

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

"DETERMINACION DE LOS NIVELES DE ANTICUERPOS CONTRA Chlamydia psittaci EN AVES PSITACIDAS CAUTIVAS EN EL CENTRO DE RESCATE Y CONSERVACION DE ANIMALES SILVESTRES. (ARCAS), EN EL DEPARTAMENTO DE PETEN, REPUBLICA DE GUATEMALA"

PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

POR

ANA PATRICIA CRUZ CASTRO

COMO REQUISITO PREVIO A OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE

MEDICO VETERINARIO

GUATEMALA, SEPTIEMBRE DE 1999

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

DECANO: Lic. RODOLFO CHANG SHUM

SECRETARIO: Dr. M. V. MIGUEL ANGEL AZAÑON ROBLES

VOCAL I: Lic. ROMULO GRAMAJO

VOCAL II: Dr. M. V. FREDY GONZALEZ GUERRERO

VOCAL III: Lic. EDUARDO SPIEGELER

VOCAL IV: Br. JEAN PAUL RIVERA

VOCAL V: Br. FREDDY CALVILLO

ASESORES: Dra. LUCERO SERRANO DE GAYTAN
Dra. BEATRIZ SANTIZO
Dr. JAIME ROLANDO MENDEZ
Dr. JULIO ALVARADO

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

EN CUMPLIMIENTO CON LO ESTABLECIDO POR LOS ESTATUTOS DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA PRESENTO A CONSIDERACION DE USTEDES EL TRABAJO DE TESIS TITULADO:

"DETERMINACION DE LOS NIVELES DE ANTICUERPOS CONTRA Chlamydia psittaci EN AVES PSITTACIDAS CAUTIVAS EN EL CENTRO DE RESCATE Y CONSERVACION DE ANIMALES SILVESTRES (ARCAS), EN EL DEPARTAMENTO DE PETEN, REPUBLICA DE GUATEMALA"

QUE ME FUERA APROBADO POR LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA PREVIO A OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE :

MEDICO VETERINARIO

DEDICO ESTA TESIS

A MI PATRIA GUATEMALA

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

A MIS ASESORES

A MIS CATEDRATICOS

A MIS COMPAÑEROS DE PROMOCION Y AMIGOS, por su amistad durante nuestros años en las aulas y siempre.

ACTO QUE DEDICO

A: DIOS

A MIS PADRES: PATRICIA CASTRO DE CRUZ
(Q.E.P.D.)
GERMAN CRUZ GONZALEZ
Para ustedes este triunfo como
una mínima comprensión
entrega constante y múltiples
recompensa por su amor,
sacrificios

A MI PRIMA: JOSEFINA ESCALANTE VDA DEL
AGUILA.

A MIS AMIGOS: Karla, Jannina, Amildo, Beatriz
Antonieta, Rosario, Dora, Sheny
Paz y Sheny Monzon y Dennis.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a todas las personas que de una u otra forma contribuyeron a la realización de este trabajo especialmente:

A mis asesores: Dra. Lucero Serrano
 Dra. Beatriz Santizo
 Dr. Jaime Méndez
 Dr. Julio Alvarado

Por su colaboración tiempo apoyo y amistad brindada.

Al Departamento de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria

A la Junta Directiva del Centro de Conservación de Animales Silvestres (ARCAS),
Dr. Roberto Monterroso y Dr. Fernando Martínez

A la Embajada de Israel especialmente a la Lcda. Judith de Melendez.

A los Laboratorios Biogal al Sr. Yaffaf Mazar.

Al personal técnico del Centro de Rescate de Animales Silvestres (Arcas).

A la Dra Evelyn Godoy y el Dr. Héctor Fuentes

A la Dra. Lucrecia Mota por su colaboración en la ejecución de la prueba.

Al personal de la Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria
especialmente a Carlos Ozeida por su amistad y su tiempo.

A todos mis compañeros y amigos

INDICE

	Página.
I. INTRODUCCION.....	1
II. HIPOTESIS	2
III. OBJETIVOS	3
IV. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	4
4.1 Definición	4
4.2 Historia	4
4.3 Sinónimos.....	6
4.4 Etiología	6
4.4.1 Taxonomía.....	7
4.4.2 Morfología.....	8
4.4.3 Ciclo de desarrollo.....	9
4.4.4 Características metabólicas.....	11
4.4.5 Características de coloración.....	11
4.4.6 Propagación de los gérmenes.....	12
4.4.7 Resistencia a los agentes químicos y físicos.....	12
4.4.8 Estructura antigénica y toxinas.....	13
4.5 Epidemiología	13
4.5.1 Reservorios.....	14
4.5.2 Distribución geográfica e incidencia.....	14
4.5.3 Morbilidad y mortalidad.....	15
4.5.4 Susceptibilidad.....	15
4.6 Transmisión	15
4.6.1 Presentación.....	17
4.7 Patogenia.....	17
4.7.1 Patogenicidad.....	17
4.7.2 Periodo de incubación.....	18
4.8 Signos clínicos.....	19
4.8.1 Síntomas.....	20
4.8.2 Lesiones.....	21
4.9 Diagnóstico.....	23
4.9.1 Diagnóstico en el ave viva.....	24
4.9.1.1 Muestras de sangre.....	24
4.9.1.2 Muestras fecales.....	25
4.9.1.3 Aislamiento, colección de muestras y examen directos.....	25
4.9.1.4 Preparación de la muestra e inoculación.....	26
4.9.1.5 Inoculación del cultivo celular.....	27
4.9.1.6 Inoculación de embriones de pollo.....	27
4.9.1.7 Inoculación en ratones.....	28
4.9.2 Identificación.....	28
4.9.3 Pruebas serológicas.....	29
4.9.3.1 Fijación del complemento directa.....	29

	Página
4.9.3.2 Fijación del complemento, directa modificada..	29
4.9.3.3 Aglutinación en látex.....	29
4.9.3.4 ELISA.....	30
4.9.4 Diagnóstico diferencial.....	31
4.10 Tratamiento.....	32
4.10.1 Metodos de tratamiento.....	32
4.10.2 Tratamientos orales y parenterales.....	33
4.11 Alojamiento.....	34
4.12 Prevención.....	35
4.13 Control.....	35
4.14 Cuarentena.....	38
Inmunización.....	37
Psitacosis en humanos.....	37
V. MATERIALES Y METODOS.....	40
5.1 Area de estudio.....	40
5.2 Clima y zona de vida.....	40
5.3 Materiales.....	40
5.3.1 Recursos humanos.....	40
5.3.2 Recursos biológicos.....	41
5.3.3 Recursos de campo.....	41
5.3.4 Recursos de laboratorios.....	41
5.4 Metodología.....	42
5.4.1 Metodología de campo.....	42
5.4.2 Metodología de laboratorio.....	43
5.4.3 Analisis de datos.....	46
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
VII. CONCLUSIONES.....	49
VIII. RECOMENDACIONES.....	50
IX. RESUMEN.....	51
X. SUMMARY.....	52
XI. BIBLIOGRAFIA.....	53
XII. ANEXOS.....	58
XIII. APENDICES.....	59

INDICE DE APENDICES

	Página
Descripción morfológica de las especies muestreadas.....	60
Metodos de recolección de sangre en las aves.....	65
Esquema de estructuras de la uña.....	68
Esquema del corte de uña en un ave psitácida.....	69
Toma de muestra en papel filtro.....	70
Solución Phosphate buffered saline.....	71

I. INTRODUCCIÓN

Por su ubicación tropical y su relieve montañoso Guatemala goza de una gran variedad de climas, pero sin extremos; además posee una gran cantidad de flora y fauna, la vida silvestre está considerada como un patrimonio nacional y es un importante recurso natural, cultural y recreacional.

Entre la fauna encontramos aves silvestres como las psitácidas que por su gran belleza, inteligencia y vulnerabilidad son presa fácil para robo y comercio ilegal, siendo también objeto de caza; otro factor importante como limitante poblacional es la deforestación.

Estas aves pueden padecer enfermedades zoonóticas como la Chlamydiosis causada por la bacteria Chlamydia psittaci que afectan a loros, periquitos, guacamayas, que usualmente el hombre las usa como mascotas, también pueden ser afectadas aves domésticas como patos, pavos, palomas, pollos y aves de postura.

La enfermedad es muy importante porque afecta tanto a mamíferos como aves. Estas últimas son reservorios naturales especialmente las aves psitácidas, las cuales al recuperarse pueden actuar como portadoras por algún tiempo a otras parvadas susceptibles.

Para control de la enfermedad es necesario la identificación del agente el aislamiento de las aves y tomar medidas adecuadas, para proteger al personal que las manipula.

El propósito de la presente investigación fue determinar la presencia de anticuerpos circulantes contra la chlamydiosis en aves psitácidas en cautiverio en el Centro de Rescate Conservación de Animales Silvestres (ARCAS) en el Departamento de Petén.

II. HIPOTESIS

Las aves psitácidas nativas en cautiverio en el Centro de la Asociación de Rescate y Conservación de Vida Silvestre (ARCAS) en el Departamento de Petén poseen anticuerpos circulantes contra Chlamydia psittaci.

III. OBJETIVOS

3.1 GENERAL:

Contribuir al conocimiento de la Psitacosis en aves psitácidas en cautiverio en la Asociación de Rescate y Conservación de Animales Silvestres (ARCAS) en el departamento de Petén en la República de Guatemala.

3.2 ESPECIFICO:

Determinar la presencia de anticuerpos circulantes contra Chlamydia psittaci en aves psitácidas del Centro de Rescate y Conservación de Animales Silvestres (ARCAS) en el departamento de Petén.

IV. REVISION BIBLIOGRAFICA

4.1 DEFINICION:

La Chlamydiosis es una enfermedad infecciosa aguda o crónica de las aves silvestres y domésticas, caracterizada por infección respiratoria y generalizada, fiebre, heces color amarillo azufre y exudado caseoso en el corazón e hígado, es transmisible a otras especies inclusive el hombre, dando lugar a un proceso febril caracterizado por neumonía y manifestaciones generales. Puede haber infecciones subclínicas o formas leves semejantes a la gripe (35, 37, 39, 42, 48)

Es particularmente importante en las especies que anidan en colonia, en las aves de corral (pavo, pichones y pato) y en pájaros en aviarios (principalmente psitácidos), tanto en aves capturadas como en las criadas en aviarios (37).

A la Chlamydiosis aviaria se le conoce como Psitacosis cuando ocurre en especies psitácidas y el hombre, y como Ornitosis cuando se presenta en especies emigrantes y en aves domésticas. (3, 8, 37, 39, 42,).

4.2 HISTORIA:

Se ha descrito la psitacosis inicialmente como una entidad clínica en Europa por Juergensen en 1874, luego de un brote muy difundido en París en 1892, Morange (1895) estudió la enfermedad y propuso el nombre de Psitacosis para el padecimiento, debido a su aparente relación con las aves psitacinas. Nocard (1893) aisló un bacilo gram negativo de las aves afectadas y durante unos 38 años se pensó erróneamente que el bacilo de Nocard era el agente causal.

Ocurrieron varias epidemias en Europa en los años subsiguientes y en 1929 fueron reportados más de 100 casos en humanos, en Argentina (Barros, 1929). Los progresos en el campo de la investigación permitieron que se pudiera descubrir en 1930, los cuerpos elementales, por Levinthal en Alemania, Coles en

Inglaterra y Lillie en Estados Unidos. Además su naturaleza y su relación causal fueron comprobadas por los trabajos de Bedson y colaboradores (24).

Los cuerpos elementales extracelular infecciosos se liberan en las secreciones oral, nasal y en heces, pueden sobrevivir fuera del huésped por un mes o más. Son microcolonias Chlamydiales en desarrollo y puede contener de 100 a 500 progenies. Las inclusiones deben ser densas y de forma variable (10, 12).

La infección atrajo interés mundial en el período comprendido entre 1929 y 1930, cuando se produjo una epidemia de neumonía que implicó más de 750 casos en 12 países diferentes incluyendo Estados Unidos. Se estableció la etiología de la infección y se rastreó hasta un embarque de loros provenientes de América del Sur. (13)

A mediados y finales del decenio de 1940, las epidemias por Chlamydias en patos y pavos domésticos ocasionaron pérdidas individuales en la agricultura y también en infecciones humanas.

En 1950 se encontró Chlamydias fuertemente infecciosas en pavos explotados con gallinas disminuyendo el valor en el mercado; por las lesiones ocasionadas.

Entre 1951 y 1956 se produjo nuevamente una serie diseminada de epidemias en humanos que trabajaban en relación directa con la industria avícola (Andrewes en 1957).

Las investigaciones subsecuentes se enfocaron a la microbiología de Chlamydias, epizootiología, serología, patogenia, quimioterapia y control, lo cual constituye actualmente la base para las recomendaciones y reformas en el manejo de la infección del tratamiento y de procesamiento de las aves sospechosas de tener la enfermedad.

En 1959 Moor y col. reportan que las aves silvestres y migratorias pueden ser el origen de la infección en aves domésticas.

En 1960 las investigaciones serológicas en Estados Unidos muestran que la infección sigue siendo prevalente en reservorios como pichones, aves salvajes y mamíferos.

En 1964, Moulder concluye que el germen es una bacteria intracelular obligada y no un virus.

En 1966, Page propone que se clasifique dentro del género *Chlamydia* y de las cuales se subclasifiquen 2 especies *Chlamydia psittaci* y *Chlamydia trachomatis* (8, 12, 32, 33, 37).

En el período de 1965 a 1995, se presentaron casos de psitacosis en humanos que se han reportado en el centro de prevención y control de enfermedades en donde, se ha comprobado que los enfermos siempre han tenido contacto previo con aves (42).

4.3 SINONIMOS:

Psitacosis, Ornitosis y Fiebre de los loros.

Chlamydiosis Aviar, Pneumonía ornitósica, Enfermedad de los loros, fiebre del perico (1, 4, 10, 11, 12, 22,27, 31, 39, 42, 48).

Las especies más afectadas son los pericos, palomas, aves no psitácidas, pavos, patos, gorriones, palomas, faisanes, gaviotas, garzas y otras aves salvajes (37, 51).

Las gallinas son comparativamente más resistentes.

Los mamíferos en general son más susceptibles a este padecimiento, es una zoonosis que en el hombre produce neumonía severa en ocasiones mortal (39).

4.4 ETIOLOGIA:

La chlamydiosis aviar es causada por *Chlamydia psittaci* que es una bacteria intracelular (1, 2, 4, 11, 13, 37, 42).

A partir de su composición antigénica, de sus huéspedes sensibles, de su virulencia y de sus efectos patógenos, se han distinguido numerosas cepas de Chlamydias.

Pueden ser clasificadas en dos especies: Chlamydia psittaci y Chlamydia trachomatis dependiendo de su sensibilidad a la sulfadiazina o cicloserina y al tipo de inclusiones citoplasmáticas en las células infectadas.

Chlamydia psittaci y Chlamydia trachomatis:

Dentro de cada una de las especies hay una homología a nivel del DNA, pero esta homología es muy escasa entre las distintas especies (4, 12, 13, 18, 24).

4.4.1 TAXONOMIA:

La bacteria pertenece a:

Reino Procariota

Familia Chlamydiaceae

Orden Chlamydiales

Género Chlamydia.

Especie psittaci (12, 37)

Sinonimia del género Miyagawanella y Bedsonia (1, 24).

Las Chlamydias tienen diversas propiedades que las relacionan con las bacterias entre las cuales tenemos:

1. Presencia de DNA y RNA.
2. División por fisión binaria.
3. Paredes celulares idénticas a las de las bacterias gram negativas.
4. Ribosomas de tamaño parecidos al de los ribosomas bacterianos.
5. Sensibilidad a los antibióticos (11, 18).

El crecimiento de la Chlamydia puede estar inhibido por las tetraciclinas y hasta cierto punto por las penicilinas que impiden la reorganización de los cuerpos reticulares para formar los corpúsculos elementales.

En presencia de la penicilina las Chlamydias producen esferoplastos intracelulares de gran tamaño que son viables en el interior de las células del huésped.

La estreptomycinina no es efectiva contra las Chlamydia.

Por estudios del 16S RNA, ribosomal (RNAr) se determinó que las Chlamydias son eubacterias (12).

DIFERENCIACION DE ESPECIES DEL GENERO CHLAMYDIA

Características	C. Trachomatis	C. Psittaci
Huéspedes naturales	Humanos Ratones	Aves, mamíferos no Humanos
Morfología de la inclusión		
Oval, vacuolar	+	-
Densa	-	+
Forma variable, densa	+	-
Glucógeno en inclusiones	+	-
Biosíntesis de fosfatos	Humano tracoma	Pistacosis
Enfermedad	Linfogranuloma	Ornitosis
		Infecciones Generalizadas
	Venéreo	Subclínicas en aves y Mamíferos
	Ureítis	
	Ratón	
	Neumonitis del ratón	Neumonía enteritis

Fuente : Calnek y Freeman, 1995.

4.4.2 Morfología y propiedades bioquímicas:

Existen dos presentaciones morfológicas de Chlamydias, llamadas cuerpo elemental (CE) y cuerpo reticulado (CR). El cuerpo elemental es un cuerpo esférico, denso y pequeño, de alrededor de 0.2 a 0.3 μ m de diámetro, que rivaliza con los micoplasmas por lo pequeño; además es la forma infecciosa del microorganismo, que se adhiere a las células epiteliales columnares blanco y se introducen. Se cree que la rigidez de la membrana del cuerpo elemental, se debe

a la mayor cantidad de puentes disulfuro entre las principales proteínas de membrana y no a una mayor matriz de peptidoglican clásica de unión cruzada, ya que no se encuentra ácido murámico.

La distribución de aminoácidos en las paredes celulares de las Chlamydias es similar a las de las paredes celulares de Escherichia coli, el contenido de la pared es en su mayor parte de proteínas (70%) y lípidos (5.1%) con el resto de carbohidratos. Los cuerpos elementales no tienen movimiento carecen de flagelos y fimbrias.

El CR es la forma intracelular, metabólicamente activa, que se divide por fisión binaria. Es más grande que el cuerpo elemental, en casi 0.6 a 1.5 μm de diámetro, y es osmóticamente frágil. Aunque se encuentran DNA y RNA en el cuerpo elemental y cuerpo reticulado, la proporción de RNA a DNA es mayor en el cuerpo reticulado. Las formas de cuerpo reticulado sintetizan su propio DNA, RNA y proteínas pero algunas de sus capacidades metabólicas son limitadas, cuando se comparan con bacterias colonizantes de vida libre.

El genoma Chlamydiano es una molécula circular de DNA, con peso molecular de 6.6×10^8 . Una molécula de este tamaño puede dar información de cerca de 600 proteínas diferentes (4, 18, 37).

4.4.3 Ciclo de desarrollo:

Un ciclo de desarrollo poco usual caracteriza el crecimiento de estas bacterias intracelulares obligadas en sus células huéspedes eucariotas. El ciclo consiste de cinco fases principales, de manera esencial: 1) Adherencia y penetración por el cuerpo elemental, 2) transición del cuerpo elemental metabólicamente inerte al cuerpo reticulado metabólicamente activo, 3) crecimiento y división del cuerpo reticulado, lo que produce mucha progenie, 4) maduración de los cuerpos reticulados no infecciosos a cuerpos elementales infecciosos y 5) liberación de cuerpos elementales de las células huésped.

El fenómeno inicial en el proceso infeccioso comienza con la adherencia de cuerpos elementales de Chlamydia psittaci a las microvellosidades en la superficie apical de las células epiteliales columnares susceptibles. El cuerpo elemental viaja hacia abajo de las microvellosidades y se localiza en indentaciones de la membrana plasmática eucariótica, algunas de las cuales se asemejan a fosos cubiertos. Después los cuerpos elementales se internan en invaginaciones de la membrana plasmática. Por lo que la captación es análoga a un proceso semejante a la endocitosis. Las vesículas endosómicas que contienen Chlamydia psittaci escapan a la interacción de los lisosomas y avanzan al área nuclear. Las Chlamydias permanecen rodeadas y protegidas por la membrana endosómica durante todo su desarrollo intracelular.

Pueden haber alteraciones en la pared celular del cuerpo elemental y resultar en una transición esferoplástica del cuerpo elemental a la forma de cuerpo reticulado. Estos cambios primero incluyen la reducción en los puentes de enlace disulfuro entre las principales proteínas de la membrana externa.

La síntesis de DNA, RNA y proteínas se inicia, lo cual permite el crecimiento del cuerpo reticulado y la división por fisión binaria. No obstante, el cuerpo reticulado, no puede generar enlaces fosfato de alta energía. Por lo mismo, su adaptación a un hábitat intracelular se debe a su dependencia de las células eucariotas por energía. En este punto, las mitocondrias de la célula huésped se colocan contra endosoma Chlamydiano agrandado incapacitando al cuerpo reticulado para parasitar el ATP mitocondrial, vía una translocasa ATP-ADP Chlamydiana. El ATP se desdobla a ADP por una ATPasa del cuerpo reticulado, y la fuerza motora resultante del protón ayuda al transporte de nutrientes. La Chlamydia posee unas proyecciones superficiales cilíndricas poco comunes que promedian en número 18 y se distribuyen en un arreglo hexagonal.

Estas proyecciones se anclan en la membrana citoplásmica y protruyen a través de los orificios en la envoltura. Se sugiere que las proyecciones penetran

la membrana endosómica, que rodea la microcolonia Chlamydial en desarrollo, lo que permite la captación de nutrientes del citoplasma de la célula huésped.

La microcolonia Chlamydial en desarrollo se llama "inclusión" y puede contener de 100 a 500 progenies, lo que depende de la especie de Chlamydia. En algunos casos, las inclusiones múltiples pueden aparecer en células infectadas con Chlamydia psittaci. En el caso Chlamydia psittaci la célula huésped, por lo general, se daña severamente y la liberación de las Chlamydias es por lisis 48 horas después de la infección inicial. Chlamydia psittaci sobrevive y crece en los macrófagos (4, 10, 12, 17, 18, 33).

4.4.4 Características Químicas y Metabólicas:

Las Chlamydias se hallan perfectamente adaptadas al ambiente intracelular, estos microorganismos sobreviven a la fagocitosis. Evitan o inhiben la actividad enzimática lisosómica. Inhiben la síntesis de DNA del huésped. Son parásitos energéticos ya que utiliza la energía metabólica del huésped empleando el ATP. Son capaces de producir sus macromoléculas (18).

4.4.5 Características de Coloración:

Las Chlamydias se pueden observar coloreando los tejidos infectados o frotis con las tinciones de Giemsa, Castañeda, Macchiavello y Giménez.(14, 16)

Cuando se dispone de microscopios ópticos de luz, se puede ver las Chlamydias en improntas de tejidos infectados.

La tinción Giemsa las tiñe de púrpura oscuro; la de Castañeda de azul y Giménez de rojo. El método Giménez se prefiere para teñir Chlamydias en improntas del saco vitelino en embriones de pollos infectados, Giménez es el mejor método de coloración, y se ha probado ser útil para hacer diagnóstico presuntivo en examen microscópico de improntas de sacos aéreos, bazos y pericardio de aves infectadas de manera natural. (12).

Todas las Chlamydias son gram negativas pero la tinción no es de valor práctico en la identificación intracelular (12, 19, 25, 35, 37, 39).

Las Chlamydias se caracterizan porque se pueden cultivar en células vivas (32, 39).

4.4.6 La propagación de los gérmenes:

Todas las cepas de Chlamydia psittaci crecen y se multiplican con facilidad en el saco vitelino de embriones de pollo, en ratones vía intracerebral, intranasal, intraperitoneal, cultivos celulares secundarios, derivados de embriones de pollo y en algunas de las líneas celulares comunes en mamíferos.

Los gérmenes se multiplican a un alto título en los cultivos de tejidos de las estirpes de células (Mc. Coy, Células de L de ratón, HeLa, Vero, BHK 21), pero generalmente no producen efectos citopáticos visibles (12, 31).

Microscópicamente se observan inclusiones intracitoplasmáticas y cuerpos elementales (35, 37, 39).

4.4.7 Resistencia a los agentes químicos y físicos:

Las Chlamydias son susceptibles a la mayoría de los desinfectantes como el Cloruro de benzalconio, nitrato de plata, compuestos yodados, etanol al 70% y peróxido de hidrógeno al 3%, desinfectantes como amonio cuaternario y los solventes de lípidos aun en presencia de materia orgánica. Son resistentes a compuestos derivados del ácido cresílico y a la cal, alcoholes diluidos al ácido hidroclórico, al hidróxido de sodio, fenol sulfato de amonio, al agua y jabón ordinario.

En suspensiones al 20% de tejidos infectados son destruidas en 40 horas a 37°C y en 11 días a 22°C en el excremento seco pueden permanecer infecciones durante muchos meses (12, 14, 16, 39).

4.4.3 Estructura antigénica y toxinas:

Las Chlamydias son muy complejas antigénicamente. De manera principal, consisten de lipoglicoproteínas de género específico, inmunodominantes y numerosas proteínas de diferentes pesos moleculares.

Las lipoglicoproteínas, que son comunes a todas las cepas de ambas especies de Chlamydias, contienen un polisacárido ácido, que es el determinante antigénico y es termoestable (100°C, 30 min) y estable al fenol (0.5%), el grupo inmunodominante es un ácido 2-ceto-deoxicetánico. El antígeno es soluble en éter o en soluciones acuosas de laurilsulfato sódico, a partir del cual se puede precipitar con ácido. El antígeno es resistente a la tripsina, quimotripsina, y papaína; pero su reactividad se niega por oxidación con periodato potásico. Este complejo antigénico puede purificarse y separarse en varias fracciones por intercambio de iones en cromatografía.

La principal proteína de membrana externa de Chlamydias parece ser de gran importancia en la determinación de grupos antigénicos de estos microorganismos.

Las Chlamydias son tóxicas para animales de experimentación cuando se inyectan en grandes cantidades. Es posible que formen toxinas solubles.

Cuando los cuerpos elementales se exponen a 37°C por un tiempo corto, o a las concentraciones bajas de formaldehído pierden su toxicidad.

El efecto letal se demuestra inoculando ratones con grandes cantidades de Chlamydias activas y dentro de las 24 horas siguientes produciendo la muerte, caracterizándose las lesiones hepáticas, pulmonar y renales (24, 35).

Se han verificado muchas reacciones cruzadas entre las toxinas de Chlamydias de diferentes aves y mamíferos (12).

4.5 Epidemiología:

La infección natural por Chlamydia se ha encontrado en más de 129 especies de aves, tanto domésticas como silvestres de las cuales más de 70 son

de la familia Psittacidae. Se sabe que las garzas y gaviotas pueden portar Chlamydia psittaci sin manifestar signos de enfermedad (17, 42).

4.5.1 Reservorios:

Los reservorios naturales de Chlamydia psittaci son aves silvestres y domésticas. Los mamíferos también constituyen otro reservorio natural del agente. (1, 11, 40, 51).

Las aves psitácidas son las mejor conocidas como reservorios, la infección entonces es común en loros, pericos, etc.(16, 17)

Se han aislado de aves no psitácidas como pavos, gallinas, patos, gorriones, palomas, faisanes, pavos, tordos, zanates, frailecillos (4, 12, 14).

El portador más frecuente de Chlamydia es la paloma.

La tasa de infección entre pichones es muy elevada; en aves que no parecen probables portadoras como gaviotas, garzas y aves de caza, se puede encontrar que portan cepas virulentas sin que sufran efectos nocivos (35, 37).

Son la fuente de infección al mezclarse con aves domésticas (37).

Otros pájaros como canarios, pinzones y gorriones contraen la enfermedad cuando se exponen a psitácidos infectados (25, 51).

El tiempo de eliminación puede prolongarse y las cantidades de Chlamydia eliminadas varía dependiendo de las especies de aves y la producción de anticuerpos como una consecuencia de infección por Chlamydia (12).

4.5.2 Distribución Geográfica e Incidencia:

Las Chlamydiosis se presentan en todo el mundo, ya sea en epidemias o endemias lo que depende de las especies y lugares (1, 4, 12, 35.).

La incidencia de la enfermedad es variable.

Se desconocen las razones para la presentación cíclica irregular de la Chlamydiosis en aves domésticas; esto se podría explicar por el estado inmunitario variable de los vectores y la amplificación de los huéspedes aviarios (4, 12).

4.5.3 Morbilidad y Mortalidad:

Son variables dependiendo de:

- Susceptibilidad del huésped.
- De la forma de transmisión
- Virulencia de la cepa
- Dosis infectiva.
- Factores estresantes
- Edad
- Ruta de exposición
- Profilaxis y tratamientos (16, 27, 42, 45, 51)).

4.5.4 Susceptibilidad:

Pavos, aves psitácidas y otras especies, humanas y probablemente otros mamíferos, como perros, gatos, caballos, rumiantes, cabras, ovejas, cerdos y ranas. (13, 14, 16, 19, 22, 27, 40, 47, 53)

El humano adulto es más susceptible que los niños; lo contrario sucede en las aves; las más susceptibles son las de temprana edad (3, 48).

4.6 Transmisión:

- Directa:

Por aerosoles, deyecciones, exudados y polvo de las plumas de animales infectados. En las palomas es importante la transmisión de padres a hijos por alimentar a sus crías por vía oral.

- **Indirecta:**

Inhalando material infeccioso desecado como heces y fómites.

Los vectores mecánicos como los ácaros que permanecen en los nidos de las aves (35, 39).

Los vectores biológicos como aves silvestres, pericos, gorriones, cuervos, garzas, gaviotas y aves domésticas como patos y pichones que son susceptibles a la infección y pueden contagiar principalmente a parvadas comerciales de pavos.

Se sabe de 129 especies aviares que han sido huéspedes y vectores de las Chlamydiosis.

Los vectores mecánicos pueden ser transmitidos por ácaros, piojos y moscas. Las moscas simúlidas son sospechosas de posible transferencia de Chlamydias entre los pavos (12, 16, 37, 39, 40).

La transmisión entre aves ocurre por vía respiratoria.

La infección en las aves es sobre todo gastrointestinal y el agente se elimina por las heces.(14, 47, 51, 55)

En casos de diarrea que es frecuente en aves enfermas, grandes cantidades de Chlamydias se eliminan al medio ambiente (inclusive por contaminación del plumaje), materia fecal seca, coprofagia y canibalismo.(53).

La virulencia y la dosis de exposición es importante en la severidad de la enfermedad en el hombre (1, 29).

La infección en el hombre por Chlamydia de mamíferos domésticos o silvestres es rara.

Las aves recuperadas pueden ser portadoras durante cierto período y pueden transmitir la enfermedad a parvadas susceptibles.

El uso de casetas no desinfectadas donde anteriormente fueron alojadas aves con Chlamydiosis es también importante en esta enfermedad porque la Chlamydia puede sobrevivir hasta un mes o más fuera del huésped (12).

En pericos y loros suele ocurrir una infección latente, que bajo ciertas condiciones de tensión extrema (captura, confinamiento) puede pasar a ser un problema clínico (28, 39).

4.6.1 Presentación:

La difusión una vez infectadas las aves es rápida en pavos, mientras que en patos y aves silvestres es más lenta dependiendo de la patogenicidad así como la cantidad de microorganismos presentes (39, 53).

4.7 Patogenia:

La Chlamydia penetra por vía oral nasal, pasa a sacos aéreos, pulmones y mesenterio.

Posteriormente se distribuye pasando luego a la sangre, bazo, riñones y epicardio.

El microorganismo es excretado por las heces y en descargas nasales (19, 22, 31, 32, 39 40, 42, 53).

4.7.1 Patogenicidad:

La patogenicidad de las Chlamydias aisladas de las aves pueden dividirse en 2 categorías:

- Cepas altamente virulentas, causan mortalidad. Se han aislado frecuentemente en pavos, aves silvestres. Se les ha llamado toxigénicas porque producen rápidamente una enfermedad fatal en aves y animales de laboratorio y ocasionan epidemias agudas en las que la mortalidad puede oscilar entre un 5 y 30% de aves afectadas, producen la enfermedad rápidamente y se caracterizan por provocar congestión vascular e inflamación de los órganos vitales (12, 39).

La toxigenidad de una cepa se puede medir de manera experimental por la inyección de grandes cantidades de Chlamydias propagadas en el saco vitelino por vía intravenosa en ratones. El punto final es el choque letal tóxico a las 48 horas post inoculación.

Las cepas toxigénicas además tienen amplio espectro de patogenicidad para animales de laboratorio y originan infecciones en humanos sobre todo en trabajadores de granjas y laboratorio.

Cepas de baja virulencia: Causan baja mortalidad cuando no se asocian a infecciones bacterianas o parasitarias secundarias. El índice de mortalidad es menos de 5%.

Se han aislado de pichones y patos, pavos, gorriones y aves silvestres. Las cepas de alta y baja virulencia parecen tener capacidad para diseminarse con rapidez en una parvada comprobándose con pruebas serológicas (10, 12, 39).

4.7.2 Período de Incubación:

El período de incubación en aves infectadas de manera natural varía de acuerdo con las cantidades de Chlamydias inhaladas y la virulencia de la cepa infectante.

El período de incubación en aves enjauladas es de días a semanas; puede ser tan corto de 3-10 días, 17 meses o hasta años. (10, 17, 42).

En aves silvestres el período de incubación es variable.

Experimentalmente en pavos jóvenes que reciben una cepa virulenta el período de incubación puede ser de 5 días. En aves expuestas naturalmente a pequeñas dosis o en aves grandes que reciben mayores exposiciones el período puede prolongarse. Las cepas de baja virulencia pueden tener un período de incubación indefinido puede ser de 2 a 8 semanas después de la exposición antes de que presenten signos notables (4, 12).

La enfermedad se puede presentar en forma aguda y dura aproximadamente 1-4 semanas o más (1, 35, 39).

La gran mayoría de las infecciones son latentes e inaparentes.

La enfermedad ocurre por lo general al disminuir la resistencia orgánica de las aves por factores estresantes (aglomeración, infecciones, concurrentes, condición antihigiénicas, deficiencia dietética, transporte prolongado, etc). (1).

4.8 Signos clínicos:

Va a variar dependiendo principalmente de la virulencia del microorganismo y estado inmunológico (10).

La Chlamydiosis puede ser asintomática o bien puede aparecer clínicamente como formas:

Hiperagudas

Agudas y

Crónicas

La forma hiperaguda se caracteriza por muerte repentina en un ave aparentemente sana.

La forma aguda causa depresión, anorexia, plumas erizadas, pérdida de peso, heces color verdoso pálido o mostaza, regurgitación y signos respiratorios (descarga ocular, nasal, sinusitis, inflamación del saco aéreo, pulmonía), blefaritis.(17, 22, 55).

La forma crónica se observa en especies psitácidas y columbidas; se caracteriza por esplenomegalia, hepatomegalia y decoloración hepática. Esta forma de la enfermedad se complica por lo general con una afección bacteriana. Se presenta debilidad muscular, respiración superficial y signos gastrointestinales o nerviosos.(55).

Las aves aparentemente sanas pueden estar infectadas (10, 12, 19, 25, 42, 43, 52).

4.8.1 Síntomas:

La sintomatología no es característica. Un ave puede presentar varios o muchos de los siguientes síntomas, plumas erizadas, inquietud, pérdida del apetito, heces verdosas y acuosas, escalofrío, temblores y marcha vacilante, hipertermia, baja producción de huevos, diarrea, conjuntivitis, la severidad varía de una simple congestión conjuntival a una obstrucción necrótica de la órbita, apatía, secreción nasal, pérdida de peso, conforme la enfermedad avanza hay deshidratación y muerte (14, 25, 28, 37, 39, 43, 51, 55).

En los pavos infectados con Chlamydia psittaci, se observa decaimiento y caquexia. Si se trata de la forma aguda, fiebre, baja producción de huevos de 10-60% dependiendo de la cepa. La postura se recupera cuando pasa el brote. Las aves descansan con el esternón sobre el piso con la cola levantada debido a dolor abdominal.

Signos cardinales:

1. Lesión intestinal causa diarrea amarillenta.
2. Inflamación de los sacos aéreos.
3. Exudado caseoso en corazón e hígado.

El loro y otras aves psitácidas, presentan hemorragia cerebral, blefaritis, fotofobia y diarrea.

En patos, pericos y palomas se observa: Anorexia, decaimiento caquexia, diarrea verde, exudado nasal, ocular, conjuntivitis, rinitis, disnea, estertores en los últimos estadios de la enfermedad.(13)

En las palomas adultas se observa disminución en su habilidad de correr y rara vez mueren aunque sus crías pueden morir en el nido (32, 39, 48).

Las gallinas son resistentes a la infección y sólo se llegan a observar signos y mortalidad en aves jóvenes.

En mamíferos se ha reportado experimentan artritis, aborto, encefalitis y conjuntivitis (33).

4.8.2 Lesiones:

Macroscópicas:

En la necropsia de pavos, pericos y palomas se observa: congestión de los pulmones y con zonas edematosas, exudado fibrinoso con células inflamatorias mezcladas en sacos aéreos, peritoneo, corazón, hígado y bazo, aumento de volumen del hígado y bazo en los que se puede observar focos necróticos, con infiltrados celulares, inflamatorios mezclados y estasis biliar.(20)

En patos, rinitis, conjuntivitis, atrofia bulbar, músculos pectoral atrofiados, y en patos jóvenes se presentan temblores, marcha desequilibrada y caquexia, en pichones hay presencia de exudado fibrinoso en sacos aéreos engrosados, serosa peritoneal y en el epicardio esplenomegalia, hígado friable y descolorido. El bazo está congestionado y friable. (12).

En loros y otras aves psitácidas se encuentra hemorragia cerebral, esplenomegalia y epicarditis conjuntivitis, estertores en los últimos estadios de la enfermedad.(2,8,35,39,48).

Microscópicas:

La presencia de numerosos corpúsculos esféricos en células mononucleadas permite sospechar de Chlamydiosis los cuales se pueden teñir con anticuerpos fluorescentes.

Las lesiones de las cepas menos virulentas son similares a las virulentas diferenciándose porque son menos severas.

En infecciones graves con cepas virulentas, los pulmones muestran congestión difusa y la cavidad pleural puede contener exudado fibrinoso, en casos letales la cavidad se llena de un transudado oscuro.

La membrana pericardiaca se engrosa, congestiona y se cubre de exudado fibrinoso.

El corazón puede estar agrandado y su superficie cubierta con placas de fibrina o con exudado amarillento escamoso y la muerte se produce por severo daño al corazón y pulmones, los sacos aéreos se engrosan tienen exudado fibrinoso y en la serosa peritoneal y el mesenterio muestran congestión vascular y exudado fibrinoso espumoso blanco.

Los exudados contienen grandes cantidades de células mononucleares donde se encuentran numerosas microcolonias citoplasmáticas de cuerpos reticulados Chlamydiales.

Beasley y col. descubrieron que los cambios histopatológicos en pavos de varias edades inyectados vía intratraqueal con la cepa virulenta TT de Chlamydia psittaci consistieron en cambios proliferativos y necrosantes comparados a los provocados por otras cepas de Chlamydia, en otras especies (excepto la necrosis focal de hígado que es notable en pericos y ratones).

Los daños en el órgano fueron más graves en animales jóvenes que en adultos.

Las aves también muestran traqueítis caracterizada por infiltración extensa de células mononucleares linfocitos y heterófilos en la lámina propia y submucosa, pérdida de cilios en las áreas más afectadas (4, 12).

Los pulmones están congestionados y con extensa infiltración en los bronquios terciarios y túbulos respiratorios con células mononucleares y fibrina; necrosis celular y grandes áreas de tejido afectando el parénquima y el estroma.

En pavos lesiones intestinales con contenido acuoso amarillento, inflamación en los sacos aéreos y exudado caseoso en el corazón e hígado, sacos aéreos opacos, hígado y bazo hipertrofiado, miocarditis, placas de fibrina en el corazón, congestión de serosas y mesenterio . (1, 2, 25, 35, 47, 48).

El pericardio y epicardio se encuentran engrosados por congestión de vasos sanguíneos, exudado inflamatorio que tiene fibrina, grandes células mononucleares y cantidades variables de linfocitos y heterófilos. Se observa miocarditis, arteritis y hepatitis se presenta una dilatación difusa con infiltración de células monocleares linfocitos y heterófilos. Hay proliferación de células de Kupffer hinchadas llenas con restos y pigmento amarillo.

Las células hepáticas necróticas esparcidas en todo el órgano con pequeñas necrosis focales y también se produce orquitis y epididimitis. Las células inflamatorias y la fibrina parecen relacionadas con el epitelio descamado y necrótico que llena los túbulos seminíferos con exudado eosinofílico.

Se puede producir muerte inmediata en machos adultos, por la ruptura de vasos sanguíneos testiculares por sangrado masivo interno.

Las cepas menos virulentas de Chlamydia psittaci pueden producir proliferación celular y necrosis de los principales órganos y congestión vascular en pavos pero las lesiones son menos severas y se observa neumonía severa en aves que mueren de la enfermedad.

En los patos las lesiones a la necropsia consisten en: atrofia de músculos pectorales y poliserositis, pericarditis de serosa o serofibrinosa, hepatomegalia, perihepatitis y esplenomegalia,

Algunos hígados y bazos tienen focos necróticos grisáceos o amarillentos (10).

4.9 Diagnóstico:

Se puede lograr mediante las siguientes formas:

- El aislamiento del agente causal en embrión de pollo o en ratón (4,13,41)
- Los signos en áreas endémicas proveen bases para un rápido tratamiento y recomendaciones.
- Serología por medio de inmunofluorescencia o ELISA; altos títulos en la parvada indican el curso de la infección

- Examen histopatológico de cortes de tejido.
- Identificación de Chlamydia dentro de macrófagos, por las coloraciones de Giménez y Macchiavello (4,25,32,43,48,52).

4.9.1 Diagnóstico en el ave viva:

El diagnóstico de la psitacosis en el ave viva es difícil, se puede lograr el aislamiento de Chlamydia, aunque debido al peligro tan grave para los humanos, deberá conducirlo sólo personal experimentado que trabaje en laboratorios que cuentan con equipo especial (35).

- Historia clínica : Aves recientemente importadas.
- Examen físico: Se sospecha de Clamydiasis en aves con plumaje insuficiente, pérdida de peso o signos de enfermedad gastrointestinal o respiratoria.
- Radiografía se puede observar hepatoesplenomegalia, opacidad en los sacos aéreos, en casos de aerosaculitis y en enfermedad crónica no se presentan anomalías en las radiografías (10, 35).

4.9.1.1 Muestras de sangre:

Procesar muestras de sangre de acuerdo a las especificaciones del laboratorio; se puede conseguir una cantidad suficiente de sangre de la vena yugular, del ala, o de la uña de la pata cuando se ha recortado bastante, el laboratorio puede llevar a cabo la prueba de fijación de complemento (F-C) así como también se puede aislar el agente infeccioso, En la fase de crecimiento bacteriano exponencial. Si se puede demostrar una elevación de cuatro veces el título del suero comparando la fase aguda y la de convalecencia en un intervalo de cuatro semanas, se puede interpretar la prueba como positiva. Una ave medicada puede ser que no desarrolle esta elevación en el título, aunque haya estado infectada. Aunque un título inicial muy alto de 1/128 tiende a reforzar el diagnóstico tentativo, la prueba de fijación de complemento es de valor limitado para el clínico (10, 35).

En Chlamydiosis la química sanguínea es la siguiente:

- Se observa leucocitosis mayor de 40,000 leucocitos/ μ l, se observa heterofilia con desviación a la izquierda.
- Monocitosis relativa y linfocitos reactivados.
- Leucocitos normales en casos subclínicos
- Volumen bajo de glóbulos rojos aglomerados en la enfermedad aguda y crónica.
- Las proteínas séricas están elevadas como resultado de estimulación inflamatoria crónica.
- Los niveles de Transaminasa oxalacética, Lactato deshidrogenasa, ácidos biliares, ácido úrico, pueden estar elevados dependiendo del sistema orgánico afectado (10).

4.9.1.2 Muestras fecales:

Las muestras fecales se hacen por medio de hisopados rectales que pueden someterse a cultivo; el agente puede ser aislado e identificado.

El aislamiento toma 10 días en cultivo de tejidos y 42 días en inoculación de ratones (35).

4.9.1.3 Aislamiento, Colección de muestras y examen directo:

Los tejidos y exudados de aves que presentan signos y lesiones de Chlamydiosis se deben tomar de manera aséptica. Las muestras de tejidos preferidos son sacos aéreos, bazo, pericardio, corazón, hígado y riñones. De aves vivas, las heces, impresiones con hisopos de la cloaca, sangre heparinizada (durante la fase febril), raspados conjuntivales (si hay inflamación o exudado) y líquido peritoneal (si existen problemas respiratorios) se pueden colectar para aislamiento de Chlamydias o exámenes citológicos (12).

Las improntas de tejido y preparaciones húmedas o exudados fijados secos pueden examinarse de manera directa con microscopio de luz (\geq x 800) y con procedimiento apropiados. Se puede hacer la identificación tentativa de

Chlamydias en células en preparaciones húmedas, con microscopio de contraste de fases. La presencia de numerosos cuerpos esféricos de 0.2 a 0.4 (µ de diámetro, en especial cuando se encuentran en muchas células mononucleares, es indicativo de una infección por Chlamydias, en caso de que no se encuentren micoplasmas.

La tinción citoquímica, de preferencia el método Giménez, como también la tinción de Giemsa, se pueden emplear para obtener evidencia presuntiva de infección por Chlamydias. Las improntas se deben hacer de superficies de bazo e hígado y sacos aéreos, pericardio y epicardio. Se deben secar al aire y fijarse con calor por el método de Giménez o 5 minutos en metanol por el método Giemsa. Algunas bacterias se tiñen de rojo a rojo purpúreo y otras de verde o rojizo purpúreo; pero su tamaño, forma o localización son distintas a las Chlamydias en inclusiones.

Las impresiones fijadas en acetona de tejidos o exudados secos se pueden usar para exámenes al microscopio después de la tinción con anticuerpos fluorescentes con un conjugado adecuado. Este procedimiento debe identificar la presencia de Chlamydias sin que existan antígenos bacterianos que puedan tener reacciones cruzadas con los anticuerpos de Chlamydias (4, 12).

4.9.1.4 Preparación de la muestra e Inoculación:

Los aislamientos se pueden hacer por inoculación de muestras procesadas de manera adecuada en monocapas de cultivos celulares, en sacos vitelinos de embriones de siete días de edad, o en ratones por la vía intraperitoneal. Se hace una suspensión al 20% (peso/volumen) de la muestra con un diluyente apropiado que contenga antibióticos como medio para controlar las bacterias contaminantes, debe tenerse cuidado que éstos carezcan de efecto sobre las Chlamydias. Estos diluyentes pueden servir también como medio de transporte para el manejo de muestras cuando es necesario, muestras en suspensión se centrifugan (menos de 800 x g) por 15 a 20 minutos antes de la inoculación en el huésped deseado (12).

4.9.1.5 Inoculación del cultivo celular:

Monocapas de células sobre portaobjetos de vidrio (3 o 4/inóculo), en placas o en tubos con tapón de rosca se inoculan con 0.5 a 1.0 ml de la muestra en suspensión, se centrifugan por 30 minutos a 1000 a 2000 revoluciones por minuto. El exceso de inóculo se elimina y se agrega medio de crecimiento de cultivo celular nuevo. Después de 72 horas se recolectan los portaobjetos, se secan al aire, se colocan con las células hacia arriba y fijan, tiñen y examinan con microscopio, para determinar el efecto citopático.

Se debe tener cuidado cuando se emplean cultivos celulares. Se debe determinar que el suero bovino fetal usado en los medios no contenga anticuerpos hacia Chlamydias u otros factores o sustancias que pueden ser Chlamydiácidas. Por ejemplo los hisopos de Alginato de Calcio y de varilla de madera pueden tener un efecto inhibitor sobre las Chlamydias o tóxico para las células que sustentan su crecimiento y no se deben de usar cuando se intenta el aislamiento del microorganismo. Procesar las muestras en las 48 horas siguientes después de su recolección (12, 17).

4.9.1.6 Inoculación de embriones de pollo:

Embriones de pollo incubados seis a siete días se inoculan con 0.2 a 0.5 ml/embrión vía saco vitelino. Los huevos para este propósito deben provenir de pollos a los que no se le haya incluido antibióticos contra Chlamydias en el alimento. Los embriones inoculados se deben incubar a 39°C debido a que la temperatura acelera de manera importante el crecimiento Chlamydial. La congestión vascular en el saco vitelino es la lesión predominante observable en embriones que mueren por infección con Chlamydia psittaci. Los sacos vitelinos se colectan de embriones muertos de 3 a 10 días después de la inoculación. Las improntas se preparan para tinción y se examinan con microscopio (9, 21, 32, 35, 37, 39).

4.9.1.7 Inoculación en ratones:

Los ratones de 3 a 4 semanas de edad, se deben inocular por vía intraperitoneal (utilizada con más frecuencia), intracerebral o intranasal; se emplean de 4 a 6 ratones por cada muestra. Las Chlamydias de ratones inoculados por vía intraperitoneal tienden a multiplicarse en la serosa peritoneal, producen inflamación que favorece la acumulación de exudado fibrinoso en la cavidad, también es frecuente que haya esplenomegalia en ratones con infecciones Chlamydiales peritoneales. El exudado y el bazo contienen numerosas células llenas de Chlamydias que se pueden usar para tinciones citoquímicas o de inmunofluorescencia. Se examinan las impresiones de meninges de ratones inoculados por vía intracerebral y los pulmones de ratones inoculados por vía intranasal (4, 12).

4.9.2 Identificación:

Para reconocer a Chlamydia psittaci, en aislamiento Chlamydial puro debe tener inclusiones típicas en microcolonias, que deben ser densas y de forma variable. Esto demuestra con rapidez en cultivos celulares infectados teñidos con el método Giménez o Giemsa. Las inclusiones no deben contener glucógeno, que es detectable por tinción de yodo de los microorganismos en cultivos celulares. Por otra parte, el crecimiento del aislamiento no se debe inhibir más de 10 veces (LD50) en embriones de pollo, que también se inoculan con 1 mg de sulfadiazina sódica/embrión cuando se comparan con embriones sin fármaco.

La presencia de antígeno Chlamydial (específico de género) en cultivos celulares, sacos vitelinos de embriones de pollo, o tejidos o exudados de ratón, puede detectarse con anticuerpos fijadores de complemento. La inmunofluorescencia directa e indirecta, con inmunoglobulinas conjugadas con isotiocianato de fluoresceína pueden usarse para el mismo propósito como con los métodos de ELISA directo o indirecto con inmunoglobulinas conjugadas con enzimas apropiadas.(12).

4.9.3 Pruebas serológicas:

La fijación con complemento (FC) es un método muy utilizado para detectar anticuerpos Clamydiales. Esto en parte se debe al antígeno que contiene carbohidrato inmunodominante de Chlamydiae induce con rapidez anticuerpos fijadores de complemento. Tales anticuerpos no son indicativos de inmunidad a la reinfección por Chlamydiae. No obstante son útiles, para detectar la infección por Chlamydiae, en especial en una parvada (10, 12).

4.9.3.1 Fijación del complemento directa:

El uso de antígeno preparado de Chlamydiae propagadas en cultivos celulares se usa en un micro procedimiento para detectar anticuerpos Chlamydiales en suero de pavo, en suero de aves silvestres, y en sueros de aves psitácidas. La prueba de fijación de complemento es relativamente sensible para detectar anticuerpos Chlamydiales (10, 12, 20, 22, 28).

4.9.3.2 Fijación del complemento Directa modificada:

Al agregar suero normal de pollo nuevo a una concentración del 5% al complemento (volumen/volumen), se aumenta la sensibilidad del procedimiento de fijación del complemento, así que el procedimiento puede usarse para probar sueros de especies de aves cuyos anticuerpos no fijan de manera normal el complemento de cobayo (10, 12, 17, 22, 37, 42).

4.9.3.3 Aglutinación en látex:

Este método se desarrolló para emplearse con suero de aves psitácidas pero también es de utilidad con sueros de pavos, sueros de pichón y de paloma. No se conoce su utilidad para probar sueros de otras aves domésticas. Primero por su uso para detectar aves psitácidas infectadas por Chlamydia que ahora son mascotas, el antígeno debe ser accesible comercialmente. El método es valioso

principalmente porque detecta IgM, el cual indica que existe una infección en ese momento o reciente. Su principal desventaja es que no es una prueba adecuada para todas las especies y parece no ser de gran sensibilidad, una característica compartida con otras reacciones de aglutinación (7, 10, 12, 17, 37, 42).

4.9.3.4 ELISA:

La prueba inmunoabsorbente ligada a una enzima (ELISA), se puede usar para descubrir y medir anticuerpos o antígenos (46).

El análisis de la enzima ligada a un sustrato inerte (ELISA) corresponde a un análisis inmonoenzimático. El antígeno o el anticuerpo primero se encuentra fijado a un sustrato y se adiciona antígeno o anticuerpo correspondiente, marcado con un enzima (conjugada); se lava el conjugado que no reaccionó y se mide la capacidad de hidrólisis de la enzima sobre su correspondiente sustrato específico

Se emplea una enzima y un sustrato que den por producto color, por consiguiente la intensidad del cambio de color es proporcional a la cantidad de antiglobulina ligada a la enzima que se une, lo cual depende de la cantidad de anticuerpos presentes en el suero de la prueba. (5).

El valor que aparece puede estimarse visualmente o con un espectrofotómetro (34, 36, 38, 46, 54).

Las técnicas de ELISA pueden ser clasificadas en competitivas y no competitivas, dependiendo de que el antígeno libre y el antígeno ligado a una enzima o fijado a una fase sólida compita por un número limitado de sitios activos de anticuerpos o bien dependen si el antígeno o anticuerpo a medir se le permite reaccionar con un exceso de reaccionante inmune (4, 6, 12, 53, 54).

Entre las ventajas que posee ELISA, se citan su sensibilidad alta, la especificidad dependerá de la preparación del antígeno, aunque la lectura es objetiva (45, 54).

En la prueba de ELISA el material más comúnmente usado es el poliestireno que permite una fácil separación del material libre del complejo antígeno - anticuerpo.

Se desarrolló un equipo ELISA INMUNOCOMB de fase sólida para la determinación de anticuerpos contra Chlamydia psittaci en aves psitácidas, sirve para detectar IgG en los loros, es un método rápido se utiliza suero o sangre (6, 7, 9, 16, 30).

El inmunocomb es una tarjeta plástica la cual esta sensibilizada con un antígeno purificado de Chlamydia psittaci.(5).

El peine es insertado con la muestra de suero o sangre inicialmente para que ocurra una reacción antígeno - anticuerpo, luego se inserta el peine con la muestra donde esta la enzima marcada con un anticuerpo IgG anti loros que va a reaccionar con un antígeno - anticuerpo complejo y finalmente el peine es insertado a un compartimiento donde la enzima reacciona generando un cambio de color indicando la presencia de anticuerpos (6).

4.9.4 Diagnostico Diferencial:

En pavos diferenciar de influenza, aspergillosis, cólera aviar, colibacilosis, salmonelosis.

La Chlamydiosis debe diferenciarse de pasteurelisis en particular en pavos ya que los signos y lesiones pueden ser similares.

Micoplasmosis en pavos sospechosos de estar infectados por Chlamydias, la diferenciación se puede hacer por cultivo y pruebas serológicas para micoplasmosis, la colibacilosis, la influenza aviar, se pueden hacer pruebas serológicas (10, 12, 31, 32, 39).

En patos: Pasteurella anatipestifer (12, 31 , 39).

4.10 Tratamiento:

Antibióticos de amplio espectro, particularmente tetraciclinas, es efectivo al ser administrado sobre todo por 30 a 45 días (35,39,42,48).

También Chlamydia psittaci es susceptible a la acción de la penicilina, el cloranfenicol y la Aureomicina a razón de 2,000 gr/ton de alimento durante tres semanas (35, 39, 42, 48).

El tratamiento de las psitacinas pequeñas (periquitos o periquitos australianos). Se ha simplificado a través de la utilización de semilla de mijo desvainada impregnada con clortetraciclina, que se encuentra en el comercio. Siempre que se utilice esta preparación cuando todavía no haya expirado su fecha de caducidad y que no haya estado expuesta a la luz solar directa, se eliminará la psitacosis en las pequeñas psitacinas. Debido a que los pericos psitacinos grandes no comen semilla de mijo, el antibiótico debe incorporarse en otro tipo de alimento para ellos (35, 42).

4.10.1 Métodos de tratamiento:

- Alimentos medicados:

El alimento consumido debe ser monitoreado. Pero hay que adaptar primero al ave a la dieta similar no medicada. El tratamiento empieza cuando el ave acepta el medicamento en la dieta (24).

- Medicamento mezclado en la dieta clortetraciclina al 1%.

Es recomendado poner en un recipiente 2 libras de arroz, 2 libras de alimento de gallina machacado poner de 473 ml de agua cocinar en olla de presión por 15 minutos, agregar 10 mg clortetraciclina ya que el alimento este tibio, esta dieta es limitada su aceptación por el ave.

- Semillas de mijo para periquitos impregnado con 0.5 mg de clortetraciclina/gramo por 30 días (10, 13, 22, 35, 42, 55).

- Pellets y productos extrudados estos productos contienen 1% de clortetraciclina usarlo en un periodo de 45 días. (20).

4.10.2 Tratamientos orales y parenterales:

- Doxiciclina oral: Es una droga de elección. Dosis recomendadas 40-50 mg/kg dosis oral en gallos. En loros Senegal, frente azul y ala naranja (Amazona amazónica) 25 mg/kg dosis oral.

En loros africanos grises (*Psittacus erithacus*), cacatúa Goffini (Cacatúa goffini), guacamaya de ala verde (*Ara chloroptera*), guacamaya de ala azul (*Ara maracana*), se recomienda de 25-30 mg/kg vía oral para empezar en cacatúas y guacamayas y 25-50 mg/kg vía oral es recomendada en otras especies de psitácidos. Si ocurre la regurgitación buscar otro método.

- Doxiciclina inyectable, vía intramuscular en la región pectoral (pecho). (23).
No en todos los tratamientos es adecuado ya que puede causar irritación en el lugar de la inyección.

La dosis usada es de 75-100 mg/kg intramuscular 5-7 días por 4 semanas y luego cada 5 días durante el período del tratamiento.

Los productos usados en humanos no deben aplicarse porque puede ocurrir severas reacciones en tejidos en el sitio de la inyección.

- Oxitetraciclina inyectable: De larga duración, dosis recomendada 75mg/kg por 3 días en cacatúas en loros frente azul y ala naranja (Amazona amazónica), guacamayas azules y doradas este producto causa irritación en el sitio de la inyección. Si el ave esta demasiado enferma y no puede comer, el tratamiento deberá iniciarse mediante la inyección intramuscular de tetraciclina, clortetraciclina u oxitetraciclina, cuando menos durante el primer o los primeros dos días. La dosificación variará de acuerdo con la especie y con el tamaño, pero 5 a 10 mg diarios es adecuada para los periquitos australianos y 40 a 50 mg diarios es adecuada para pichones y algunos pericos. Se aplica el mismo tratamiento con otras aves (23, 35, 42).

A veces la salmonelosis puede ser un factor que complica el cuadro, por ello se recomienda una combinación de antibióticos (12).

Pavos tratarlos con clortetraciclina a una concentración de 400 g/ton de alimento peletizado teniendo cuidado que el calor no destruya la clortetraciclina y disminuya la concentración eficaz. Darlo por 2 semanas y después reemplazar con alimento no medicado por 2 días antes del sacrificio de las aves para consumo.

Se recomienda que un lote de pavos infectados se sacrifique.

La reinfección puede suceder con rapidez, pues las aves silvestres residentes pueden continuar albergando Chlamydias por un tiempo.

Se recomienda hacer un examen a pavos antes de mandarlos al mercado, hacer serología, aislamiento en tejidos de aves seleccionadas al azar.

En pichones dar tratamiento medicado con tetraciclina pero éste tratamiento puede no ser eficaz en la eliminación del estado de portador.

Los períodos alternados de tratamiento y sin tratamiento pueden ser eficaces para acabar finalmente la infección crónica.

Otros tratamientos experimentales son el uso de fluoroquinolonas, macrólidos y compuestos inyectables de doxiciclina y doxiciclina medicada en el alimento (12, 13, 16, 23, 35, 39, 42).

Los cuidados de sostén deben de incluir una hidroterapia, alimentación forzada, calor y antibioterapia si hay infección secundaria.(2, 35)

4.11 Alojamiento:

Las jaulas deben ser espaciosas y deben contar con una reja deslizable en el fondo para evitar que las aves estén sobre el piso de la jaula. Se pueden colocar varias capas de papel periódico sobre la charola que se encuentra bajo la reja. Los periódicos sucios pueden retirarse con frecuencia y quemarse o colocarlos en una solución desinfectante. Cuando la jaula requiere de limpieza, se pasa el ave a una jaula limpia. La jaula sucia se debe lavar muy bien con agua

caliente jabonosa, luego sumergir la jaula en una solución al 1% de cloruro de amonio cuaternario durante 30 minutos. Por último enjuagar bajo el chorro de agua limpia (12, 35, 42).

4.12 Prevención:

- Aislamiento, saneamiento, no admitir visitantes. Evitar mezclar con aves de otra especie y con mamíferos, agrupar las aves por edad.
- El movimiento del personal debe ser restringido
- Excluir aves silvestres.
- Desinfectar las jaulas con productos de principio activo a los que son susceptibles antes de introducir nuevos animales.
- Evitar modificaciones bruscas en la dieta o una intensa reproducción.
- Comprobar que las aves estén libres de la enfermedad.
- Tratar a las aves infectadas.
- Evitar el movimiento de aves vivas, cadáveres.
- Prevenir el contacto con reservorios potenciales o vectores como aves salvajes y silvestres.
- Alimentos medicados con tetraciclina.
- Aislamiento de aves.
- Alojamiento
- Hacer pruebas diferentes para diagnosticar Chlamydiasis cada año (10, 12, 22, 27, 35, 37, 42, 55).

4.13 Control:

- Mantener registros para identificar el origen de las aves y su posible exposición individual, datos del comprador, identificar las especies y alguna identificación si está enferma o muerta. Si alguien lo vende o compra tomar datos de dirección, teléfono y nombre del futuro propietario.

Las aves con signos de Chlamydiosis no deben ser adquiridas.

- Antes de introducir un nuevo espécimen al colocarlos con un nuevo grupo de aves ponerlo en cuarentena y observar por 14-30 días Proporcionarle un tratamiento preventivo con las drogas de elección.
- Prevención. Alojarse al ave en jaulas donde las plumas, el alimento, goteo de agua y otros materiales no pase a otra jaula. No amontonar todas las jaulas; poner barreras. Las jaulas lavarlas diariamente. El alimento y el agua vaciarlo y limpiar con agua y jabón, enjuagar, poner una solución de desinfectante y enjuagar diariamente. Las jaulas lavarlas restregándolas con agua y jabón, desinfectantes a los que es susceptible, enjuagar con agua y ventilarlas.(16, 22, 27)
- Manejo durante la infección:
El ave necesita tratamiento y aislamiento.
Lavar y desinfectar las jaulas.
Alojar un ave en jaula con malla de alambre como piso, poner papel periódico como cama.
Cuando la jaula deba ser limpiada el ave debe cambiarse a otra jaula.
La jaula se lavará con agua y jabón, restregarla con detergente y desinfectar (por 5 minutos) enjuagar.
- Ventilar las jaulas para eliminar las Chlamydias del medio ambiente.
- Desinfección: Usar amonio cuaternario, alcohol isopropílico.
- Protección personal:
Debe usar ropa protectora, guantes, gorras, mascarillas cuando laven las jaulas.
- A la necropsia humedecer las plumas con detergente y agua, para evitar la diseminación de partículas infecciosas (14, 16, 22, 35, 42).

4.14 Cuarentena:

La cuarentena es una opción de que dispone el operador y el dueño.

La propuesta de la cuarentena es para evitar la transmisión de la enfermedad.

Si un animal es sospechoso debe avisar a las autoridades, al propietario; y disponer de las siguientes opciones:

- Tratamiento.
- Separación en área de cuarentena.
- Eutanasia.

Aves en cuarentena dar un tratamiento mínimo de 7 días. Hablar con el dueño de continuar la cuarentena y tratamiento e informarle el riesgo de la enfermedad. Se debe limpiar y desinfectar el área donde estuvo el ave (14, 16, 22, 25, 26, 39, 42, 55).

4.15 Inmunización:

Existen vacunas Chlamydiales comerciales que indican inmunidad protectora prolongada contra Chlamydias.

En aves, Page, tuvo éxito en producir una respuesta celular que protege a más del 90% de los pavos contra desafíos graves. No hay respuesta humoral detectable y aplicó 2 dosis de vacuna a las 8 semanas para mejorar resultados (12).

4.16 PSITTACOSIS EN HUMANOS

- Ocurrencia en el hombre:

Generalmente es esporádica.

La infección interhumana es rara y ha sido observada solo en algunas enfermeras que cuidaron de pacientes con psittacosis.(1)

- Transmisión:

La infección ocurre por inhalación de microorganismos por aerosoles, por secreciones respiratorias de aves, por contacto de plumas tejidos infectados, y las heces.

Tiene tendencia a presentarse como enfermedad profesional en personas que manipulan y cultivan pájaros (1,3, 11,16, 42).

- **Patogenia:**

El agente penetra en el organismo por vías respiratorias altas, luego vía sanguínea y en los alvéolos pulmonares, bazo e hígado. Hay engrosamiento de las paredes alveolares, edema, necrosis hemorragias.

- **Período de Incubación:**

El período de incubación en el humano es de 5-14 días. Y las infecciones pueden ser inaparentes hasta una enfermedad severa con neumonía (16, 22, 25).

- **Sintomas:**

En la infección humana se desarrolla fiebre, escalofríos, faringitis, dolor de cabeza, mialgias, complicaciones respiratorias, fotofobia, anorexia, tos seca, esputo mucoso que llega ser purulento. Cuando hay neumonía atípica, la radiografía muestra al comienzo manchas de consolidación en la parte inferior de los pulmones evolucionando a una bronconeumonía (27).

Dolor torácico, pleuresía con derrame a roce pleural, pericarditis y miocarditis. La frecuencia respiratoria normal o ligeramente elevada, disnea intensa con cianosis (en psitacosis pulmonar extensa). (1, 3, 11, 32).

Estertores silbantes que se hacen audibles y más numerosos, consolidación pulmonar y faringitis, depresión mental, agitación, insomnio, desorientación. (1, 3, 22, 32, 35, 40, 42, 47, 55).

- **Diagnóstico:**

En humano el agente infeccioso (cuerpos elementales) puede ser aislado de esputo, fluido pleural, suero durante la fase aguda, antes de un tratamiento con antibióticos.

El diagnóstico es usualmente establecido por métodos de serología, biopsia de tejidos. (16, 22).

- **Tratamiento:**

Tetraciclina: Algunas personas responden con una terapia oral.

Doxyciclina 100 mg o tetraciclina 500 mg intravenoso, en dosis 10-15 mg/kg, de peso corporal (1, 3, 11, 16, 18, 22, 27, 32, 40, 42).

- **Grupo de alto riesgo:**

La Chlamydiosis de origen aviar es en gran parte, una enfermedad ocupacional de obreros de plantas de procesamiento de pavos, desplumado de patos, gansos, criadores de palomas y empleados de venta de aves exóticas y de adorno. Los pavos pueden quedar como portadores del germen y por lo tanto ser un riesgo de infección para el personal encargado de la matanza, veterinarios técnicos de laboratorio, dueños de las aves, trabajadores de cuarentena, trabajadores de zoológico y empleados de tiendas de mascotas (1, 3, 16, 22, 42).

V. MATERIALES Y METODOS

5.1 Area de Estudio:

La investigación práctica se realizó en el Centro de Rescate y Conservación de Animales Silvestre ubicado en el departamento de Petén a 12 km de Flores en la Finca Quexil, entre la Laguna Petenchel y la aguada Bonifata.

El centro cuenta con una clínica equipada con una cocina, dos bodegas separadas (una para alimento y otra para equipo médico y medicamentos). Recintos para albergar a los animales silvestres que se encuentran en la fase de recuperación y cuarentena, también con dos casas para albergar al personal que atiende a los animales.

5.2 Clima y zona de vida:

De acuerdo a Holdrige (1976) la zona de vida de Petén corresponde al bosque húmedo sub-tropical cálido para la zona norte y bosque muy húmedo sub-tropical cálido para la zona sur. La humedad relativa es de 76%.

El área de estudio corresponde al bosque húmedo subtrópical cálido posee las siguientes características: precipitación varía entre 1160 y 2000 mm anuales, la biotemperatura oscila entre 22 y 27°C, elevándose en los meses de enero a marzo, y una altitud que varía entre 0 y 300 mts sobre el nivel del mar.

5.3 Materiales

5.3.1 Recursos humanos:

- 1 Biólogo, Ornólogo
- 1 Estudiante investigador
- 2 Técnicos de Arcas
- 4 Médicos Veterinarios asesores

5.3.2 Recursos Biológicos

Sueros de aves psitácidas

Antígenos

50µl de suero inactivado con títulos predeterminados

Control negativo

5.3.3 Recursos de campo

2 Jaulas

4 Guantes de cuero

3 Redes y mallas

2 Gorras y mascarillas

2000 ml Alcohol

2 libras de algodón

2 Rollos masking tape

1 Libreta

3 marcadores

1 Vehículo todo terreno (propiedad de ARCAS).

130 fichas para resultados

150 tiras de papel filtro de 11.5 por 0.4 cm.

2 cortauñas

2 frascos de quick stop

2 rollos de papel absorbente

5.3.4 Recursos de laboratorio:

10 kit de inmunocomb para 12 pruebas cada uno

4 pipetas Pasteur

4 Placas de inhibición de la aglutinación de fondo plano.

1 timer.

1 rollo de toallas de papel absorbente

1,000 ml de solución PBS (Phosphate-buffered saline)

130 viales con tapón plástico

130 fichas de registro de laboratorio

5.4 Metodología

La parte práctica de este trabajo se llevo a cabo en el Centro de Rescate y Conservación de Animales Silvestres (ARCAS), que se encuentra en el municipio de Flores en el Departamento de Petén, se procedió a recolectar las muestras de sangre de la totalidad de las aves psittácidas que se encuentran en este centro en el momento de realizar la investigación.

5.4.1 Metodología de campo:

Recolección de sangre por corte de uña.

La sujeción de las aves se llevo a cabo por medio de redes y con guantes de cuero.

Ya sujetas las aves se procedio a la extracción de sangre por medio de corte de uña.

Se desinfecto la uña con alcohol y algodón, luego se corta la uña a nivel del área vascular lo que permitió que la sangre fluyera libremente, esto se hace por medio de un cortaúñas especial.

Se recolecto la sangre por medio de una tira de papel filtro con las siguientes medidas 11.5 por 0.4 centímetros; se procedio a colocar el papel filtro embebiéndolo a la mitad de su longitud de sangre.

Se cauterizo la uña con quick stop.

La tira de papel filtro se seco al aire, se identifico respectivamente por medio de masking tape cada muestra, abarcando 1 centímetro del extremo de papel filtro.

Las muestras se colocaron en medio de hojas de papel absorbente.

Las muestras se transportaron a la ciudad capital por vía aérea, y se procesaron en el Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

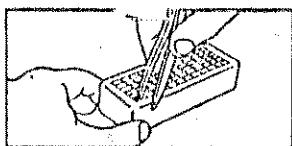
5.4.2 Metodología de laboratorio:

Procesamiento de las muestras de sangre en papel filtro:

La muestra de sangre de papel filtro se colocó en placas de inhibición (HI) de fondo plano, adicionándole 0.025 ml de solución PBS (Phosphate-buffered saline) en cada fosa, por medio de las pipetas Pasteur para hidratar la muestra.

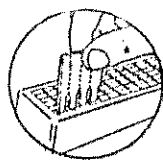
Se dejaron las muestras reposando 24 horas en refrigeración. Luego de transcurrido este tiempo se tomó 5 μ l de cada muestra ya reconstituida que se utilizará para la determinación de anticuerpos por medio de la prueba de ELISA (Inmunocomb de los Laboratorios Biogal), la cual es una tarjeta plástica semejante a un peine el cual tiene antígeno de Chlamydia psittaci.

Pasos para efectuar la prueba:

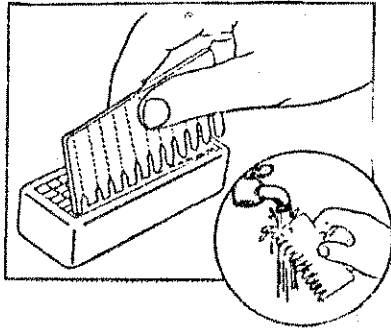


Paso 1: El kit se saca de refrigeración ($T^{\circ} 4^{\circ}\text{C}$), se deja a temperatura de medio ambiente durante 60 minutos. Se utiliza una pinza plástica para abrir los compartimentos de las diferentes celdas que se encuentran selladas con papel aluminio.

Paso 2: Se utiliza 5 μ l de suero o de la muestra reconstituida y con una micropipeta se coloca en las celdas del compartimiento A.



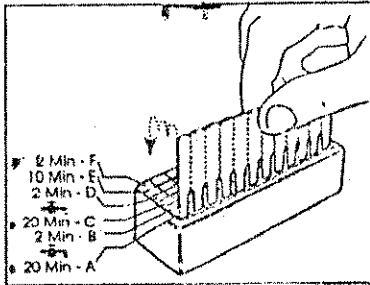
insertar el peine del Inmucomb en el compartimiento de la celda A insertarlo varias veces el peine, cada 2 o 3 minutos evitando la



presencia de burbujas, incubar por 20 minutos. Retirar el peine del compartimiento la celda A, luego lavar el peine por ambos lados con agua del chorro por 5 segundos.

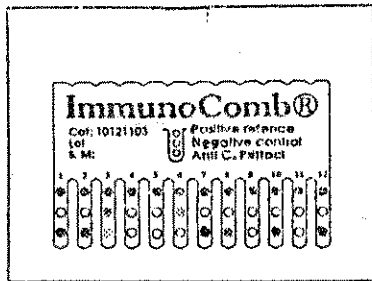
Paso 3: El peine insertarlo en el compartimiento B, e incubar por 2 minutos.

Paso 4: insertar el peine en el compartimiento C reinsertandolo varias veces cada 2 o 3 minutos, evitar la formación de burbujas e Incubar por 20 minutos. A temperatura ambiente.

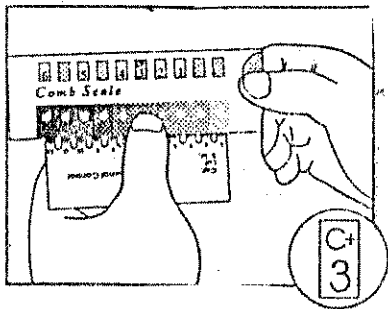


Paso 5: Lavar el peine debajo del chorro de agua por 5 segundos e insertarlo en el compartimeiento D, incubar por 2 minutos.

Paso 6: Sacudir el peine en una toalla absorbente para quitar el exceso de liquido y transferir el peine al compartimiento E, dejar reposar por 10 minutos para que la coloración se desarrolle.

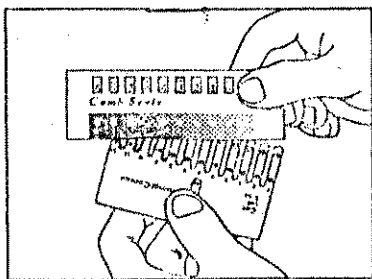


Paso 7: Sacudir el peine para evitar el exceso de liquido en una servilleta absorbente e introducir el peine en el compartimiento F varias veces, incubar por 2 minutos y se presenta una reacción de color. Dejar secar.



Paso 8: Retirar el peine del compartimiento F y lavarlo.

Paso 9: Leer el resultado usando la combescala proporcionada por el distribuido (5,9,30) y anotarlo en la ficha de registro (ver anexo 1)



Lectura e interpretación de resultados:

El peine del inmunocomb tiene unos círculos indicadores que cambian de color (que van del gris claro al gris oscuro) en presencia de anticuerpos contra Chlamydia psittaci.

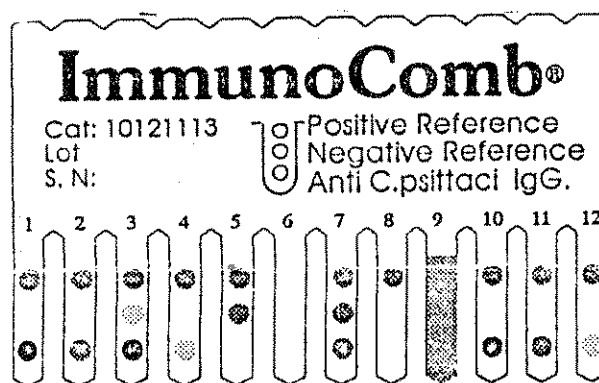
Usar la escala de colores para comparar los títulos con el control (+)

Interpretación de los resultados:

- La respuesta inmune indica la enfermedad clínica o contaminante, con Chlamydia da anticuerpos residuales durante y después del tratamiento.
- Es aconsejable aplicar al ave tratamiento.
- Especímenes con una gran intensidad de color gracias al control (-) es considerado (+).
- El control (-) consiste de ave no inmunizada y será leído a cero sobre cero.
- La concentración de anticuerpos se expresó en logaritmos de base 2.
- El control (+) contiene suero inactivado de loro llevando anticuerpo antichlamydia y se puede leer como S - 3 en la combescala (30).

Posibles resultados que podemos encontrar en la Prueba de ELISA

Diente No.	Resultados	Marcas
1,10	reacción altamente positiva	altamente positiva
2, 11	reacción media positiva	media positiva
3	alta positiva con baja reaccion no especifica en una referencia negativa	positiva
4, 12	reacción baja positiva	sospechoso
5	reacción no especifica sobre una referencia negativa	negativa
6	referencia no positiva	falla en la prueba
7	medio positivo con algun color de referencia negativa	no especifica
8	Negativa	negativo normal
9	Diente coloreado en su totalidad	prueba no válida



5.4.3 Análisis de datos

Se estimó la proporción de aves psitácidas rectoras positivas a la prueba de ELISA Inmunocomb según la especie de aves psitácidas y la presentación de los datos se realizó por medio de cuadros y gráficos.

Para establecer si existe asociación entre la especie de aves psitácidas y la reacción a la prueba de inmunocomb para psitacosis se realizó la prueba de chi cuadrado (χ^2).

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

La presente investigación se llevó a cabo en el Centro de Rescate y Conservación de Animales Silvestres (ARCAS), que se encuentra en el municipio de Flores, en el departamento de Petén, donde se encontraba una población de 101 aves psitácidas de cinco diferentes especies distribuidas de la siguiente manera: 46 aves de la especie Amazona autumnalis (Loro de cachetes amarillos), 21 aves de la especie Ara macao (Guacamaya Roja), 19 aves de las especies Amazona albifrons (Loro de frente blanca), 13 aves de la especie Amazona farinosa (Loro frente azul) y 2 aves de la especie Pionus senilis (cotorra de corona blanca), para determinar la presencia de anticuerpos circulantes contra Chlamydia psittaci por medio de la prueba de ELISA (inmunocomb).

De la población de aves muestreadas los resultados fueron los siguientes 8 aves resultaron positivas (7.88%) a la presencia de anticuerpos circulantes contra Chlamydia psittaci y 93 resultaron negativas (92.12%), las cuales pertenecían a las especies Ara macao y Pionus senilis. (ver anexo 2).

De acuerdo con la literatura consultada, la Chlamydiosis afecta a más de 70 especies de la familia Psittacidae por lo cual Chlamydia psittaci no tienen ninguna predilección por especie para que se desarrolle la enfermedad, en la presente investigación en la cual la especie Amazona autumnalis presentó más aves positivas, debe tomarse en cuenta que era la de mayor número de especímenes en la colección, ninguna de las aves presentaba síntomas pero el microorganismo se puede albergar en bazo o riñones, luego de sufrir stress pueden desarrollar la enfermedad.

En la seropositividad es importante tomar en cuenta el período de incubación que puede ser de 3-10 días, hasta 17 meses pero la enfermedad puede estar latente después de años de exposición .

Según reporta Beirheim en la prueba de ELISA (inmunocomb) puede encontrarse falsos positivos, cuando un ave esta infectada, pero en el momento de realizar la prueba no esta eliminando Chlamydia psittaci, pudiendo darse además por contaminación de la muestra por Staphylococcus.

Los falsos negativos se presentan en los estados agudos de la infección o en los estados terminales de la enfermedad.

La prueba de ELISA (Inmunocomb) identifica a las aves que se les ha dado una terapia antibiótica inadecuada y tienen disminuido el número de microorganismos.

Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de chi cuadrado el cual nos indica que no hay asociación entre la especie de ave y la presencia de anticuerpos circulantes contra Chlamydia psittaci.

VII. CONCLUSIONES

- Se demostró que el 7.88% de las aves psitácidas de la colección presentaban anticuerpos contra Chlamydia psittaci.
- La especie Amazona autumnalis tuvo el mayor número de aves positivas a la prueba de ELISA.
- Las especies que resultaron negativas a la prueba fueron Ara macao y Pionus senilis.
- Se estableció que no existe asociación entre la especie de aves psitácidas y la presencia de anticuerpos circulantes contra Chlamydia psittaci.
- La prueba de ELISA (inmunocomb) es un método rápido, sencillo y es una prueba de campo para determinar la presencia de anticuerpos circulantes contra Chlamydia psittaci.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar la prueba de ELISA para Chlamydia psittaci a todas las aves que se encuentren en cautiverio.
- Tener en cuarentena a las aves de recién ingreso y hacerles la prueba de ELISA y luego darles un tratamiento preventivo con tetraciclinas durante un período no menor de 45 días.
- Utilizar los compuestos de amonio cuaternario en el área de cuarentena ya que la Chlamydia psittaci es susceptible a esté.
- No hacer las pruebas de ELISA en aves tratadas con medicamentos como penicilina, cloranfenicol, porque pueden dar resultados falsos positivos o bien correrse dos pruebas para confirmar la enfermedad.
- A los trabajadores de zoológicos se les debe informar acerca del riesgo de la enfermedad y el manejo que deben tener al estar en contacto con aves psitácidas y si presentarán algún tipo de afección respiratoria que acudan a recibir asistencia médica; para que se les proporcione un tratamiento adecuado.
- En los zoológicos y colecciones privadas se recomienda hacer por lo menos una prueba de rutina, así como manejo adecuado de las aves para prevenir la enfermedad de Chlamydiosis siendo esta de importancia en Salud Pública y por tratarse de una zoonosis.

IX. RESUMEN

Esta investigación se realizó para determinar la presencia de anticuerpos circulantes contra Chlamydia psittaci en aves psitácidas que se encontraban alojadas en las instalaciones del Centro de Rescate y Conservación de Animales Silvestres (ARCAS), en el municipio de Flores, en el departamento de Petén.

Se recolectaron 101 muestras de las diferentes especies de aves psitácidas presentes en el momento de la investigación, las cuales eran las siguientes: Ara macao (Guacamaya Roja), Amazona autumnalis (Loro cachetes amarillos), Amazona albifrons (Loro de frente Blanca), Amazona farinosa (loro de frente azul) y Pionus senilis (Cotorra Corona Blanca).

La técnica que se utilizó para recolectar la sangre fue por medio de corte de la uña, luego la sangre se colocó en tiras de papel filtro y se dejó secar al aire y se guardó en sobres de papel para procesarlos en el Laboratorio de Patología Aviar de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Para determinar los niveles de anticuerpos circulantes contra Chlamydia psittaci se utilizó la Prueba de ELISA (inmunocomb de los Laboratorios Biogal) de la cual se obtuvieron los siguientes resultados: la especie Amazona autumnalis resultaron 6 aves positivas (5.9%), Amazona albifrons un positivo (0.99%), Amazona farinosa un positivo (0.99%) y las especies que fueron negativas a la prueba fueron Ara macao y Pionus senilis (0%).

Para el análisis de datos se utilizó la prueba de chi cuadrado encontrándose que no hay asociación entre la especie de ave y la presencia de anticuerpos circulantes contra Chlamydia psittaci.

X. SUMMARY

This research was made to determine the presence of circulating antibodies against Chlamydia psittaci in psittacids that were kept in instalaciones del Centro de Rescate y Conservación de Animales Silvestres (ARCAS), in Flores, Petén.

101 samples were collected in different species of psittacids present in at the moment of research, and were the following: Ara macao (Scarlet macao), Amazona autumnalis (Red-Lored Parrot), Amazona albifrons (White-Fronted Parrot), Amazona farinosa (Mealy Parrot) and Pionus senilis (White-Crowned Parrot).

The technic used to collect the blood was through nail cutting, then the collected blood was placed on filter paper strips and air dried and were kept on paper envelopes and then this samples were processed at the Avian Pathology Laboratory of the Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

To determinate circulating antibodies levels against Chlamydia psittaci the ELISA test was used, (Inmunocomb Biogal Laboratories), and obtained the following results: Amazona autumnalis gave 6 positives birds (5.9%), Amazona albifrons one positive (0.99%), Amazona farinosa one positive (0.99%), and the negative species to the test were Ara macao and Pionus senilis (0%).

For the data analyzes the square chi test was used finding that there is not relationship between the bird and the presence of circulating antibodies against Chlamydia psittaci.

XI. BIBLIOGRAFIA.

1. ACHA, P.N. 1977. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington, E.E.U.U., OPS. p. 69-72.
2. ALTMAN, A. et al. 1997. Avian medicine and surgery. E.E.U.U., W.B. Sauder Company. p. 350-352.
3. ANDERSON, W.A.; SCOTTI, T. 1980. Anatomía patológica básica. Trad. por A. Moragas. 9 ed. México, Mosby. p. 174-175.
4. BAINS, B. 1979. A manual of poultry diseases basic. Switzerland, Roche. p. 113-115.
5. BEINHEIM, U.; NAVED, A.; KEREN, E. s.f. Antibody testing for chlamydia psittaci using a rapid ELISA-KIT. Jerusalem. Israel, Koret School of Veterinary Medicine. p.5.
6. ----- et al. s.f. The development of an ELISA-KH for anti body determination in birds including poultry and psittacines. Jerusalén, Israel, Koret School of Veterinary Medicine. The Heebrew University Jerusalén. p. 3.
7. BIENDL, A. 1992. Chlamydia psittaci-diagnostik bei psittaciformes: schnelltests zum antiornpernachweis mittels latex-agglutination bzw. Zumm antigennachweis mittle eines kommerziellen latex testes (Clearvieww Chlamydia). München. Ludwig-Maimilians-Universität München. p. 90
8. BIESTER, H.E.; SCHWARTE, L. 1976. Enfermedades de las aves. Trad. por José Pérez. México, UTHEA. p. 675-770.
9. BIOGAL. GALED LABS. 1995. Parrot: Psittacosis anti body test kit. Israel, Biogal. p. 3.
10. BIRCHARD, S.; SHERDING, R. 1994. Manual clínico de pequeñas especies. México, Graw Hill. p. 1501-1508.
11. CALIFORNIA VETERINARY LABORATORY SERVICE. s.f. Psittacosis a continuin threat. California, E.E.U.U., s n. p. 8-10, 38.



12. CALNEK, B.W. 1995. Enfermedades de las aves. Trad. por Jorge Merigo. México, Manual Moderno. p. 379-397.
13. CAMPBELL, V. 1997. Psittacosis. Virginia, E.E.U.U., p.3.
<http://cockatiels.org/psittacosis.htm>
14. C. PSITTACI infection among birds (avian chlamydiosis). 1998. Virginia. E.E.U.U., Virginia Department of Agriculture. p I. p. 6.
<http://www.cockatiels.org/psittacosis2>.
15. COLES, E. 1989. Diagnóstico y patología en veterinaria. 4 ed. México, Interamericana. p. 483.
16. COMPENDIUM Of psittacosis (chlamydiasis) control. 1999. E.E.U.U., American Veterinary Medical Association. p. 14
<http://199.4420015/aipstacx.htm>
17. DAHLAUSEN, B.; RADABAUGH, S. s.f. Detection of chlamydia psittaci infection in pet birds using molecular based diagnostic assay. Ohio E.E.U.U., Research Associates Laboratory.Inc Mildford. p.12. URL:
angelfire.com/me/kimsaviary/ral2_pl.html.
18. DAVIS, D. et al. 1979. Tratado de microbiología. 2 ed. España, Salvat. p. 938-949.
19. DONN, A. et al. 1997. Serological diagnosis of chlamydial abortum in sheeps and coats: comparison of the complement fixation test and enzyme-linked immunoabsorbent assay. Veterinary Microbiology. (USA). 59:27-36.
20. EPIDEMIOLOGIC Investigations. 1998. Virginia, E.E.U.U. Virginia Department of Agriculture. p. III. p. 6. <http://www.cockatiels.org/psittacosis4.html>
21. FRENCH, R. 1984. A guide to birds of Trinidad y Tobago. USA, University Press. p. 3, 189.
22. FLAMMER, K. 1995. Compendium on psittacosis control. North Carolina State. E.E.U.U., College of Veterinary Medicine North Carolina State University. p. 12. <http://rporter/PARROTS/psittac.html>.



23. ----- 1995. Research update on the ncsu research program treatment of bacterial and fungal infection in psittacine birds. Nort Carolina. E.E.U.U., College Veterinary Medicine North Carolina State University. p.4.
<http://mecca.org/~reporter/PARROTS/ncsu.html>.
24. FREEMAN, R.A. 1984. Tratado de microbiología de Burrow. Trad. por R. Espinoza. 21 ed. Mexico, D.F., Interamericana. p.894-897.
25. FUDGE. A.M. 1996. Avian chlamydiosis. Inross kopfw. And woerped R.W. (eds). Diseases of cages and aviary birds. Baltimore Williams & Wilkings. p.14. Esteves @ conf.org.
26. GERLACH, H. 1994. Chlamydia in ritchie B.W. Harrison G.J. an Harrison LH (eds): Avian Medicine, principles and aplication Lake Worth, Florida winger publishing. Florida, E.E.U.U. , Winger Publishing . p. 984-996.
27. GESTIER, T. s.f. C. psittaci infection among birds (avian chlamydiosis). Virginia. E.E.U.U., Virginia Departament of Agriculture. p. II. p. 6.
<http://www.cockatiels.org/psittacosis.3.html>
28. GORDON, R; JORDAN, F. 1985. Enfermedades de las aves. Trad. por Luis Ocampo. 2 ed. México, D.F., El Manual Moderno. p. 64-68.
29. HARRISON, C.; GREESMITH, A. 1993. Birds of the world. New York, USA, Darling kindersley. p. 416.
30. INMUNOCOMB. Parrot-Psittacosis antiodoti test kit. Instructions – Manual. 1994. Israel, s.n. p.2
31. ISSELBACHER, K. et al. 1994. Harrison principios de medicina interna. 13 ed. España, Interamericana, p. 891-892.
32. JAWETZ, E. et. al. 1970. Manual de microbiología médica. Trad. por Amado González. México, D.F., El Manual Moderno. p. 326-331.
33. JOKLIK, W. et al. 1995. Zinsser microbiología. 20 ed. Argentina, Médica Panamericana. p. 973-985.
34. KEMEMY, D.M. 1991. A practical guide to ELISA. Great Britan, Freat Britain Peramon Press. p. 1-115.
35. KIRK, R. 1994. Terapéutica veterinaria . México, Continental. p. 676-685.



36. LOVBORG, U. 1984. Guide to solid phase immuno assays. A/S Nunc, Roskilde, Denmark. p. 18-25.
37. MERCHANT, I.; PACKER, R. 1980. Bacteriología y virología veterinaria. Trad. por Miguel Cordero. Zaragoza, Acribia. p. 528-537.
38. MORILLA, A. 1986. Manual de inmunología. México, Diana. p. 128-144.
39. MOSQUEDA, A.; LUCIO, B. ; CRUZ, J. S. 1984. Enfermedades de las aves. Enfermedades infecciosas. México, Universidad Nacional Autónoma. p. 118-124.
40. PESEK, L. 1998. Zoonotic diseases: Birds to human transmission chlamydimidiosis (psittacosis, parrot fever), salmonellosis. E.E.U.U., Pet Birds Magazine, ezine. Part I. p. 2.
<http://birdsways.com/wisdom/ww23eiii.htm>
41. PETERSON, R. J.; CHALIF, E. L. 1973. Field guide to mexican birds, Mexico, Guatemala, Belize (British Honduras) and El Salvador. EEUU, Houghton, Mifflin Company Boston. p. 28, 72-78 .
42. PORTER, R. 1997. Compendium of psitacosis (Chlamidiosis). s.l. Control ational Association of State Public Health Veterinarians Inc.
Tomado de Internet: Esteves@conf.org
43. REPORTS FROM the symposium on avian chlamydiosis. 1989. American Medical Association. 195:1501-76.
Tomado de Internet: Esteves@conf.org
44. RIDGELY, R. ; GWYNE, J. 1989. Aguide to the birds of Panama whith Costa Rica , Nicaragua and Honduras. Londres, Princeton University Press. p. 171-180.
45. RUPPANNER, R. *et al.* 1983. Enzyme immunoassay of chlamydia in birds. Avian Diseases. (E.E.U.U.). 28(3):608-614.
46. RYLL, M. *et al.* 1993. Comparative investigations employing two different chlamidia psittaci-antibody detections systems in psittacides suspicious for psittacosis. Jerusalem, Clinic for Poultry, Hannover School for Veterinary Medicine . p. 6. a



47. SCHILLER, I. et al. 1997. Mixed infections with porcine chlamydia trachomatis/peccorum and infections with ruminant chlamydia psittaci serovar 1 associated with abortions in swine. Veterinary Microbiologic.(USA) 58:251-260.

48. SHWARTZ, L. D. 1979. Manual de sanidad avícola. Trad. por Julio Colón México, UTHEA. p.40-41.

49. SMITHE, F. 1966. Las aves de Tikal. Trad. por Graciela de la Cerda. Guatemala Litrografia Zadik, p. 376.

50. STILES, G.; SKUTCH, A. 1984 . A guide to the birds of Costa Rica. USA, Comstock Publishing Associates a Division of Cornell University Press. p. 176-183.

51. STODARD, H. L. s. f. Understanding psittacosis. P.4.
<http://www.multiscope.com/hostpot/Psittacosis.htm>.

52. SYMPOSIUM ON AVIAN MEDICINE . 1995. Westboro, Massachusetts. 1995. Carin for pet birds skin and feathers dull plumaje, bleeding feathers, swollen, strange lesions and feather loss-how do you decipher such range of presenting sing and find a cure This article will help you interpret the sings and treat the underlying cause. Ed. por Willard J. Gould. Massachusetts, s.n. p .53-63.

53. TAKASHI, T.; TAKASHIMA, I; HASHIMOTO, N. 1988. Shedding and transmission of chlamydia psittaci in experimentally infected chickens. Avian Diseases. (E.E.U.U.). 32: 650-657.

54. TIZARD, Y. 1986. Inmunología veterinaria. Trad. por Roberto Folch, 2 ed. México, Interamericana. p. 143.

55. TULLY, T. 1998. Chamydia psittaci (parrot fever) infection in companion birds. Lousiana. E.E.U.U., Lousiana State University School of Veterinary Medicne. P 6. URL: [angel fire.com/me/kinsaviary/ral2_pl.html](http://angel.fire.com/me/kinsaviary/ral2_pl.html)



XII. ANEXOS

ANEXO 1

FICHA DE CONTROL

"TESIS PSITACOSIS"

No. Protocolo _____

Datos Generales

Fecha: _____

Origen: _____

Dirección: _____ Tel. _____

Fecha de recibo
de la muestra: _____

Numero de muestras
recibidas: _____

Variedad: _____

Edad: _____

No. de aves lote: _____

Lectura ELISA: _____

Prueba de inmunocomb

Fecha de procesamiento
de la muestra _____

No. de muestras
procesadas _____

Resultados: _____

Observaciones: _____

ANEXO 2

CUADRO 1

Distribución por especies de aves rectoras a la prueba de ELISA (Inmunocomb) para determinar la presencia de anticuerpos circulantes contra C. psittaci en ARCAS, municipio de Flores, Petén en el periodo del 30 de septiembre al 1 de oct de 1998.

Especie	Prueba de ELISA				Total	% de aves
	Positivos	%	Negativos	%		
<u>Amazona autumnalis</u>	6	5.9	40	39.6	46	45.5
<u>Amazona albifrons</u>	1	0.99	18	17.8	19	18.81
<u>Amazona farinosa</u>	1	0.99	12	11.88	13	12.97
<u>Ara macao</u>	0	0	21	20.8	21	20.8
<u>Pionus senilis</u>	0	0	2	1.98	2	1.98
Total	8	7.88	93	92.06	101	100

Total de reactivos positivos

8

Numero de animales muestreados

101

chi cuadrado (χ^2) = 2.15

χ^2 calculado = 2.15

χ^2 con 95% tabla = 9.45

Se acepta la hipótesis nula.

Grafica 1
Distribución de las especies psitácidas muestreadas en el periodo de 30
sep al 1 oct de 1998, en ARCAS, municipio de Flores, Petén.

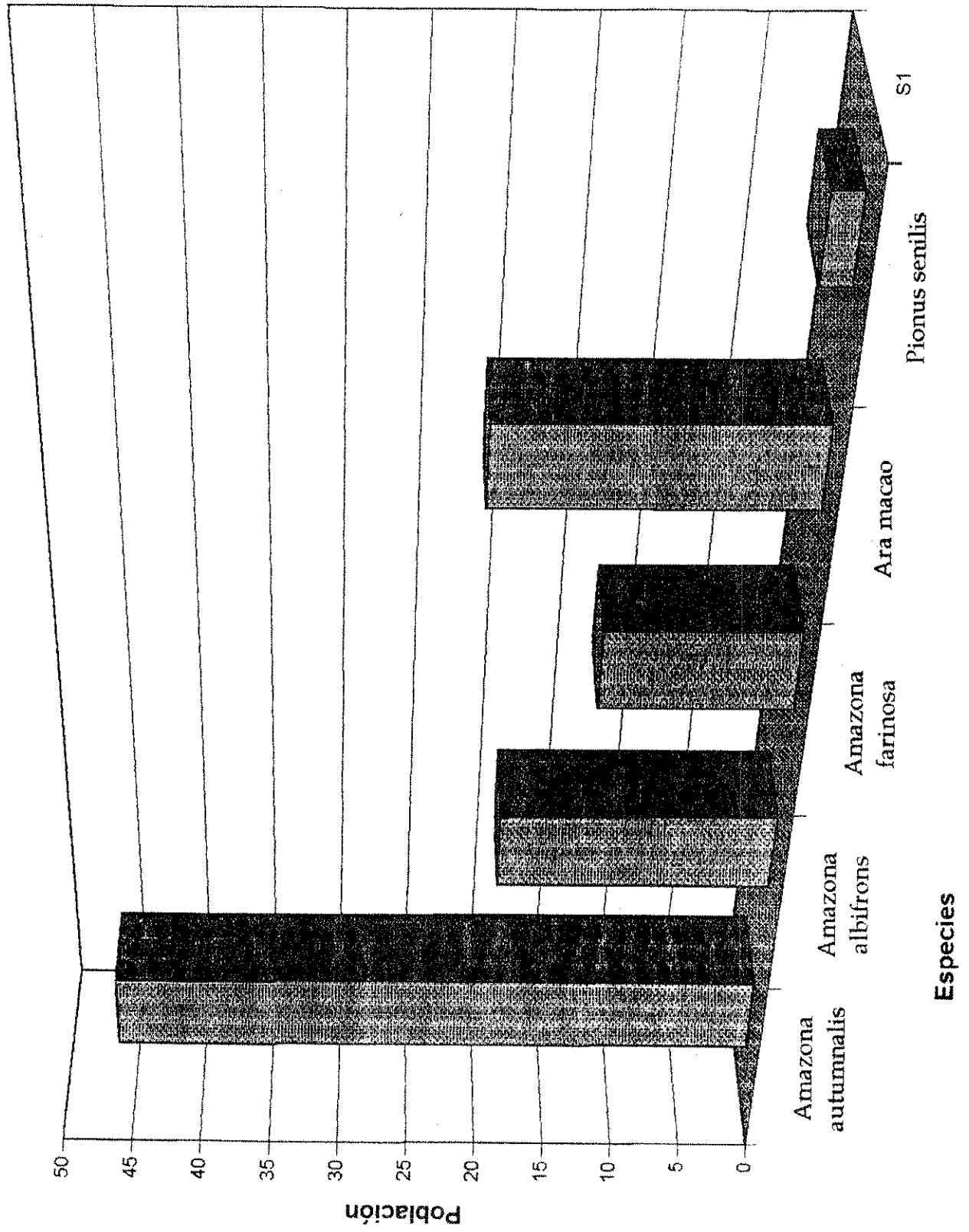
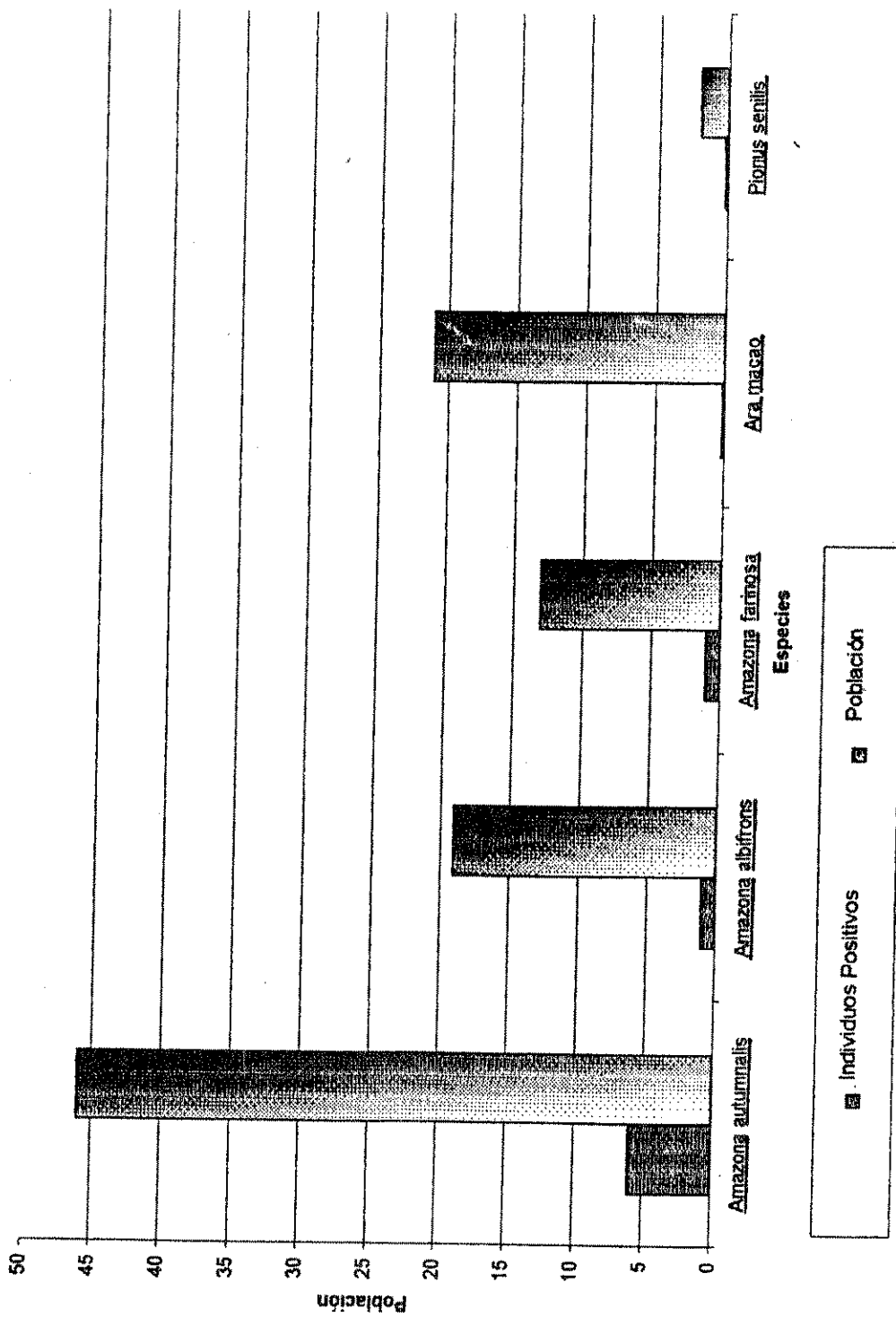


Grafico 2

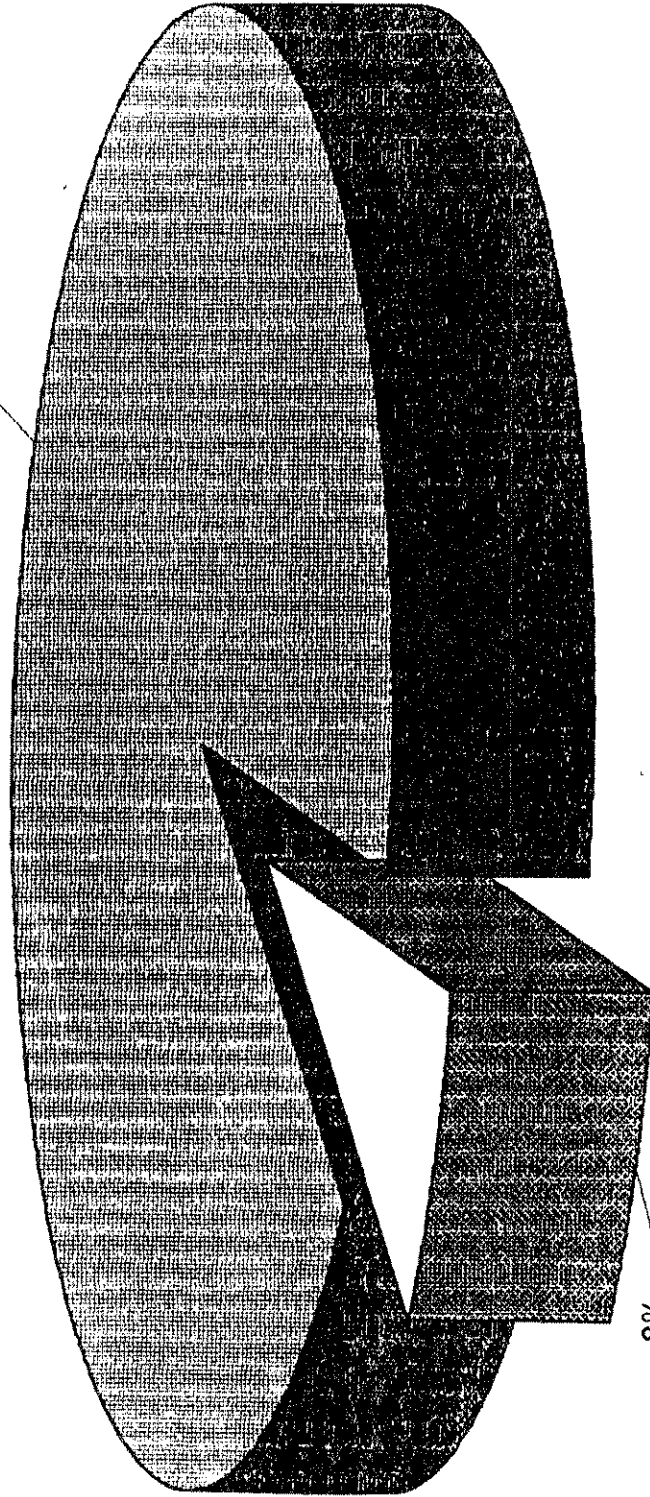
Relación de Aves Positivas y negativas a la presencia de anticuerpos circulantes utilizando la prueba de ELISA, en el periodo del 30 sep-1 oct de 1998, 3n el municipio de Flores, Peten



Grafica 3

Porcentaje de los resultados positivos y negativos a la presencia de anticuerpos circulantes a *C. psittaci* utilizando la prueba de ELISA, en el periodo de del 30 sep-1oct de 1998, en ARCAS, municipio de Flores, Petén.

92% Negativos

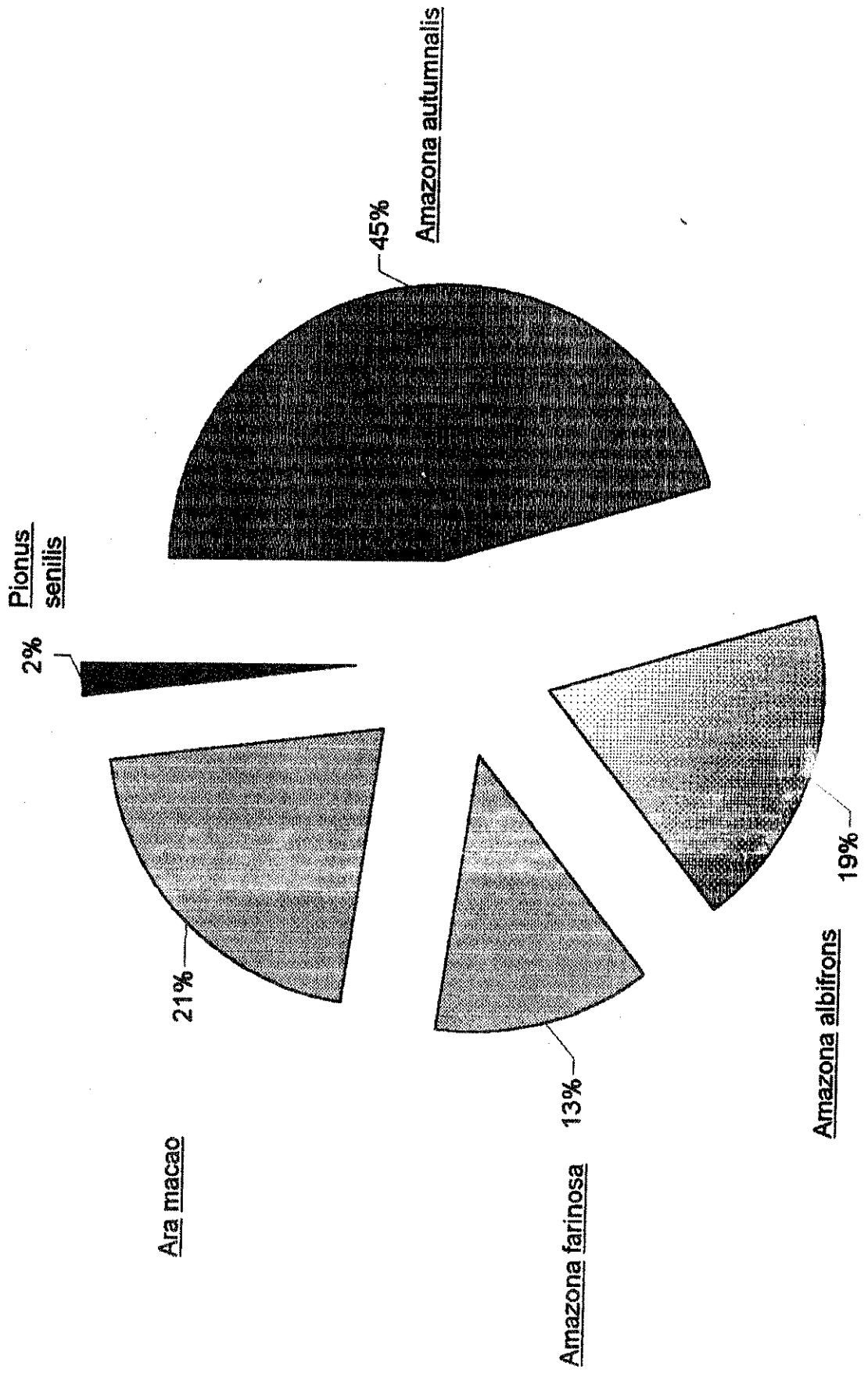


8%

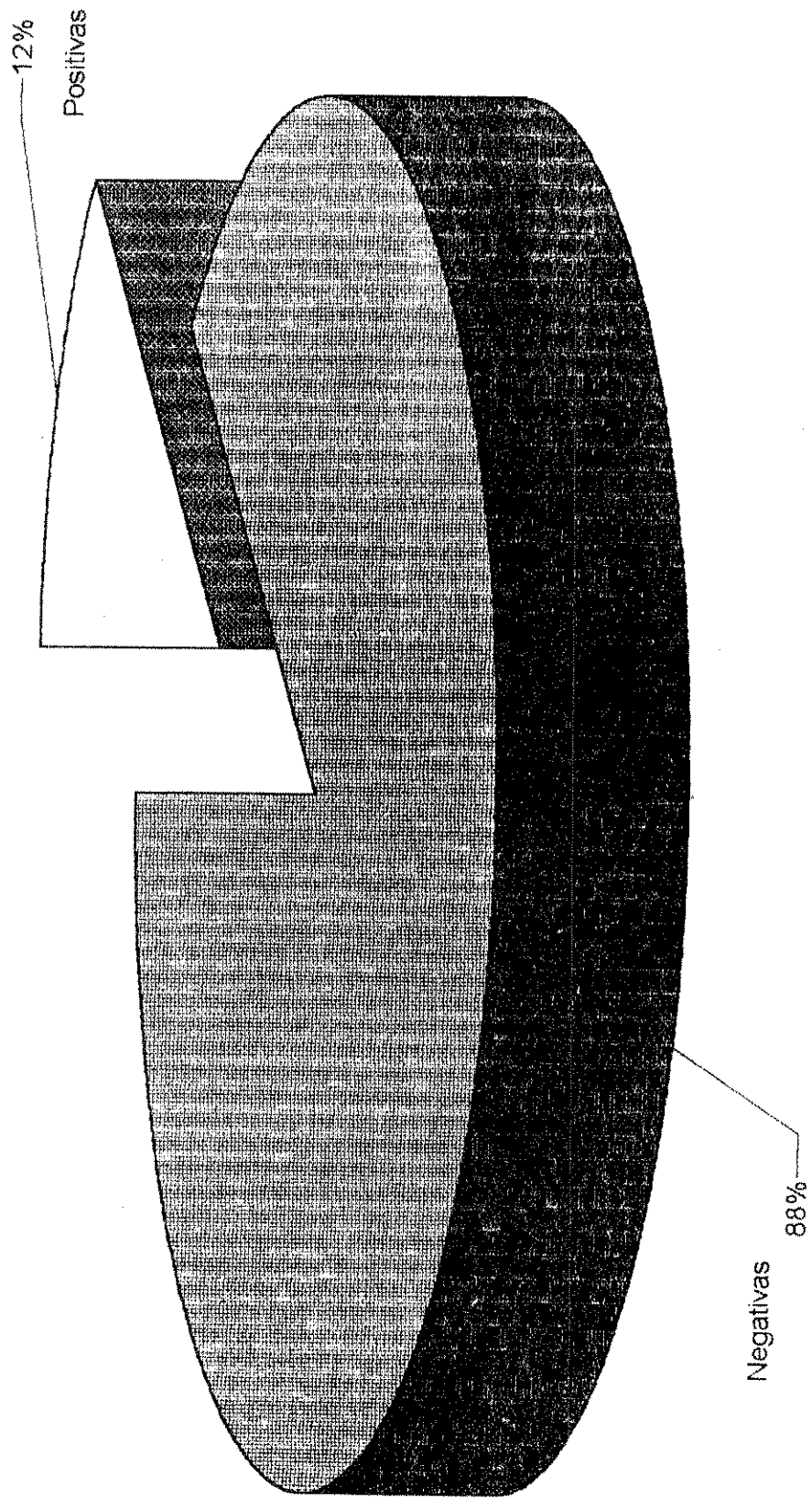
Positivos

Grafico 4

Porcentaje de la población por especies que fueron evaluadas en el presente trabajo de investigación

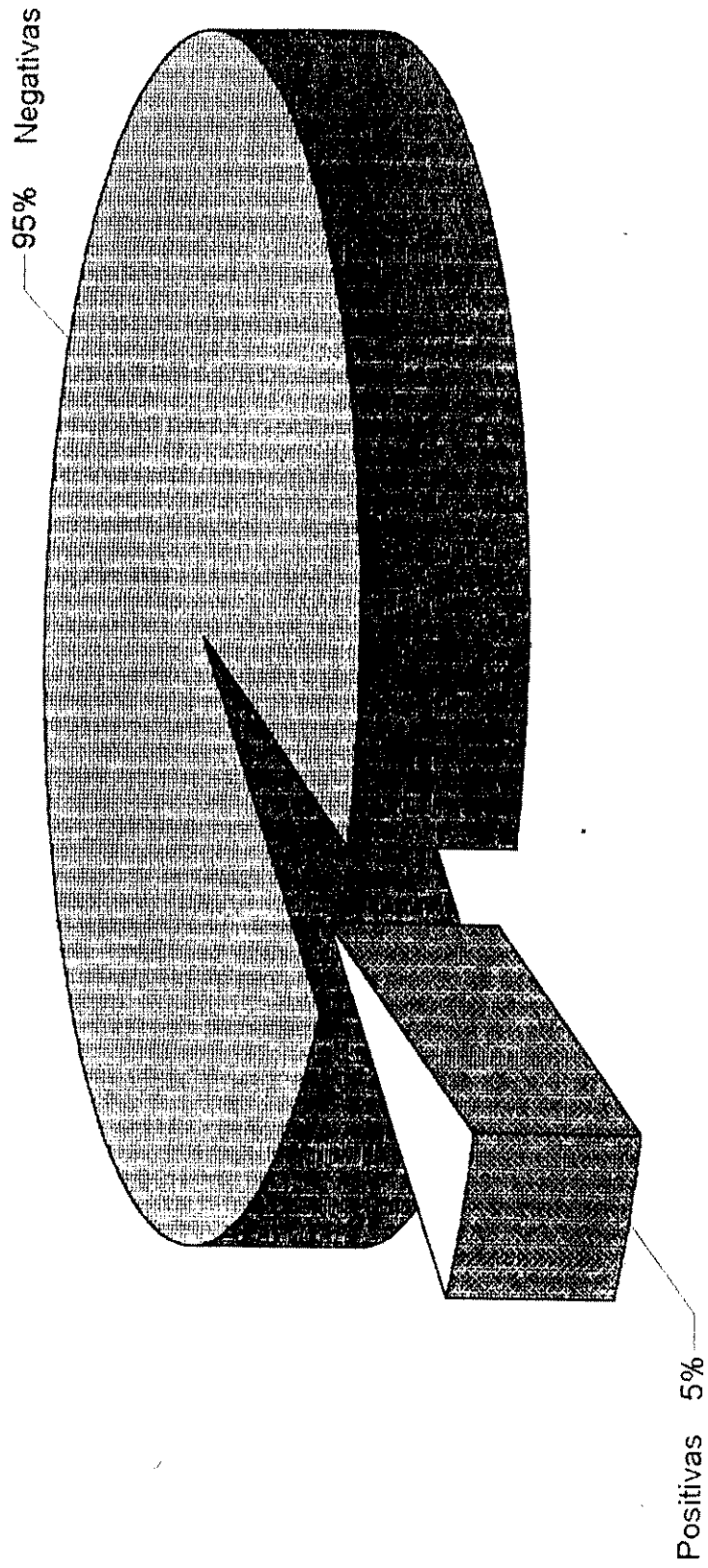


Grafica 5
Porcentaje de aves psitácidas de la especie Amazona autumnalis positivas a la presencia de anticuerpos circulantes contra C. psittaci, en el periodo de 30 sep- 1 de oct de 1998, en ARCAS, municipio de Flores, Petén.



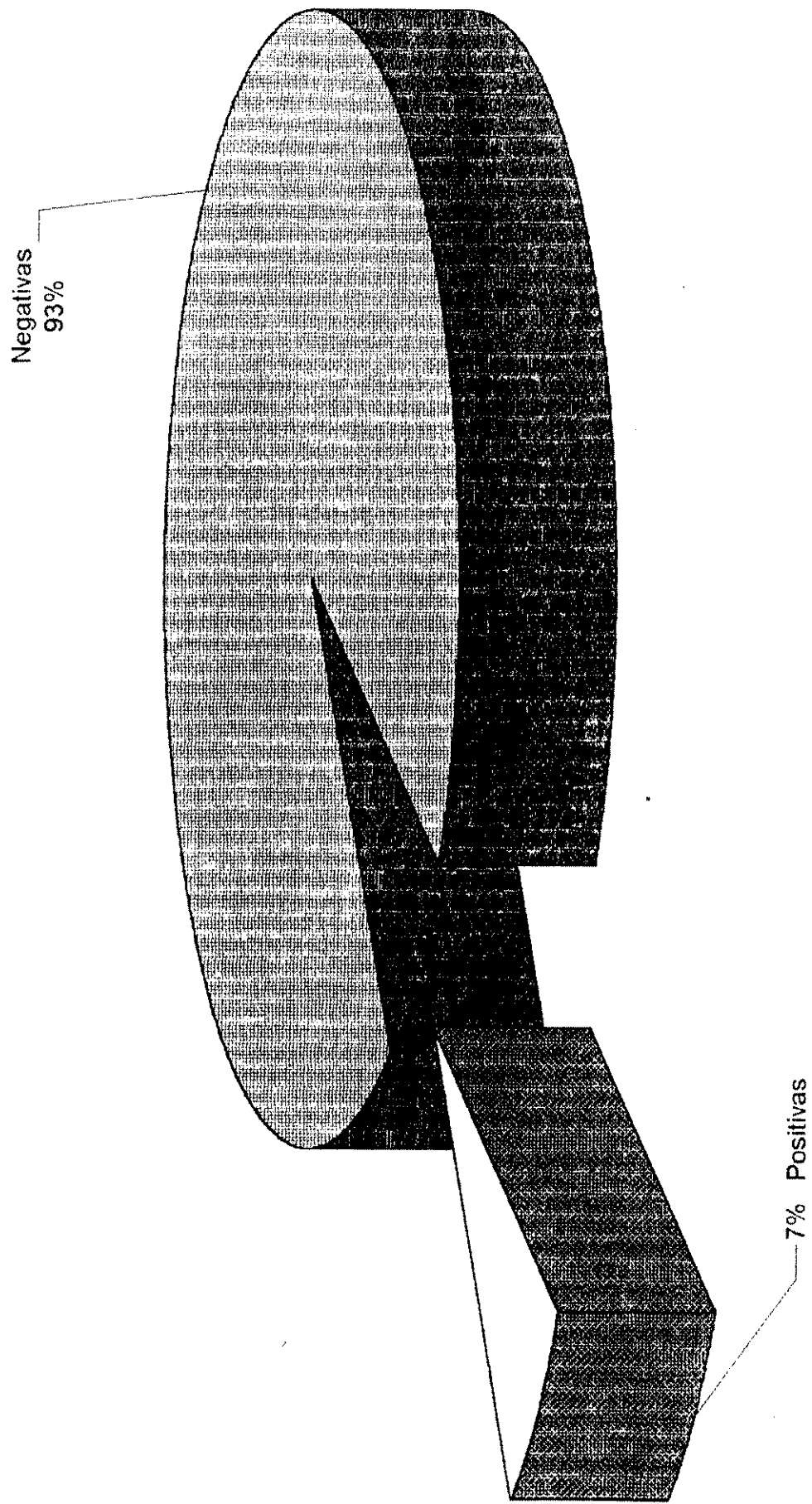
Grafica 6

Porcentaje de aves psitácidas de la especie Amazona albifrons positivas y negativas la presencia de anticuerpos circulantes contra C. psittaci, en el periodo de 30 de sep- 1 oct. de 1998, en ARCAS, municipio de Flores, Petén



Grafica 7

Porcentaje de la población de la especie Amazona farinosa farinosa positivas y negativas a la presencia de anticuerpos circulantes contra C. psittaci, en el periodo del 30 de sep- 1 oct de 1998, municipio de Flores, Petén.



XIII. APENDICES

APENDICE 1

DESCRIPCION MORFOLOGICA DE LAS ESPECIES MUESTREADAS

Loro de Frente Blanca (Amazona albifrons):

Mide 10 pulgadas y pesa unos 215 gramos.

No común, este loro se reproduce en Uaxactún (Van Tyne, 1935). Posiblemente sea el loro más común de lo que actualmente se piensa pero ha sido difícil de localizar encontrándose más en el campo abierto de árboles más espaciados. Por su frente blanca se extiende hasta la corona azul fuerte con lorum rojo y un parche rojo brillante en las alas (marca que no ostentan las hembras), debería ser conspicuo y fácil de ver. El resto de su cuerpo, es decir, la cabeza, la cara y el cuello, las partes inferiores y las superiores son de color verde brillante con tinte amarillo, pero las alas primarias son azules. Tiene pico amarillo, la cera amarilla pálida, los ojos también amarillos pero más claros, la piel desnuda gris y las patas amarillo verdoso. Su voz es áspera, puede oírse como un ca ca ca o un semialarido jak jak jak, muy diferente de los gritos de otros loros (12, 31, 33, 34, 38, 39).

Loro de Cachetes Amarillos (Amazona autumnalis autumnalis): También llamado cariamarillo, mide de 12 a 13 pulgadas y pesa de 300 a 450 gramos.

Bastante común en la selva y en los árboles que la rodean, este loro grande varía bastante en su peso; pasando algunos de sus ejemplares de los 450 gramos. El área rojo brillante del lorum se extiende sobre la frente (reducida en los inmaduros). Los carrillos son amarillo cromo y tienen una marca muy conspicua (no aparente en los inmaduros que tienen carrillos verdes). La corona es lila y las partes superiores son totalmente verdes claro, las inferiores son amarillo verdusco. Las plumas primarias de las alas son azules con manchas rojas en las secundarias. La parte superior del pico es amarillo, la inferior negro, la cera amarilla, los ojos amarillo-naranja rodeados de piel desnuda amarillenta y patas grises. Es bastante ruidoso cuando se alimenta parece alegrar o gruñir. Cuando vuela, tiene muchas llamadas diferentes, una consiste en una nota corta kiak-kiak-r, kiak, etc. Otra sueña como joik-joik, etc. Todas enunciadas rápidamente, anidan en agujeros de árboles (12, 31, 33, 34, 38, 39).

Loro Cabeza Azul (Amazona farinosa guatemalae):

Mide 14.5 pulgadas y pesa 600 gramos.

El más común de los loros de Tikal después del Pionus senilis, el cabeza azul abunda más en la región húmeda de la selva densa en donde se le encuentra cerca de los claros, caminos y veredas y donde quiera que hayan árboles con frutos. Es bastante conspicuo debido a la algarabía que hace en

las arboledas en donde platica bastante, y también por su llamado muy característico que emite al volar una frase de tres sílabas Ta kak yil recio y claro. También conversa en el idioma típico de los loros, termina con áspero Chok-chok.

El plumaje de este loro es más grande de los de Tikal, es casi totalmente verde opaco, más claro y de tonalidad más fuerte en los carrillos y partes inferiores. La corona y la nuca son azul pálido. Las plumas y las alas son azules y las secundarias tienen una mancha roja. El pico es negro y color marfil en la parte superior, gris en la inferior. La cera amarilla es muy pequeña. Los ojos rojo-naranja rodeados de piel desnuda blanco amarillenta. Tienen las patas amarillo verdusco sucio. Es de actividad diurna, esta en pareja, en pequeños grupos de 4 a 6 individuos, que vuelan de sus sitios donde duermen en busca de alimento. Se alimentan de frutas y semillas (12, 31, 33, 34, 38, 39).

Cotorra de Corona Blanca (Pionus senilis senilis):

Mide 9 pulgadas y pesa 200 gramos.

Residente común, está cotorra y el loro frente blanca (Amazona albifrons), fueron los únicos ejemplares que se encontraron aquí con blanco en la cabeza. Se le ve año tras año, sin embargo Van Tine (1935), no la anotó entre las aves Uaxactún. Es el loro más obscuro y más azul del área, con el

pecho, la cabeza y el cuello azul fuerte, haciendo contraste con la frente blanca, la corona blanca, la barbilla y la parte superior de la garganta también blancos. Tiene las alas verde oscuro con mucho azul en las plumas de vuelo y café bronceado en las cobertoras de las alas. El dorso también lo tiene verde oscuro. Las únicas plumas verde fuerte son las de la rabadilla y de las cobertoras de la cola. Las plumas exteriores de la cola son azules y algo rojo también luce en las plumas cobertoras de abajo. El pico es amarillo verdoso, las patas color naranja, los ojos café rodeados de piel desnuda naranja fuerte.

Generalmente, permanecen silenciosas al trepar deliberada y cuidadosamente por los árboles, pero gritan ruidosamente al volar. Anidan en agujeros de los árboles y ponen huevos totalmente blancos (12, 29, 31, 33, 34, 38, 39).

Guacamaya Roja (Ara macao):

Mide 36 pulgadas y pesa 1150 gramos. Esta vistosa ave no se encuentra en Tikal ni en Uaxactún. Posiblemente en un tiempo las Guacamayas fueron tan comunes aquí como en la selva más abierta de las riberas del lago, la sabana y el río La Pasión que queda a una distancia de solamente 25 a 50 millas del sur.

En estos loros, los más grandes de Petén la cola es de casi 20 pulgadas de largo, color rojo brillante representa casi las dos terceras partes de su

tamaño. Son de colorido muy brillante en tonos de rojo, escarlata, bermellón, amarillo fuerte y azul la piel desnuda de la cara y la parte superior del pico, son blanco rosado, el pico inferior negro, las patas gris oscuro y los ojos amarillo claro.

Su grito es áspero y estridente, ponen un solo huevo totalmente blanco y anida en agujeros de los árboles.

Son de actividad diurna regularmente vuelan en parejas pero a veces lo hacen en grupos y su vocalización es escandalosa.

Se alimentan de bayas, nueces, semillas y fruta. No presentan dimorfismo sexual (12, 31, 33, 34, 38, 39).

APENDICE 2

METODOS DE RECOLECCION DE SANGRE EN AVES

El volumen de sangre total en aves varía de 6 a 12ml/100ml de peso corporal (aproximadamente 10%) de peso corporal.

En vista del rápido restablecimiento del volumen sanguíneo total, se puede extraer del 20 a 30% del volumen total sin causar demasiado daño al paciente aunque esa cantidad no suele necesitarse.

Las aves sanas tienen mejor capacidad para tolerar pérdida de sangre que aves enfermas o sometidos a estrés; en aves enfermas el volumen sanguíneo que se extrae debe ser menor del 20%.

Equipo que se necesita:

Equipo de microrrecolección.

Una jeringa de tuberculina

Usar una aguja de pared delgada. Becton Dicson IM . Hacer una punción calibre 23 pero con una luz calibre 21. Introducir la aguja en una vena apropiada de sangre, se recolecta y se deja que fluya desde el cubo de la aguja directamente en los tubos del microhematocrito en los tubos de microrrecolección Nattleson o tubos de microtainer con EDTA, simplifica la toma de muestra.

Para extraer sangre de una vena es mejor que fluya a través de la aguja, que sacarla con una jeringa dando mínimos problemas de hemorragia.(15).

Sitios de recolección de sangre:

Vena metatarsiana interna:

Esta vena se encuentra en la parte inferior, por arriba de la articulación tarsal sobre la cara interna del tibiotarso enfrente del tendón de Aquiles, la formación de hematoma es mínima porque la vena esta rodeada de músculos de la pata.

Se introduce una aguja calibre 21 a 25 en la vena y con una jeringa heparinizada o en tubos de microrrecolección colocada en el cubo de la aguja (15).

Vena alar:

La vena humeral o cubital cutánea (vena alar) cruza la superficie ventral de la articulación humeral radial cubital (codo) directamente debajo de la piel.

Se introduce una aguja calibre 21 a 25 se recolecta con una jeringa heparinizada solo en aves grandes (15).

Vena yugular

Se usa la vena yugular derecha porque muchas aves no tienen la vena yugular izquierda o es muy pequeña.

Las plumas se deben humedecer y se debe usar una aguja calibre 21 a 25 para penetrar en la vena yugular.

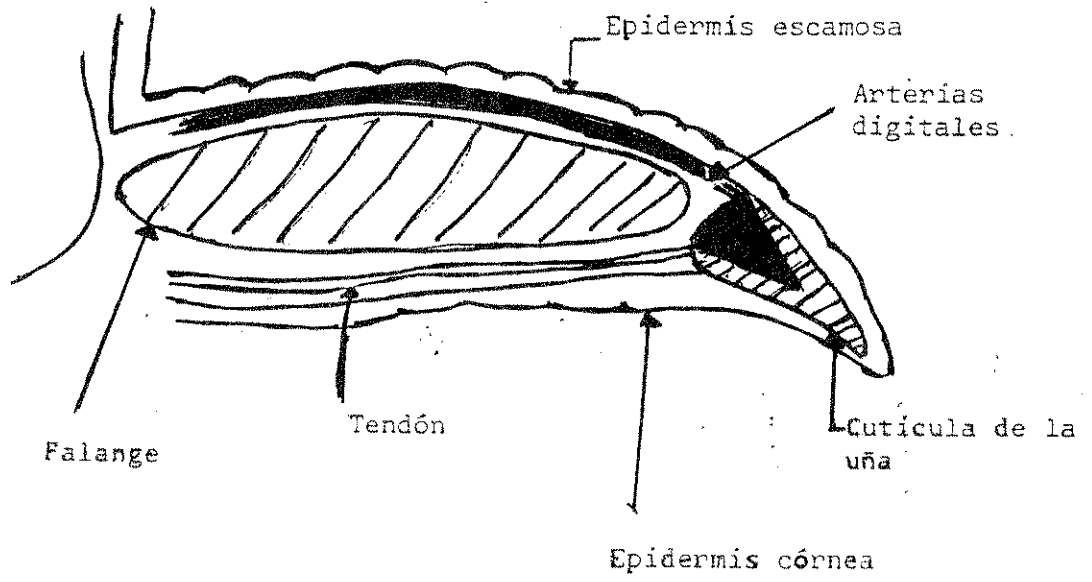
La sangre se recolecta en una jeringa por el gran volumen y flujo de sangre con frecuencia se forma hematoma porque la vena es móvil y hay gran espacio subcutáneo en este sitio (15).

Corte de uña:

Se levanta una uña para la obtención de sangre. La uña se limpia y se corta hacia la carne viva lo que permitirá que la sangre fluya libremente (15).

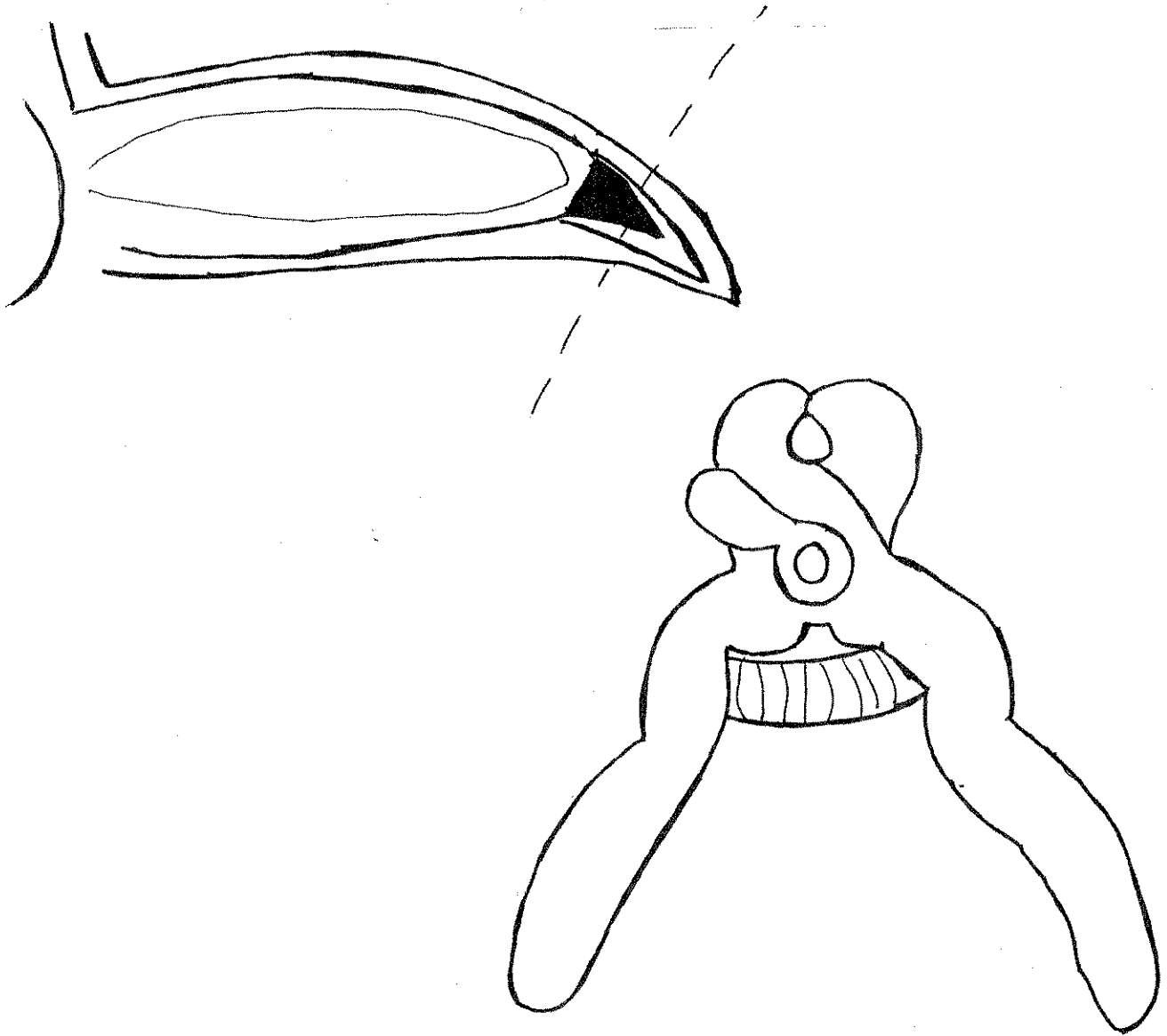
APENDICE 3

ESQUEMA DE ESTRUCTURAS DE LA UÑA



APENDICE 4

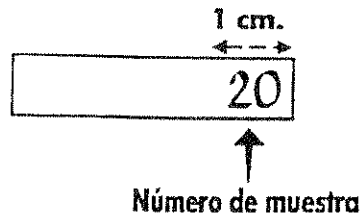
ESQUEMA DEL CORTE DE UÑA EN UN AVE PSITACIDA



APENDICE 5

TOMA DE MUESTRA EN PAPEL FILTRO

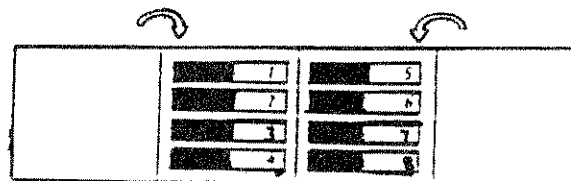
Identifique las tiras de papel filtro abarcando 1 cm. del extremo .



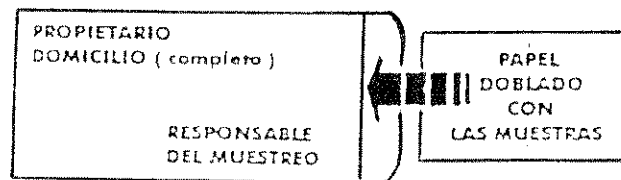
Secar la tira al aire.



Colocar las muestras sobre un papel que se doblará para que queden separadas.



Introducir en un sobre el papel con las muestras indicando claramente :

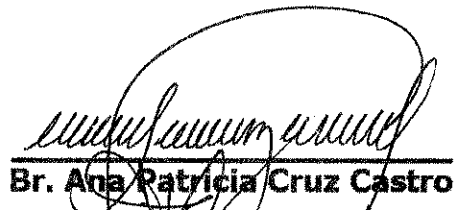


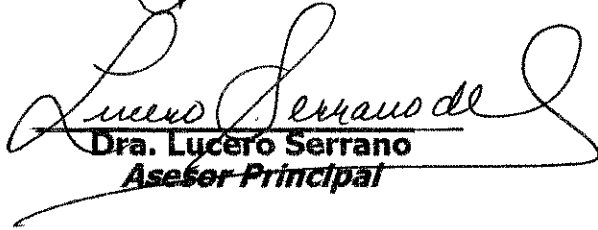
APENDICE 6

Solución PBS (Phosphatae buffered saline).

NaCl		8.0 gramos
KCl		0.2 gramos
Na ₂ HPO ₄		1.15 gramos
Na ₂ HPO ₄	X	1.44 gramos
2H ₂ O		
Na ₂ HPO ₄	X	2,9049 gramos
12H ₂ O		
NH ₂ PO ₄		0.2 gramos

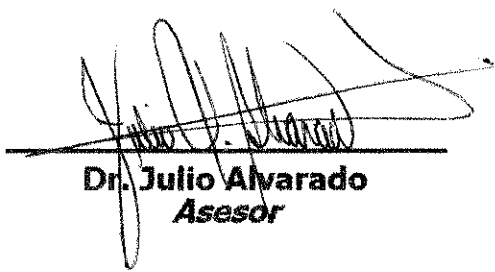
Preparar cantidad suficiente para 3,000 ml de solución PBS a pH 7.4.

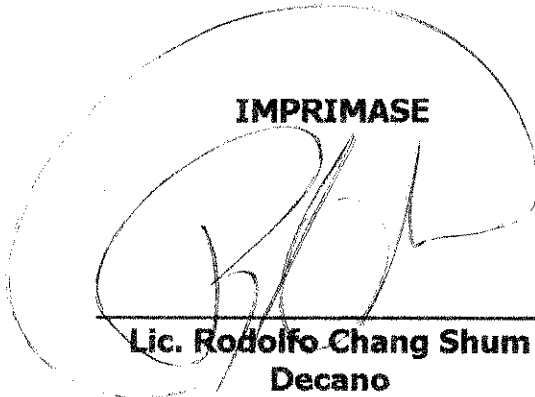

Br. Ana Patricia Cruz Castro


Dra. Lucero Serrano
Asesor Principal


Dra. Constelmo Beatriz Santizo
Asesora


Dr. Jaime Rolando Méndez
Asesor


Dr. Julio Alvarado
Asesor

IMPRIMASE

Lic. Rodolfo Chang Shum
Decano

