNAT. (2010): Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010. *Diario Oficial de la Federación (DOF)*, jueves 30 de diciembre de 2010.
- Silva CJ, Medina D, Vilorio N, Praderes G, Arevalo C, Amaya W, González J y Romero J. (2015): Prevalencia de Microfilarias en Aves Silvestres de Venezuela. *Fac. Cs. Vets*, 56:87-95.
- Simpson VR, MacKenzie G y Harris EA. (1996): Fatal microfilarial infection in red billed blue magpies (*Urocissa erythrorhyncha*). *Journal of Veterinary Record*, 138:522-523.
- Smith TG. (1996): The genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adelina). *The Journal of Parasitology*, 82:565-585.
- Sorci G. (2013): Immunity, resistance and tolerance in bird-parasite interactions. *Parasite Immunology*, 35:350-361.
- Sturrock HJW y Tompkins DM. (2007): Avian malaria (*Plasmodium* spp.) in yellow-eyed penguins: Investigating the cause of high seroprevalence but low observed infection. *New Zealand Veterinary Journal*, 55:158-160.
- Tarello W. (2006): *Leucocytozoon toddi* in falcons from Kuwait: Epidemiology, clinical signs and response to melarsomine. *Parasite*, 13:179.
- Valkiūnas G, Krizanauskiene A, Tatjana A, Iezhova TA, Hellgeren O y Bensch S. (2007): Molecular phylogenetic analysis of circumnuclear hemoproteids (Haemosporida: Haemoproteidae) of silviid birds, with a description of *Haemoproteus parabelopolskyi* sp. nov. *Journal of Parasitology*, 93:680-687.
- Valkiūnas G, Sehga RNM, Iezova TA y Hull AC. (2010): Identification of *Leucocytozoon toddi* group (Haemosporida:Leucocytozoidae), with remarks on the species taxonomy of leucocytozoids. *Journal of Parasitology*, 96:170-177.
- Valkiūnas G. (2005): *Avian malaria Parasites and Other Haemosporidia*. CRC Press, USA.

- van Riper C III, Atkinson CT y Seed TM. (1994): Plasmodia of birds. En: Parasitic Protozoa, Vol.7, Editado por Kreier JP., 73-140, Academic Press, USA.
- Votypka J, Oborník M, Volf P, Svobodová M y Lukes J. (2002): *Trypanosoma avium* of raptors (Falconiformes): phylogeny and identification of vectors. Parasitology, 125:253-263.
- Warner RE. (1968): The role of introduced diseases in the extinction of the endemic Hawaiian avifauna. The Condor, 70:101-120.
- White EM, Greiner EC, Bennet GF y Herman CM. (1978): Distributions of the hematozoa of Neotropical birds. Revista de Biología Tropical, 26:43-102.
- Wobeter GA. (1997): Diseases of Wild Waterfowl. 2^a ed., Springer Science+Business Media, LLC, USA.
- Yaeger RG. (1996): Protozoa: Structure, Classification, Growth, and Development. En: Medical Microbiology, 4^a ed, Editado por Baron S. University of Texas Medical Branch. USA.