



Dirección de Gestión de  
la Investigación (DGI)

*“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”*

## CONSTANCIA DE ANTIPLAGIO Nº 0776-DGI-UNAP-2023

EL QUE SUSCRIBE, DIRECTOR DE GESTIÓN DE LA INVESTIGACIÓN DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA:

HACE CONSTAR QUE;

La tesis titulada: “HEMOPARÁSITOS EN AVES DE ZONAS URBANAS Y PERIURBANAS DE LA CIUDAD DE IQUITOS Y NAUTA, LORETO - PERÚ”, presentado por:

Tesistas: **XIOMARA ALMENDRA VALDIVIA ZAVALETA**  
**MITCHELL JENNIFER RAMÍREZ TELLO**

Asesores: Carmen Teresa Reátegui de Kahn  
Alfonso Marzal Reynolds  
Natalia Casandra Piland Chicchón

Pertenecientes a la Escuela Profesional de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Biológicas, fue analizado mediante el software Turnitin Originality, donde obtuvo el **18%** de similitud.

Asimismo, debo indicarle que, antes de la publicación final de la tesis, queda bajo responsabilidad funcional de los asesores y las tesistas disminuir al mínimo las similitudes encontradas evitando el plagio.

Se expide la presente a las interesadas, para los fines que estime conveniente.

Iquitos, 06 de noviembre de 2023.

**RAFAEL SEGUNDO VELA PAREDES**  
Director de Gestión de la Investigación-UNAP



NOMBRE DEL TRABAJO

**FCB\_TESIS\_VALDIVIA ZAVALETA\_RAMI  
REZ TELLO.pdf**

AUTOR

**VALDIVIA ZAVALETA / RAMIREZ TELLO**

RECUENTO DE PALABRAS

**13323 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**70255 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**65 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**927.4KB**

FECHA DE ENTREGA

**Nov 6, 2023 10:20 AM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Nov 6, 2023 10:20 AM GMT-5****● 18% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 18% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 6% Base de datos de trabajos entregados
- 3% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

**● Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

## 18 RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar los hemoparásitos en aves de zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta, con la finalidad de dar un primer diagnóstico de la situación parasitaria aviar en *Ammodramus aurifrons*, *Cacicus cela*, *Thraupis episcopus* y *Troglodytes aedon*. La población estuvo constituida por cuatro especies de aves de zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta, estableciéndose una muestra de 240 ejemplares capturadas, siendo 74 de *A. aurifrons*, 39 de *C. cela*, 95 de *T. episcopus* y 32 de *T. aedon*. Para la captura de las aves se usaron redes de neblina. Se tomaron muestras sanguíneas para posteriormente analizarlas por microscopía convencional y reacción en cadena de polimerasa (PCR). Los hemoparásitos fueron *Plasmodium* spp., *Haemoproteus* spp., *Plasmodium/Haemoproteus*, *Leucocytozoon* sp. y microfilarias no identificadas. El índice de prevalencia encontrado fue bajo, el 25% (60/240) de aves resultaron con diagnóstico positivo por microscopía y PCR. *Plasmodium* spp. (11.66%) registró la mayor prevalencia, seguido de *Plasmodium/Haemoproteus* (11.25%), *Haemoproteus* spp. (3.33%), microfilarias (2.5%) y *Leucocytozoon* sp. (1.5%). Las especies de aves más infectadas fueron *Cacicus cela* (43.59%) y *Ammodramus aurifrons* (40.54%). Referente al índice de similitud, se encontró diferencia en hemoparásitos de aves de zona urbana y periurbana en Iquitos, siendo *Plasmodium* spp. y *Plasmodium/Haemoproteus* los más prevalentes en zona periurbana; mientras que en Nauta no hubo diferencia en aves de zona urbana y periurbana, estando presentes estos hemoparásitos en ambas zonas de estudio. Se concluye que los hemoparásitos aviares registrados son diferentes en las zonas urbanas y

periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta. Se reportó por primera vez a *Leucocytozoon* sp. en aves del departamento de Loreto.

**Palabras claves:** Aves, hemoparásitos, periurbano, prevalencia, similitud, urbano.

## 18 ABSTRACT

The objective of this research was to determine the hemoparasites in birds of urban and periurban areas of the cities of Iquitos and Nauta, in order to make an initial diagnosis of the avian parasitic situation in *Ammodramus aurifrons*, *Cacicus cela*, *Thraupis episcopus* and *Troglodytes aedon*. The population consisted of these four species of birds from urban and peri-urban areas of the cities of Iquitos and Nauta, establishing a sample of 240 specimens captured, 74 of *A. aurifrons*, 39 of *C. cela*, 95 of *T. episcopus* and 32 of *T. aedon*. Mist nets were used to capture the birds. Blood samples were taken for subsequent analysis by conventional microscopy and polymerase chain reaction (PCR). The hemoparasites were *Plasmodium* spp., *Haemoproteus* spp., *Plasmodium/Haemoproteus*, *Leucocytozoon* sp. and unidentified microfilariae. The prevalence indice found was low, 25% (60/240) of birds were positive for hemoparasites by microscopy and PCR. *Plasmodium* spp. (11.66%) had the highest prevalence, followed by *Plasmodium/Haemoproteus* (11.25%), *Haemoproteus* spp. (3.33%), microfilariae (2.5%) and *Leucocytozoon* sp. (1.5%). The most infected bird species were *C. cela* (43.59%) and *A. aurifrons* (40.54%). Regarding similarity indice, differences were found between hemoparasites in birds from urban versus peri-urban areas in Iquitos, with *Plasmodium* spp. and *Plasmodium/Haemoproteus* being the most present in peri-urban areas; while in Nauta there was no difference in birds from urban and peri-urban areas, with these hemoparasites being present in both study areas. It is concluded that the avian hemoparasites recorded differ across urban and peri-urban areas of the cities of Iquitos and Nauta. *Leucocytotozoon* sp. was reported for the first time in birds in the department of Loreto.

**Key words:** Birds, hemoparasites, periurban, prevalence, similarity, urban.

## INTRODUCCIÓN

Las aves están en contacto con los humanos de distintas maneras; de hecho, se encuentran entre los pocos animales verdaderamente silvestres que comparten nuestras actividades cotidianas<sup>(1)</sup>. Cabe señalar el desarrollo de un creciente interés en investigar los efectos de las enfermedades parasitarias en poblaciones de aves, debido a que no están ajenas a infectarse por una considerable diversidad de parásitos<sup>(1)</sup><sup>(2)</sup> y más aún porque son un grupo que cumplen servicios vitales para el buen funcionamiento de los ecosistemas y el bienestar social de la población humana<sup>(3)</sup>.

Un notable ejemplo en el campo parasitario son los hemoparásitos. Estos organismos usan la sangre de su hospedero a modo de crecimiento y reproducción; aunque dependiendo el tipo pueden encontrarse en el plasma, o incluso en eritrocitos y leucocitos<sup>(4)</sup>. Entre los parásitos sanguíneos descritos en distintas especies de aves se incluyen a nemátodos como microfilarias o flagelados como *Trypanosoma*<sup>(4)</sup><sup>(5)</sup>. Además, las aves están frecuentemente infectadas por haemosporidios de los géneros <sup>1</sup>*Plasmodium*, *Haemoproteus* y *Leucocytozoon*<sup>(6)</sup>; estos últimos son protozoarios causantes de la malaria aviar e incluso están relacionados filogenéticamente con el parásito de la malaria humana. Al igual que en el ser humano, dichos parásitos ocasionan daño fisiológico en las aves; desde consecuencias en la capacidad de reproducción, hasta pérdida de masa corporal, afectando la condición individual y reduciendo la supervivencia<sup>(7)</sup>.

La modificación de hábitats silvestres viene siendo un problema mundial a causa de la urbanización, donde las actividades humanas muchas veces ocasionan un impacto negativo provocando daños ambientales que pueden ocasionar la extinción

de poblaciones de seres vivos<sup>(8)</sup>. Al mismo tiempo, la urbanización ha producido un aumento progresivo de la deforestación de los bosques permitiendo el ingreso de especies invasoras y los cambios en el uso del suelo. Dichos eventos contribuyen a la emergencia y proliferación de enfermedades infecciosas de la fauna silvestre, ya que intensifica el contacto entre vectores, hospederos y patógenos<sup>(9)(10)</sup>.

Hasta la fecha, se realizaron investigaciones en parásitos sanguíneos de la avifauna en diversas regiones del mundo<sup>(11)</sup>, basados en la identificación de hemoparásitos por microscopía tradicional y metodologías moleculares<sup>(12)</sup>. Por ejemplo, el 2006 en Colombia, registraron el 24% de prevalencia general de hemosporidios<sup>(13)</sup>; el 2012 en Brasil, reportaron 45.6% de prevalencia<sup>(10)</sup>, mientras que el 2016 en Venezuela, obtuvieron el 16.94%<sup>(14)</sup>. En nuestro país, se reportaron prevalencias de hemoparásitos en ciudades como Huánuco (34.6%)<sup>(15)</sup>, Madre de Dios (10%)<sup>(16)</sup> y Lima (24.82%)<sup>(17)</sup>.

En el departamento de Loreto, Perú, los estudios en hemoparásitos son limitados. Por ejemplo, en el 2016, en la Reserva Nacional Allpahuayo Mishana, se reportaron una prevalencia de 16.25%<sup>(18)</sup>, mientras que en la especie *Cacicus cela* se registró 85.1% de prevalencia en cuatro zonas de la carretera Iquitos, Nauta<sup>(19)</sup>.

A pesar de la enorme diversidad ornitológica que alberga la selva peruana, pocas investigaciones se han centrado en el campo de los hemoparásitos aviares. Es más, los trabajos publicados hasta ahora han reportado la presencia de parásitos sanguíneos en aves de entornos naturales, existiendo también aves que habitan entornos urbanos y periurbanos donde no se hicieron estos estudios. Por consiguiente, el objetivo general del presente estudio fue determinar hemoparásitos

en aves de zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta, con el propósito de proporcionar información sobre hemoparásitos que afectan a aves en estas ciudades estableciéndose los siguientes objetivos específicos del presente estudio: 1) Identificar los géneros o especies de hemoparásitos mediante técnica microscópica y molecular en *Ammodramus aurifrons*, *Troglodytes aedon*, *Thraupis episcopus* y *Cacicus cela* de las zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta, Loreto – Perú, 2) Determinar los índices de prevalencia y similitud de hemoparásitos de *Ammodramus aurifrons*, *Troglodytes aedon*, *Thraupis episcopus* y *Cacicus cela* de las zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta, Loreto – Perú, y 3) Diferenciar los índices de hemoparásitos de *Ammodramus aurifrons*, *Troglodytes aedon*, *Thraupis episcopus* y *Cacicus cela* de las zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta, Loreto – Perú.



### 1.1. Antecedentes

En el 2020, realizaron una investigación de tipo observacional y diseño descriptivo, donde incluyeron como población de estudio a 270 aves capturadas<sup>39</sup> en la Reserva Nacional de Lachay en Lima – Perú, con la finalidad de evaluar la hemoparasitemia entre las épocas húmeda y seca, en dos hábitats diferentes (Guayabito y Puquial) mediante microscopía. En este estudio determinaron una prevalencia de hemoparásitos de 24.82%, reportando a *Haemoproteus* (20.37%) y *Plasmodium* (7.78%). Además, 10 individuos presentaron coinfección por *Plasmodium* y *Haemoproteus* (3.7%), siendo *Zonotrichia capensis* la única especie que presentó estos casos. En la época seca registraron mayor prevalencia (27.69%) que en época húmeda (23.9%).<sup>6</sup> La prevalencia en el hábitat de Guayabito fue de 19.35% y en Puquial fue de 27.68%. El trabajo aportó conocimiento de la dinámica de parásitos de malaria, así como<sup>6</sup> la presencia de estos en ecosistemas frágiles como lomas y en varias especies de aves silvestres<sup>(17)</sup>.

Un estudio de tipo no experimental y diseño descriptivo – transversal, desarrollado el 2019, determinó la prevalencia de hemoparásitos mediante técnicas moleculares. Incluyó como población de estudio a 89 aves de la especie *Cacicus cela* “paucar”, capturados en cuatro zonas: Quistococha, una propiedad privada,<sup>1</sup> en el Centro de Investigaciones Allpahuayo y la Comunidad Mishana, situadas en la carretera Iquitos-Nauta, Loreto. Este estudio reportó<sup>1</sup> una alta prevalencia de *Plasmodium*, con 83.1% de infección en las colonias de paucares. La zona con mayor prevalencia fue el Centro de Investigaciones Allpahuayo y la Comunidad Mishana con 100%, seguido de

Quistococha con 87% y 0% en una Propiedad Privada. Concluyó que la prevalencia de hemoparásitos fue alta en la Amazonía peruana y demostró que las colonias de “paucare” estuvo asociada a la prevalencia de hemoparásitos<sup>(19)</sup>.

En el 2018 llevaron a cabo una investigación de tipo correlacional y diseño analítico, donde incluyeron como población de estudio a 2043 individuos de *Passer domesticus* “gorriones comunes”, en 45 localidades de las provincias de Cádiz, Huelva y Sevilla, al sur de España, agrupadas en hábitat urbano, rural y natural, con la finalidad de evaluar los efectos negativos entre los factores estresantes urbanos y los parásitos sobre la salud del organismo del ave. Por lo que analizaron la condición corporal de las aves y extrajeron sangre para la realización de PCR. Determinaron el 59% de individuos infectados al menos por un género de parásito. La prevalencia de *Leucocytozoon* (30%) y *Plasmodium* (29%) fueron similares y superiores a la prevalencia de *Haemoproteus* (16%). Asimismo, hallaron una prevalencia media de infección del 52%, 60% y 67% en hábitats urbanos, rurales y naturales, respectivamente. En conclusión, la investigación apoya los efectos adversos de la urbanización sobre la condición corporal de las aves, dependiendo de las características del hábitat y el estado de infección que podrían modular estas relaciones. Por lo tanto, las aves en hábitats urbanos pueden sufrir, entre otros factores potenciales, los efectos sinérgicos de la contaminación, la dieta de mala calidad y las infecciones parasitarias, especialmente durante las primeras etapas de vida. Además, estos resultados sugieren que, en los hábitats urbanos, solo aquellos individuos que mostraron una mayor condición corporal lograron sobrevivir a la infección<sup>(20)</sup>.

En Perú, realizaron un estudio de tipo no experimental y diseño descriptivo – transversal en el año 2017, con la finalidad de identificar la presencia y diversidad de haemosporidios aviáres en bosques amazónicos, mediante la combinación de microscopía y PCR. Incluyó como población de estudio a 210 aves capturadas en la Reserva Nacional Tambopata y el Parque Nacional Bahuaja Sonene en Madre de Dios. El estudio determinó una prevalencia de 10%, identificando a *Plasmodium* 57% (12/21), *Haemoproteus* 29% (6/21) y *Leucocytozoon* 14% (3/21). Según el tipo de bosque, obtuvo las siguientes prevalencias por haemosporidios: Bosque RNTAMB 6.5% (4/62), bosque ZETAMB 14.3% (10/70) y en el bosque Bahuaja Sonene HEATH 9% (7/78), con una prevalencia de infección significativamente superior en aves del bosque deforestado (ZETAMB), mientras que en los bosques con un estado mejor de conservación las prevalencias fueron bajas (RNTAMB y HEATH). El trabajo concluyó con una baja prevalencia de infección y evidenció variación en la prevalencia por tipo de bosque y aves que vivían en el bosque deforestado presentaron una mayor prevalencia<sup>(16)</sup>.

En una investigación de tipo no experimental y diseño descriptivo desarrollada en el año 2017, con la finalidad de determinar la presencia de hemoparásitos en poblaciones ferales de la “paloma de Castilla” mediante microscopía. Incluyó como población de estudio a 52 palomas de la especie *Columba livia*, capturadas en zona rural (n=28) y urbana (n=24) de la ciudad de Lima. La investigación determinó el 94.2% de aves positivas a hemoparásitos; el más prevalente fue *Haemoproteus* (94.2%), seguido de *Plasmodium* (13.5%) y en menor porcentaje *Leucocytozoon* (1.9%). De este último parásito, fue frecuente encontrar prevalencias bajas en el Neotrópico, encontrando

mayormente en el Neártico y Paleártico. El autor manifiesta que la baja frecuencia se relacione con la escasez de vectores ornitofílicos apropiados en países de climas templados, por lo que la infección en estas zonas se debería a la presencia de aves migratorias infectadas. Además, no registró una diferencia estadísticamente significativa entre las zonas de estudio, es decir; el 100% de palomas de la zona rural resultaron infectadas y 87.5% en la zona urbana. Reportó monoparasitismo por *Haemoproteus* sp. en 80.8%<sup>16</sup> de las aves, seguido de biparasitismo por *Haemoproteus* sp., y *Plasmodium* sp. con 11.5% y triparasitismo por *Haemoproteus* sp., *Plasmodium* sp. y *Leucocytozoon* sp. con 1.9%. Concluyó que la prevalencia general de hemoparásitos en *Columba livia* fue alta, siendo más prevalente en la zona rural<sup>(21)</sup>.

En una investigación de tipo descriptivo y diseño no experimental desarrollada en el año 2016, incluyó como población de estudio a 242 aves capturadas en el Parque Recreacional Planetario Simón Bolívar<sup>30</sup> de la ciudad de Maracaibo - Venezuela, con la finalidad de estimar la prevalencia de hemoparásitos a partir de análisis microscópico y molecular. La investigación determinó una prevalencia general del 16.94%. Las infecciones causadas por *Plasmodium* (9.5%) fueron las más frecuentes, seguido de *Haemoproteus* (4.55%) y microfilarias (2.89%). Por microscopía detectó una infección mixta de *Plasmodium* y microfilarias, y por PCR detectó a *Plasmodium* y *Haemoproteus* en algunas especies de aves. El trabajo concluyó que las prevalencias elevadas y bajas de parásitos maláricos se deben a la abundancia de algunas especies de aves, tipo de comportamiento, así como su hábitat, alimentación y sistema inmunológico. Al mismo tiempo, la detección de los hemoparásitos

5 se debe a la presencia y el cumplimiento del ciclo biológico hospedador-vector y las condiciones climáticas esenciales para la transmisión que en éste se presenta<sup>(14)</sup>.

1 En Iquitos – Perú, desarrollaron una investigación de tipo no experimental y de diseño descriptivo – transversal en el 2016, con la finalidad de establecer la prevalencia y diversidad de hemoparásitos. Incluyeron como población de estudio a 240 aves capturadas en bosques primario y secundario de la Reserva Nacional Alpahuayo Mishana (RNAM). Examinaron muestras sanguíneas mediante la combinación de microscopía y pruebas moleculares. En la investigación determinaron una prevalencia en hemoparásitos aviares de 16.25%, siendo los géneros hallados: *Plasmodium* (10%), *Haemoproteus* (2.9%), microfilarias (2.5%) y *Haemoproteus/Plasmodium* (0.85%). La especie de ave con mayor infección fue *Cacicus cela* con *Plasmodium* (3.75%), *Haemoproteus* (0.42%), microfilarias (2.08%) y *Plasmodium/Haemoproteus* (0.42%); mientras que las otras especies presentaron prevalencias menores al 2% como el caso de *Ammodramus aurifrons* (0.83 %). Al mismo tiempo, en el bosque secundario determinaron infecciones de 11.25% y en el bosque primario de 5%. En el trabajo concluyeron que la prevalencia fue baja y superior en bosque secundario que en bosque primario<sup>(18)</sup>.

1 En una investigación de tipo observacional y diseño descriptivo realizada el 2014, tuvieron como objetivo determinar infección por hemosporidios. Incluyeron como población de estudio a 102 aves capturadas en las regiones peruanas de Lima y Huánuco. Analizaron muestras de sangre por medio de técnicas moleculares y microscópicas y determinaron mediante caracterización genética una prevalencia general en haemosporidios del

32.35%. Además, encontraron <sup>10</sup> 5 linajes de *Plasmodium* y 5 de *Haemoproteus*, infectando a 12 especies de aves como *Troglodytes aedon* y *Thraupis episcopus*. Asimismo, reportaron por primera vez en el continente americano a *Plasmodium relictum* SGS1, que fue el parásito más prevalente porque infectó a 8 especies de aves en ambas localidades. Concluyeron que la prevalencia de *P. relictum* SGS1 fue de 34.6% en Huánuco, que limita con la Amazonía peruana, representando <sup>13</sup> una amenaza para más de un tercio de las especies aviares en el mundo<sup>(15)</sup>.

En la selva atlántica de Brasil en el 2012, llevaron a cabo un estudio que incluyó a 945 aves, con el objetivo de detectar parásitos hematozoarios mediante microscopía. En la investigación determinaron una prevalencia general de 15.8%. Todos los especímenes analizados tuvieron al menos un individuo parasitado por *Plasmodium*, *Trypanosoma*, *Haemoproteus* o microfilarias. La prevalencia de estos cuatro parásitos fueron 54.8%, 23.3%, 23.3% y 2.1%, respectivamente. En el trabajo concluyeron que las aves del bosque atlántico podrían estar infectadas por varios parásitos sanguíneos con niveles similares de otras regiones neotropicales. Los hallazgos de las diferentes prevalencias en hospedadores-parásitos revelaron interacciones complejas y poco conocidas<sup>(22)</sup>.

En un estudio de tipo correlacional y diseño analítico desarrollada en el 2012, incluyó como población de estudio a 676 aves en tres áreas de Brasil: Cerrado Intacto (CEI), Cerrado de transición (CET) y Cerrado urbanizado (CEU) y en una zona árida al norte de Venezuela, con el objetivo de establecer posibles asociaciones entre haemosporidios en aves silvestres de diferentes hábitats. Para Brasil, las muestras fueron analizadas por microscopía y PCR. En

Venezuela colectaron sangre solo para el análisis molecular. Para Brasil, el estudio determinó una prevalencia total de infección por *Plasmodium* spp. y *Haemoproteus* spp. del 46%, de las cuales el 54.7% de aves infectadas fueron del CEU, 50.2% de CET y el 41.4% de CEI. En Venezuela registraron una prevalencia de 41% de infección. En Brasil, la especie de ave más infectada fue *Cacicus cela* con 88% (8/9). El estudio concluyó que la diversidad de *Plasmodium* spp. y *Haemoproteus* spp. es mayor en Brasil que en Venezuela. Asimismo, la prevalencia más alta de estos hemoparásitos fue registrada en el cerrado urbanizado<sup>(23)</sup>.

En la ciudad de Palmas - Brasil en el 2012, fue desarrollada una investigación de tipo observacional y de diseño descriptivo, con la finalidad de comparar la prevalencia de hemosporidios entre aves silvestres adaptadas y no adaptadas a un medio urbano. Incluyó como población de estudio a 366 aves. Analizó muestras de sangre mediante microscopía y PCR, determinando que el 45.6% de aves estuvieron infectadas con haemosporidios (*Plasmodium* spp. y *Haemoproteus* spp.). Registró que las aves adaptadas al medio urbano presentaron una mayor prevalencia de infección (57.5%) en comparación con las no adaptadas (33.3%). Concluyó que las aves silvestres adaptadas al medio urbano tienen mayor prevalencia de haemosporidios que las no adaptadas. Así mismo, señaló que es posible que la malaria aviar se comporte como un filtro en el establecimiento de especies de aves en el medio ambiente, por lo que supone que exista una relación entre malaria aviar y la capacidad de una especie de ave para adaptarse a zonas urbanas<sup>(10)</sup>.

En el 2010, desarrolló una investigación de tipo observacional y diseño analítico, que incluyó una muestra de 8 ejemplares de *Turdus fuscater* en un

ecosistema del Páramo colombiano, para <sup>12</sup> determinar el estado actual de la infección por *Leucocytozoon* sp. de la especie antes mencionada. Para ello, examinó 4 especímenes mediante microscopía y 4 de ellos por PCR. Encontró la presencia de *Leucocytozoon* en 7 de las 8 aves muestreadas, lo que representa una infección del 87.5%. Asimismo, combinando los resultados de microscopía y PCR, observó que todas las aves resultaron infectadas (100%). Concluyó con una alta prevalencia de infección por *Leucocytozoon* en *Turdus fuscater*. Además, refiere un establecimiento del ciclo de transmisión de *Leucocytozoon* en Colombia (Neotrópico), donde se creía que no existía un vector capaz de infectar y transmitir dicho parásito, ya que se caracterizaba por tener una distribución netamente Neártica <sup>(24)</sup>.

En un estudio de tipo observacional y diseño descriptivo – transversal realizado en Lima y alrededores en el 2007, cuyo objetivo <sup>23</sup> fue demostrar la presencia de las formas gametogónicas de *Leucocytozoon smithi* en pavos procedentes de granjas comerciales. Incluyó como población de estudio a 346 pavos de 5 distritos. Preparó dos frotices de sangre por individuo que fueron coloreados con tinción Giemsa para ser analizados por microscopía. Determinó que todas las muestras resultaron negativas y concluyó que no se encontraron gametocitos de *Leucocytozoon smithi* en pavos, por lo que estuvieron clínicamente sanos y de estarlo se encontraría con una prevalencia menor al 1% <sup>(25)</sup>.

En un estudio de tipo observacional y diseño descriptivo, desarrollado en Dakar – Senegal en 1978, incluyeron a una población de 809 aves para conocer la infección por parásitos sanguíneos, utilizando la técnica de microscopía. Registraron una prevalencia de 11.5%, reportando como



parásito más abundante a *Haemoproteus* con 81.7% de los infectados, mientras que los parásitos de *Plasmodium*, *Trypanosoma*, microfilarias y *Leucocytozoon* se observaron con menor frecuencia. La prevalencia de infección en ploceidos que anidan en colonias fue de 21.3%, a diferencia de la hallada en los strildidos y ploceidos no coloniales, que fue significativamente menor (3.1%). Concluyeron que la prevalencia general de hematozoos en aves de Senegal fue más baja que la registrada en otras áreas de África. Registraron mayores infecciones en aves coloniales, lo que sugiere que la presencia de aves en grupos puede influir en la infección por la capacidad de atraer a un mayor número de vectores<sup>(26)</sup>.

## 1.2. Bases teóricas

### 1.2.1. Hemoparásitos aviares

<sup>17</sup> Los hemoparásitos pueden estar presentes en casi todas las especies de aves, siempre y cuando las condiciones climáticas, el hábitat, la alimentación de las aves, entre otros factores, favorezcan la presencia de los vectores responsables de su transmisión<sup>(27)</sup>.<sup>4</sup> Se conocen alrededor de 450 especies de hemoparásitos en más de 4.000 especies de aves.

<sup>4</sup> Dependiendo del tipo pueden hallarse en el plasma, eritrocitos o leucocitos<sup>(28)</sup>.

Haemosporida es un orden de hemoparásitos que<sup>5</sup> pueden llegar a infectar al 70% de las especies de aves examinadas<sup>(14)</sup>. Son uno de los grupos de protistas parásitos más conocidos y mejor estudiados<sup>(5)</sup>. Dentro de este orden hay tres géneros causantes de la malaria que son comúnmente encontrados en aves: *Plasmodium*, *Haemoproteus* y *Leucocytozoon*<sup>(5)(29)</sup>.

### 1.2.2. Ciclo de vida de los hemosporidios aviares

Utilizan para completar su desarrollo a vectores (insectos dípteros que chupan sangre) y a vertebrados (aves). El estado infectivo esporozoíto está presente en las glándulas salivares del vector, cuando éste pica a un nuevo hospedero (ave), los esporozoitos penetran en el torrente sanguíneo del ave e invaden<sup>35</sup> las células endoteliales de los vasos sanguíneos de órganos como el pulmón, hígado y bazo. Mediante reproducción asexual, dentro de esas células endoteliales los esporozoitos se convierten en esquizontes (merontes) que producirán numerosos merozoitos<sup>(5)(30)</sup>.

Los merozoitos son liberados al torrente sanguíneo, penetran en los eritrocitos y maduran hasta convertirse en gametocitos hembra (macrogametocitos) y gametocitos macho (microgametocitos). Los gametocitos son ingeridos por otro insecto vector y desarrollan su ciclo sexual en el intestino medio del insecto produciendo oocistes; la ruptura de oocistes libera numerosos esporozoitos que migran e invaden las glándulas salivares del insecto y sirven de foco para una posterior infección cuando el insecto pique a otra ave<sup>(5)(30)</sup>.

### 1.2.3. Clasificación taxonómica de hemosporidios aviares<sup>5</sup> de los géneros:

***Plasmodium, Haemoproteus y Leucocytozoon*<sup>(5)</sup>**

Filo : Apicomplexa

Clase : Aconoidasida

Orden : Haemosporida

Familia : Plasmodiidae/ Haemoproteidae/ Leucocytozoide

Género : *Plasmodium*/ *Haemoproteus* / *Leucocytozoon*

#### 1.2.3.1. Género *Plasmodium*

Protozooario hemático capaz de infectar diferentes especies de aves, es transmitido por<sup>13</sup> mosquitos chupadores de sangre (Diptera: Culicidae). Son los vectores de la malaria aviar (solo hembras) mediante los géneros *Culex*, *Aedes*, *Culiseta* y *Anopheles*<sup>(5)</sup>.

Parasita principalmente eritrocitos, y en menor grado también trombocitos, leucocitos y células endoteliales.<sup>1</sup> Dos claves que ayudan

a la identificación de este parásito son la presencia de esquizontes y gametocitos en eritrocitos de las aves. Los esquizontes aparecen como inclusiones intracitoplasmáticas redondas u ovaladas que contienen merozoitos de coloración oscuro. Los gametocitos contienen pigmentos granulares refráctiles y usualmente ocupan menos del 50% del citoplasma de la célula parasitada, alterando la posición del núcleo del eritrocito<sup>(18)</sup>. La patogenicidad varía entre especies, incluso parásitos de la misma especie pueden diferir en su patogenicidad dependiendo del ave infectada. La patología se asocia con deterioros en la termorregulación, deshidratación, inflamación del hígado, aumento de tamaño del bazo, presencia de sangre en la orina y anemia severa<sup>(28)</sup>.

### 1.2.3.2. Género *Haemoproteus*

Protozooario hemático que parasita un amplio espectro de especies aviares, es transmitido principalmente por la picadura de mosquitos (Diptera: Ceratopogonidae) y moscas hipobóscidas (Hippoboscidae)<sup>(18)</sup>. Parasita únicamente a eritrocitos de aves y reptiles, es identificado según el número, la forma y la posición de los gránulos de los gametocitos. Microscópicamente pueden diferenciarse de la siguiente manera: el macrogametocito se caracteriza por presentar tonos de azul intenso y formas redondeadas con pigmentos granulares por todo el citoplasma del parásito, mientras que los microgametocitos presentan tonalidades rosas con pigmentos granulares formados en agregados esféricos. Los

1 pigmentos granulares refráctiles amarillo – café ocupan más del 50% del citoplasma del eritrocito, rodea al núcleo y adopta la forma de halterio, con casi nulo desplazamiento del mismo, siendo estas características muy importantes para la identificación del parásito<sup>(18)(28)</sup>. <sup>19</sup> *Haemoproteus* es ligeramente patógeno para sus hospederos, las aves enfermas muestran un ligero cuadro de anemia, con el hígado y el bazo aumentados de tamaño (hepatoesplenomegalia)<sup>(31)</sup>.

### 1.2.3.3. Género *Leucocytozoon*

Protozooario que infecta la sangre y tejidos de aves, afectan a una gran variedad de especies de aves, se transmite a través de moscas chupópteras simúlidas (Diptera: Simuliidae); también se han descrito casos de ceratopogónidos y culícidos como sus vectores<sup>(5)</sup>.

Puede infectar eritrocitos o leucocitos. Las características que ayudan en la identificación del parásito son gametocitos que se desarrollan en eritrocitos; estos son grandes, redondos, causan distorsión y alargamiento en las células de las aves, dándole apariencia de balón de rugby<sup>(32)</sup>. El macrogametocito se colorea de azul oscuro con un núcleo condensado. El microgametocito se colorea azul claro con un núcleo rosado pálido difuso, <sup>12</sup> mientras que los gametocitos que se desarrollan en leucocitos son elongados, con forma ahusada<sup>(24)</sup>.

Las aves infectadas pueden ser asintomáticas o presentar signos clínicos como <sup>19</sup> anemia, hemólisis intravascular, heces diarreicas, <sup>12</sup> pérdida del apetito y focos necróticos e inflamatorios en el hígado. El

curso de la enfermedad es corto, las aves infectadas mueren o mejoran en unos días; sin embargo, en aquellas que sobreviven puede evidenciarse ictericia<sup>(24)</sup>.

Existe otro grupo de hemoparásito en aves

#### 1.2.4. Clasificación taxonómica de Filarias<sup>(33)</sup>

Filo : Nematoda  
Clase : Secernentea  
Orden : Spirurida  
Familia : Filaridae

Las filarias son nemátodos filiformes que infectan la sangre de aves y mamíferos.

Los gusanos adultos, se alojan en los vasos linfáticos de sus hospederos.

##### 1.2.4.1. Microfilaria

Estadio pre-larval, sumamente móvil. Algunas especies conservan la membrana vitelina a modo de vaina, en otras se pierde transformándose en formas desnudas. Según las especies tienen características particulares. Pueden medir de 160 a 350  $\mu\text{m}$  de longitud con diámetro máximo de 4 a 10  $\mu\text{m}$ . Su estructura interna sólo puede estudiarse mediante el uso de preparaciones fijadas y teñidas, lo que pone de manifiesto una columna central de núcleos, entre los cuales existen algunas que sirven de marcas anatómicas que se utilizan para diferenciar las especies. Para su identificación la característica diagnóstica clave es el espacio cefálico (cabeza), el poro excretor, la presencia o ausencia de un cuerpo interno, el número y distribución de

núcleos en la cola, las células rectales y la presencia o ausencia de la vaina<sup>(33)</sup>.

#### 1.2.4.2. Ciclo de vida de Microfilaria

4 Su ciclo de vida comprende dos etapas bien diferenciadas, una en el insecto vector (dípteros ceratopogónidos, simúlidos, culícidos y en casos excepcionales a Mallophaga y garrapatas) y otra en el ave. Cuando las microfilarias son ingeridas por el insecto, sufren una transformación a larva de primer y segundo estadio denominadas L1 y L2. Allí ocurre una migración y maduración de las larvas produciendo la transformación en el estadio infectivo L3. Este estadio larval migra a las glándulas salivales del insecto. En este momento los parásitos (L3) están capacitados para penetrar la piel lacerada del ave, como resultado de la picadura del vector<sup>(28)</sup>.

4 Se relaciona la ocurrencia de algunas especies de microfilarias con inflamaciones crónicas en las áreas del cuerpo de las aves<sup>(28)</sup>.

## 1.2.5. Especies de aves en estudio

### 1.2.5.1. *Ammodramus aurifrons*

#### a) Clasificación taxonómica<sup>(34)</sup>

<sup>32</sup> Filo	: Chordata
Clase	: Aves
Orden	: Passeriformes
Familia	: Emberizidae
Género	: <i>Ammodramus</i>
Especie	: <i>aurifrons</i>
Nombre común	: “Gorrión de ceja amarilla”

#### b) Importancia

Control de artrópodos<sup>(35)</sup>.

#### c) Descripción de la especie<sup>(35)</sup>

De tamaño pequeño, mide aproximadamente 13 cm, su cabeza presenta un aspecto aplanado, con cola relativamente corta, pero con patas largas y generalmente un pico largo bastante prominente. Más que de cejas amarillas, este gorrión tiene una cara amarilla ya que el amarillo de los supra-lores generalmente cae en gran parte de la cara delantera. Las partes superiores de este gorrión solo tienen rayas oscuras, por lo que se ve mucho más sólido en coloración de lo que es típico de un gorrión de campo abierto. <sup>41</sup> Sus partes inferiores son de color gris pálido, y las alas marrones muestran una curva amarilla obvia, que a veces se extiende como un parche



amarillo en el hombro. Los juveniles presentan un pecho estrechamente rayado e incluso más opaco, con poco o nada de amarillo en la cara, a diferencia de los adultos que sí presentan coloración amarilla.

Especie común y ampliamente distribuida en la Amazonía peruana, hasta 1,800 m sobre el nivel del mar. Habita en pastizales tropicales de tierras bajas y sitios abiertos, esencialmente aceptará cualquier hábitat abierto, incluyendo pasto corto, pasto más alto, pastizales, áreas abiertas adyacentes a aldeas, lugares cubiertos de hierba y todo tipo de hábitats abiertos y degradados, incluidos lotes vacíos en ciudades. Actualmente muestra un importante auge de la población, ya que se beneficia de la tala de bosques en la cuenca del Amazonas. Muy adaptable.

Se alimenta de semillas e insectos; dieta basada en artrópodos.

#### 1.2.5.2. *Cacicus cela*

##### a) Clasificación taxonómica<sup>(36)</sup>

1 Filo	: Chordata
Clase	: Aves
Orden	: Passeriformes
Familia	: Icteridae
Género	: <i>Cacicus</i>
Especie	: <i>cela</i>
Nombre común	: “Paucar”

## b) Importancia

Dispersador de semillas. Control de artrópodos<sup>(37)</sup>.

## c) Descripción de la especie<sup>(35)(37)</sup>

El macho tiene una longitud promedio de 28 cm y pesa alrededor de 104 g, a diferencia de las hembras, que miden 23 cm de largo y pesan 60 g, aproximadamente. El Cacique o paucar es un pájaro delgado, con una cola larga y ojos azules. Tiene principalmente plumaje negro, además de un color amarillo brillante, en la grupa, base de la cola y parte baja del vientre y del ala. La hembra es de color más tenue que el macho, que es negro. El ave juvenil se asemeja a la hembra, pero tiene ojos oscuros. El canto del macho es una mezcla brillante de notas aflautadas con cacareos, sibilancias. También hay muchas llamadas variadas; en una colonia activa se pueden escuchar desde una distancia considerable. Es un criador colonial, con un máximo de 100 nidos en forma de bolsa en un árbol, que por lo general contiene también un nido de avispas activo. Las hembras construyen el nido, incuban y cuidan de los jóvenes. Cada nido es de 30-45 cm de largo y se ensancha en la base, y está suspendida desde el extremo de una rama. Las hembras compiten por los mejores sitios cerca de la protección del nido de avispas.

Es una de las aves más comunes de la Amazonía; vive en hábitats hasta 1,300 m sobre el nivel del mar, en bosque, bordes

de bosque, claros, campos abiertos, orillas de ríos, plantaciones y ciudades.

Se alimenta de frutas e insectos a niveles medios de los árboles y cerca de su copa.

### 1.2.5.3. *Thraupis episcopus*

#### a) Clasificación taxonómica<sup>(38)</sup>

27 Filo	: Chordata
Clase	: Aves
Orden	: Passeriformes
Familia	: Thraupidae
Género	: <i>Thraupis</i>
Especie	: <i>episcopus</i>
Nombre común	: “Tangara azuleja”

#### b) 2 Importancia

Polinizador, controlador de insectos formando parte de la cadena trófica del ecosistema<sup>(37)</sup>.

#### c) Descripción de la especie<sup>(35)(37)</sup>

La tangara azul gris mide de 16 a 18 cm de longitud y pesa 35 g. Los adultos tienen la cabeza y las partes inferiores del cuerpo de color gris azulado claro, las partes dorsales son azules oscuros, con verde azul brillante en las alas y la cola, y los hombros con diferentes matices de azul. El pico es corto y grueso. Los dos sexos son similares, pero los inmaduros son

de plumaje de color más deslavado. El canto es débil y chirriante, mezclado con notas de llamado chuip y sííí.

Es una especie común y ampliamente distribuida en Perú, localmente hasta los 2,000 m sobre el nivel del mar. Habita en bosques abiertos, áreas cultivadas, jardines y zonas urbanas, principalmente tierras bajas de clima tropical, prospera en hábitats alterados por el hombre y, además de usar grietas en la construcción como nidos; a veces se posa en grietas o vigas en la construcción.

La tangara azul gris se alimenta principalmente de frutos, pero también de néctar e insectos. Es muy activa y relativamente confiada. Generalmente anda en parejas, pero también llega a formar grupos no muy numerosos. Se acerca a zonas habitadas por humanos, alimentándose de algunos frutos cultivados.

#### 1.2.5.4. *Troglodytes aedon*

##### a) Clasificación taxonómica<sup>(39)</sup>

Filo	: Chordata
Clase	: Aves
Orden	: Passeriformes
Familia	: Troglodytidae
Género	: <i>Troglodytes</i>
Especie	: <i>aedon</i>
Nombre común	: “Cucarachero común”

## b) Importancia

2 Controlador de insectos formando parte de la cadena trófica del ecosistema.

## c) Descripción de la especie<sup>(35)</sup>

De tamaño pequeño, de 12 a 37 12.5 cm, de color marrón, con barras negras y marrones en las alas y cola que frecuentemente mantiene levantada, color variable especialmente en las partes inferiores. Los juveniles son más oscuros que los individuos adultos.

Especie muy común, vive prácticamente en todo el Perú, llegando hasta los 4,600 m sobre el nivel del mar. 6 Es muy local en la Amazonía peruana y en vertientes húmedas de los Andes.

Se encuentran en lugares muy perturbados, habita desde ciudades con una gran contaminación acústica hasta ambientes alejados de este tipo de contaminación. Habitual en jardines de casas y otras áreas cerca de poblados, en parques y plazas urbanas, 6 hábitats abiertos con arbustos bajos y malezas dispersas, como en bordes de bosque y vegetación secundaria joven, matorral montano y zonas agrícolas.

Su alimentación es a base de insectos y arácnidos. Recolecta pequeños invertebrados terrestres de la mayoría de los sustratos disponibles, incluidos el suelo desnudo, la hojarasca, la cubierta herbácea del suelo y todas las partes de arbustos y árboles.

### 1.3. Definición de términos básicos

- **15** **Protis sanguíneo:** Es la extensión de sangre realizada sobre un portaobjeto y a partir de la cual se observarán al microscopio las características de las células sanguíneas<sup>(40)</sup>.
- **Hemoparásitos aviares:** Grupo diverso de parásitos helmintos y protozoarios que usan la sangre de aves como hábitat para su crecimiento y reproducción<sup>(4)</sup>.
- **28** **Prevalencia:** Es el porcentaje de hospederos infectados por una especie particular de parásito o un grupo taxonómico calculado en relación al número de hospederos examinados<sup>(41)</sup>.
- **Similitud:** Es el número de las especies de parásitos comunes a ambas zonas<sup>(41)</sup>.
- **14** **Zonas urbanas:** Aquellas zonas con un mínimo de cien viviendas agrupadas contiguamente (en promedio, 500 habitantes). Por excepción, a todos los centros poblados capitales de distrito, aun cuando no reúnan la condición indicada; o aquellos centros poblados con 2.000 y más habitantes, donde sus viviendas se encuentran agrupadas en forma contigua, formando manzanas y calles<sup>(42)</sup>.
- **11** **Zonas periurbanas:** Son aquellas zonas que circundan a las ciudades y que están integradas con éstas en casi todos los aspectos; estas zonas tienen también tasas de crecimiento elevadas y reciben hasta el 70 por ciento de la población que emigra de las zonas rurales, así como de la que emigra de las propias ciudades<sup>(43)</sup>.

# 1 CAPÍTULO II. HIPÓTESIS Y VARIABLES

## 2.1. Formulación de la hipótesis

H<sub>0</sub>: La prevalencia y similitud de hemoparásitos en aves son semejantes en las zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta, Loreto – Perú.

H<sub>1</sub>: La prevalencia y similitud de hemoparásitos en aves son diferentes en las zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta, Loreto – Perú.

## 2.2. Variables y su operacionalización

VARIABLES	DEFINICIÓN	TIPO POR SU NATURALEZA	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN	CATEGORÍA	VALORES DE LAS CATEGORÍAS	MEDIOS DE VERIFICACIÓN
Variable dependiente Índices de hemoparásitos en aves.	Medida de la presencia de los hemoparásitos en las aves en estudio.	Cuantitativa	Prevalencia	Ordinal	Baja	1 – 30%	Base de datos.
					Media	31 – 60%	
					Alta	61 – 100%	
		Cuantitativa	Similitud	Ordinal	Baja	< 25%	
					Media	26 – 59%	
					Alta	≥ 60%	
Variable independiente Aves de las zonas urbanas y periurbanas de Iquitos y Nauta.	Aves de zonas urbanas: Aves que frecuentan lugares con edificios y viviendas de concreto y aglomeración de unidades de transporte.	Cualitativa	Aves de zona urbana de Iquitos y Nauta.	Nominal	<i>A. aurifrons</i> <i>T. aedon</i> <i>T. episcopus</i>	32 13 26	Ficha de registro de aves capturadas.
	Aves de zonas periurbanas: Aves que frecuentan lugares donde se conserva aún paisajes característicos del ambiente rural, con viviendas de material rústico y carencia de parte de los servicios básicos.	Cualitativa	Aves de zona periurbana de Iquitos y Nauta.	Nominal	<i>A. aurifrons</i> <i>T. aedon</i> <i>T. episcopus</i> <i>C. cela</i>	42 19 69 39	Libro de Aves del Perú.

## 1 CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Tipo y diseño

El tipo de investigación fue observacional, de corte transversal y retrospectivo. La razón de esta clasificación fue porque se registraron los hemoparásitos de las aves capturadas en un momento dado y porque se examinaron muestras que ya fueron colectadas con anterioridad.

El diseño de investigación fue descriptivo, porque estimó la magnitud y distribución de los hemoparásitos en las zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta.

### 1 3.2. Diseño muestral

La población de estudio estuvo constituida por todas las especies de aves *Ammodramus aurifrons*, *Troglodytes aedon*, *Thraupis episcopus* y *Cacicus cela* capturadas en diez zonas urbanas y periurbanas de las ciudades de Iquitos y Nauta, del proyecto de tesis doctoral titulada: “**Múltiples Escalas de Biodiversidad de Aves en Ciudades del Perú**”, realizado por la Blga. Natalia Casandra Piland Chicchón, Dra., con código de autorización por SERFOR N° AUT-IFS-2017-007 (Anexo N° 1).

La muestra comprendió 240 aves de las cuatro especies en estudio, de las cuales 118 fueron capturadas en Iquitos y 122 para Nauta.



### 3.3. Criterios de selección

#### 3.3.1. Criterios de inclusión

- Estuvo conformado por todas las aves en estudio: *Ammodramus aurifrons*, *Troglodytes aedon*, *Thraupis episcopus* y *Cacicus cela*.
- Aves en estudio a las que se extrajeron muestras de sangre y se codificaron.

#### 3.3.2. Criterios de exclusión

- Estuvo conformada por las especies de aves que no son de estudio.
- Aves que tuvieron la marca de captura.
- Aves que no se terminaron de procesar.

### 3.4. Área de estudio

#### 3.4.1. Iquitos

La ciudad de Iquitos se encuentra ubicada a 03° 45' 10" de latitud Sur y a 73° 15' de longitud Oeste, a una altura entre 110,125 m.s.n.m. (106 m.s.n.m en promedio). Es un centro urbano importante que se ubica a la margen izquierda del río Amazonas. Asimismo, está situada a 3,636 Km. del Océano Atlántico y a 600 Km. aproximadamente de la cordillera de los Andes, encontrándose en la confluencia de los ríos Amazónicos, Itaya y Nanay. Presenta una desorganización físico espacial con un área metropolitana que se expande en cuatro distritos: centro de Iquitos, y tres periféricos: Belén, Punchana y San Juan Bautista<sup>(44)</sup>.

#### Caracterización de la zona urbana y periurbana

La zona urbana ocupa el 6.05% de la superficie de la ciudad y en ella se observa una gran variedad de actividades comerciales, culturales y turísticas que generan aglomeración de unidades de transporte. Tiene como límite natural al Oeste el lago Morona Cocha y por el Noroeste la calle Alzamora hasta Navarro Cauper, Av.28 de julio, Av. La Marina, Tacna y Plaza Bolognesi constituyendo el 11,16% de la superficie total de la ciudad<sup>(44)</sup>.

Por otra parte, en la zona periurbana se crearon asentamientos humanos, los cuales se iniciaron como invasiones<sup>(45)</sup>. Se expande hacia los costados de la ciudad, por el norte hacia el distrito de Indiana, por el sur hacia el aeropuerto Francisco Secada Vigneta y a lo largo de las carreteras Santa Clara, Santo Tomás y entre los km 3 y 5 de la carretera Iquitos – Nauta.

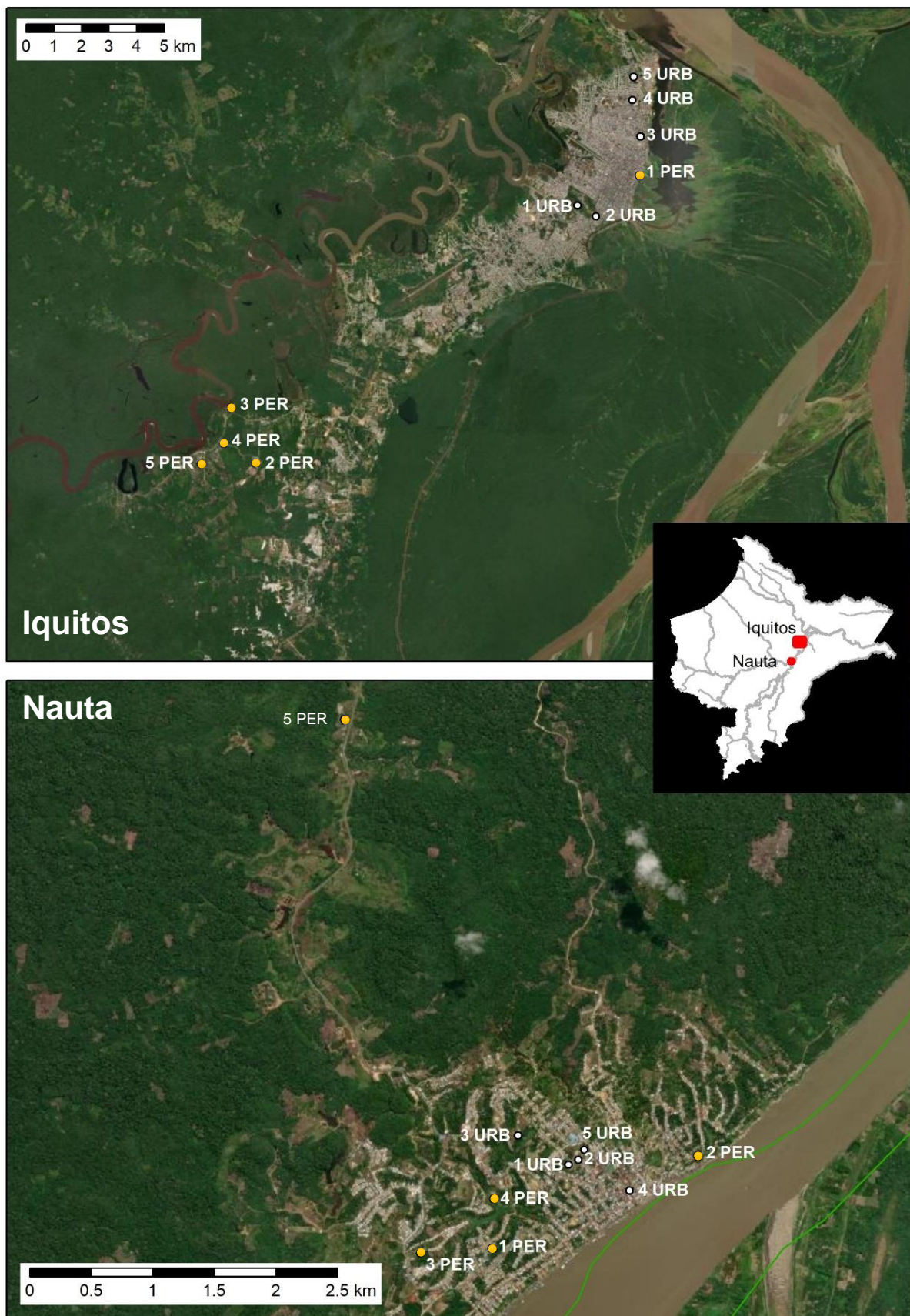
Esta zona conserva paisajes característicos del ambiente rural amazónico y representa el 10.36% de superficie intervenida, donde se crían peces en estanques y aves en galpones<sup>(44)</sup>.

### 3.4.2. Nauta

La ciudad de Nauta se encuentra ubicada a 04° 30' 24" de latitud Sur y 73° 34' 32" longitud Oeste. Es un centro urbano de segundo rango y forma parte del Sistema Urbano del Departamento de Loreto. Se organiza sobre un espacio entre el río Marañón, las quebradas Gasparito y Zaragoza. En cuanto al tipo de asentamiento predominante, Nauta presenta un centro urbano típicamente nucleado que se ubica dentro de espacios consolidados, es decir una zona urbana y una zona de expansión o periurbana<sup>(46)</sup>.

#### Caracterización de la zona urbana y periurbana

En la zona urbana se ubican gran parte de las edificaciones públicas, en el que la población se dedica a las actividades administrativas y comerciales; la mayoría de las edificaciones son de material noble y cuentan con todos los servicios básicos, incluido el recojo de basura y servicios de Internet. La zona periurbana se caracteriza por presentar viviendas de material regional y carente de gran parte de los servicios urbanos básicos y sus pobladores se dedican a actividades económicas primarias<sup>(46)</sup>.



**Figura 1681.** Lugares de muestreo en la ciudad de Iquitos y Nauta, Loreto - Perú. URB: Zona urbana, PER: Zona periurbana (Anexo N° 2).

### 34 3.5. Procedimientos de recolección de datos

Para la recolección de datos se emplearon 2 fases: Campo y laboratorio. La fase de campo se realizó como parte del proyecto de tesis doctoral titulada “Múltiples Escalas de Biodiversidad de Aves en Ciudades del Perú”, realizado por la Blga. Natalia Casandra Piland Chicchón, Dra., donde nosotras formamos parte del equipo de trabajo de investigación como tesistas de pregrado, dedicadas a la instalación de las redes de neblina, captura, identificación y toma de muestra de sangre de las aves.

#### 3.5.1. Fase de campo

- La presente investigación se ejecutó en diez lugares de capturas de las aves, tanto para Iquitos como para Nauta. Se clasificaron los lugares según el Plan de Desarrollo Urbano de ambas ciudades (PDU)<sup>(44)(46)</sup>, teniendo en cuenta la presencia de áreas verdes.
- En la zona urbana de Iquitos se muestrearon en cinco lugares: Cerro Palmeras, Colegio Las Malvinas, EsSalud Hospital III, Clínica Ana Stahl y Recreo Círculo Militar de Pampachica - Certes. La zona periurbana también contó con cinco lugares de muestreo: Zona baja del Boulevard, Nina Rumi, Facultad Ciencias Biológicas, Facultad Ciencias Forestales y Facultad Farmacia (Anexo N° 3).
- En la zona urbana de Nauta se muestrearon 5 lugares: Colegio Rosa Licencia, Hospedaje Plaza Inn, Colegio Rosa Licencia/Laguna Sapi Sapi, Laguna Sapi Sapi y la Facultad de Sistemas e Informática. En la zona periurbana fueron: DIRANDRO, Colegio Huadadapayro (Regina

Leonor), Zaragosa, Junta Vecinal San Rafael y Junta Vecinal Casiciaco (Anexo N° 4).

#### **a) Instalación de redes de neblina**

Se trabajó el siguiente procedimiento:

- Se colocaron 13 redes de neblina en serie, dependiendo del lugar de muestreo en zonas urbanas y periurbanas de ambas ciudades.
- Se activaron las redes de neblina desde las 05:00 hasta las 11:00 horas de la mañana.
- Se revisaron las redes de neblina cada 15 a 20 minutos para no perturbar el ambiente y obtener una mejor captura de las aves<sup>(47)</sup>.

#### **b) Captura e identificación del ave**

Para la manipulación y extracción del ave de la red de neblina se procedió de la siguiente manera:

- Retiramos cuidadosamente las patas, posteriormente las alas y por último la cabeza, con total paciencia y cautela para evitar causar algún daño al ave<sup>(47)</sup> (Anexo N° 5).
- Después de ello, colocamos al ave en una bolsa de tela, apropiada para su traslado hacia el lugar de trabajo.
- Realizamos la identificación del ave con ayuda del libro de Aves de Perú<sup>(35)</sup>. Registramos los datos como lugar, hora y fecha de

muestreo, código y nombre científico del ave en la ficha de campo (Anexo N° 6).

### **c) Toma de muestra sanguínea**

- Manipulamos cautelosamente al ave, extendiendo el ala izquierda para ubicar la vena braquial.
- Procedimos a la punción venosa con una aguja de 25Gx5/8 8 (Anexo N° 7a). Una vez realizada la punción con la ayuda de un capilar heparinizado, absorbimos la muestra sanguínea del ave para realizar el frotis (Anexo N° 7b).
- Presionamos levemente la zona de punción para evitar el sangrado; posteriormente, suministramos un polvo coagulante para cicatrizar y evitar infectar la zona de punción.
- Dejamos descansar al ave por dos minutos, para luego liberarla.
- Colocamos una pequeña muestra de sangre en el papel Whatmann y en la lámina porta-objeto realizamos el frotis con la ayuda de otra lámina auxiliar, haciendo contacto con la gota de sangre para extenderla a un ángulo de 45° (Anexo N° 7c).
- Cortamos una parte de las plumas de la cola del ave para liberarla y evitar su recaptura (Anexo N° 7d).
- Dejamos secar el frotis a temperatura ambiente por un lapso de 10 minutos.
- Rotulamos la lámina con su respectivo código.
- Fijamos la muestra con metanol por 1 minuto, dejando secar de 5 a 10 minutos a temperatura ambiente<sup>(48)</sup>.



### 3.5.2. Fase de Laboratorio

- Las muestras de sangre colectadas fueron llevadas y procesadas en el laboratorio de Parasitología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP).
- Para la identificación de los géneros *Plasmodium* y *Haemoproteus* en estadíos inmaduros no se logró diferenciar porque las estructuras observadas fueron similares en ambos hemoparásitos.

#### a) Tinción del frotis sanguíneo

Procedimos a la tinción de las muestras de sangre de la siguiente manera<sup>(48)</sup>:

- Preparamos 100 ml de colorante Giemsa, utilizando 10 ml de la Solución madre de Giemsa en 90 ml en agua tamponada con pH 7.2 (Anexo N° 8a).
- Vertimos el colorante sobre las láminas fijadas dejándolo actuar por 25 minutos (Anexo N° 8b).
- Lavamos los frotices con agua destilada cuidadosamente evitando que quedaran residuos en ellas.
- Finalmente, dejamos secar a temperatura ambiente (Anexo N° 8c).

#### b) Identificación de hemoparásitos por microscopía

- Realizamos la búsqueda de los hemoparásitos empleando microscopios de la marca Leica, con objetivo de 100X utilizando aceite de inmersión (Anexo N° 9).



- Revisamos completamente cada uno de los frotices para evitar que infecciones bajas pasen desapercibidas.
- Creamos un registro fotográfico por cada parásito encontrado y tomamos los datos de la lámina con resultado positivo de hemoparásitos en la ficha de laboratorio (Anexo N° 10).
- Para la identificación de los géneros de hemoparásitos, se utilizó el libro “Avian Malaria Parasites and Other Haemosporidia”<sup>(5)</sup>, posteriormente confirmamos los resultados de cada ave con el PhD. Alfonso Marzal.

### c) Identificación de hemoparásitos por pruebas moleculares

Las muestras de sangre de las aves fueron conservadas en papel Whatmann y se <sup>10</sup> enviaron al Laboratorio de Zoología de la Universidad de Extremadura – España para ser analizadas mediante la técnica de Polymerase Chain Reaction (PCR) por el Blgo. Alfonso Marzal Reynolds, PhD., utilizando el protocolo modificado de Hellgren O et al. (2004)<sup>(49)</sup> (Anexo N° 11).

Mediante la técnica PCR no se pudo detectar diferencias en los hemoparásitos *Plasmodium* y *Haemoproteus* debido a que los *primers* amplifican ambos géneros y es necesaria una secuenciación de ADN, la cual es muy costosa.

### **3.6. <sup>1</sup> Procesamiento y análisis de los datos**

La recopilación de datos se hizo en la hoja de cálculo de Microsoft Excel 2013. Los resultados de prevalencia fueron elaborados por medio de cuadros y gráficos utilizando el análisis porcentual en el programa Excel. Para el análisis estadístico de similitud se realizó mediante el programa Community Analysis Package 4.0 (CAP).

### **3.7. Aspectos éticos**

No existieron problemas éticos en la investigación, los datos que se obtuvieron en este estudio se registraron conforme a lo observado y encontrado, sin ninguna alteración. Para la captura y toma de muestra de sangre de las aves se solicitó permiso a SERFOR.

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS

### 4.1. Identificación de hemoparásitos en aves de las zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta, Loreto - Perú.

Dentro de los hemoparásitos registrados en aves de la ciudad de Iquitos y de Nauta se identificaron a tres géneros del Orden Haemosporida: *Plasmodium*, *Haemoproteus* y *Leucocytozoon*, y a un nemátodo secernenteo de la familia Filaridae en estadio de microfilaria (Tabla 1) (Anexo N° 12 – 16).

**Tabla 1.** Hemoparásitos identificados en aves de la ciudad de Iquitos y Nauta, Loreto - Perú.

Filo	Clase	Orden	Familia	Género
Apicomplexa	Aconoidasida	Haemosporida	Plasmodiidae	<i>Plasmodium</i>
			Haemoproteidae	<i>Haemoproteus</i>
			Leucocytozoide	<i>Leucocytozoon</i>
Nematoda	Secernentea	Spirurida	Filaridae	No identificado

A continuación, la tabla 2 presenta una visión general sobre los tipos de hemoparásitos encontrados en las aves en estudio de la ciudad de Iquitos y Nauta, reportándose los 4 hemoparásitos registrados en este estudio en *Ammodramus aurifrons*.

**Tabla 2.** Hemoparásitos encontrados por especies de aves de la ciudad de Iquitos y Nauta, Loreto - Perú.

Especie de ave	Hemoparásitos				
<i>Ammodramus aurifrons</i>	<i>Plasmodium</i>	<i>Haemoproteus</i>	<i>Plasmodium/ Haemoproteus</i>	<i>Leucocytozoon</i>	Microfilaria
<i>Cacicus cela</i>	<i>Plasmodium</i>	<i>Haemoproteus</i>	<i>Plasmodium/ Haemoproteus</i>	----	Microfilaria
<i>Thraupis episcopus</i>	<i>Plasmodium</i>	----	<i>Plasmodium/ Haemoproteus</i>	<i>Leucocytozoon</i>	----
<i>Troglodytes aedon</i>	----	<i>Haemoproteus</i>	<i>Plasmodium/ Haemoproteus</i>	<i>Leucocytozoon</i>	----

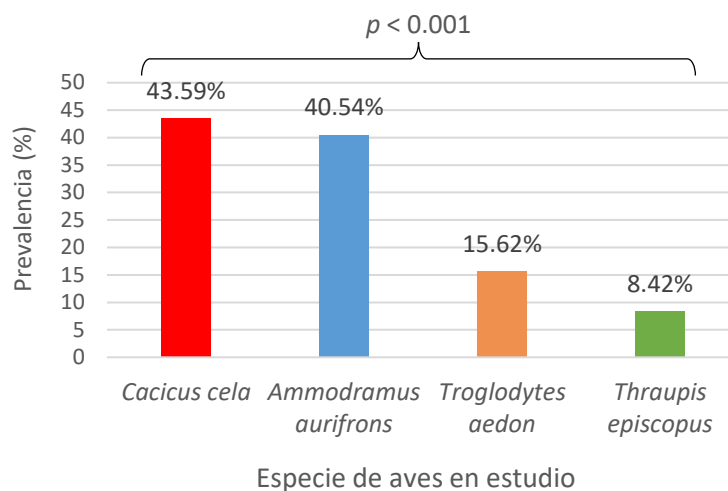
## 4.2. Índice de prevalencia y similitud de hemoparásitos en aves de zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta, Loreto - Perú.

### 4.2.1. Prevalencia general de hemoparásitos aviares.

Se analizaron un total de 240 aves de cuatro especies diferentes (*Ammodramus aurifrons*, n = 74; *Cacicus cela*, n = 39; *Thraupis episcopus*, n = 95; *Troglodytes aedon*, n = 32). La prevalencia registrada fue de 25% (60 de los 240 individuos analizados estuvieron infectados) (Tabla 3). Existieron diferencias significativas en la prevalencia entre las especies de aves estudiadas (Test de Chi-cuadrado:  $\chi^2 = 32.146$ , g.l. = 3,  $p < 0.001$ ), siendo *Cacicus cela* la especie que presentó mayor prevalencia (43.59%), seguido de *Ammodramus aurifrons* (40.54%), y en menor medida *Troglodytes aedon* (15.62%) y *Thraupis episcopus* (8.42%) (Figura 2).

**Tabla 3.** Prevalencia de hemoparásitos en aves de la ciudad de Iquitos y Nauta.

Resultados	N° de individuos	Prevalencia (%)
Con hemoparásitos	60	25
Sin hemoparásitos	180	75
<b>Total</b>	<b>240</b>	<b>100</b>



$$\chi^2 = 32.146, \text{ g.l.} = 3, p < 0.001$$

**Figura 1809.** Prevalencia de hemoparásitos según especies de aves estudiadas en la ciudad de Iquitos y Nauta.

A partir de los datos de la tabla 4, se evidenció la presencia de parásitos sanguíneos en las cuatro especies de aves estudiadas, resaltando a *Plasmodium* como el género que infectó más aves con una prevalencia de 11.67% (28/240), seguido de *Plasmodium/Haemoproteus* con un 11.25% (27/240), *Haemoproteus* con 3.33% (8/240), microfilarias con 2.5% (6/240) y finalmente *Leucocytozoon* con 1.67% (4/240).

**Tabla 4.** Prevalencia de hemoparásitos por especie de ave de la ciudad de Iquitos y Nauta.

Hemoparásitos	Especie de ave				Total	Prevalencia (%)
	<i>Ammodramus aurifrons</i> n = 74	<i>Cacicus cela</i> n = 39	<i>Thraupis episcopus</i> n = 95	<i>Troglodytes aedon</i> n = 32		
<i>Plasmodium</i>	15 (20.3)	12 (30.8)	1 (1.1)	–	28	11.67
<i>Plasmodium / Haemoproteus</i>	16 (21.6)	5 (12.8)	6 (6.3)	3 (9.4)	27	11.25
<i>Haemoproteus</i>	3 (4.1)	4 (10.3)	–	1 (3.1)	8	3.33
<i>Leucocytozoon</i>	1 (1.4)	–	2 (2.1)	1 (3.1)	4	1.67
Microfilarias	2 (2.7)	4 (10.3)	–	–	6	2.5

En la tabla 5, se muestra el número de aves con infección simple o co-infección según la especie. De las 60 aves infectadas por hemoparásitos, 49 registraron infecciones simples (81.67%), mientras que 11 individuos presentaron co-infección (18.33%). Aunque algunas especies de aves presentaron un mayor porcentaje de co-infecciones superior a otras, no hubo diferencias significativas en la proporción de co-infecciones entre las especies estudiadas (Test de Chi-cuadrado:  $\chi^2 = 5.071$ , g.l. = 3,  $p < 0.167$ ). De 11 aves con co-infección, siete de ellas registraron *Haemoproteus* spp. y *Plasmodium* spp., dos tuvieron *Plasmodium* / *Haemoproteus* y *Leucocytozoon*, por último, otros dos ejemplares reportaron *Plasmodium* / *Haemoproteus* y microfilarias.

**Tabla 5.** Prevalencia por tipo de infección de las especies de aves en estudio en la ciudad de Iquitos y Nauta.

Tipo de infección	<i>Ammodramus aurifrons</i>	<i>Cacicus cela</i>	<i>Thraupis episcopus</i>	<i>Troglodytes aedon</i>	Individuos infectados	Prevalencia (%)
Infección simple	26	11	7	5	49	81.67
Co-infección	4	6	1	0	11	18.33
<b>Total</b>	30	17	8	5	60	100

Test de Chi-cuadrado:  $\chi^2 = 5.071$ , g.l. = 3,  $p < 0.167$

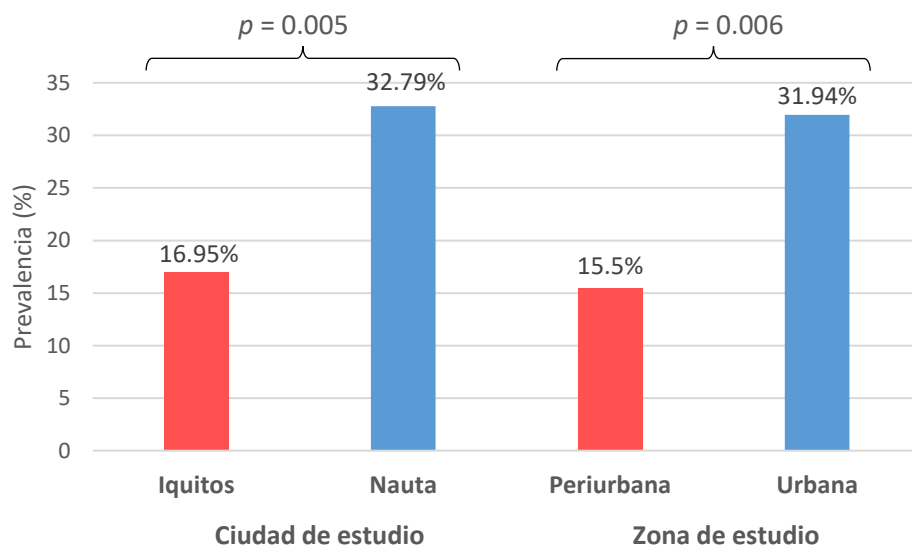
#### 4.2.2. Prevalencia de hemoparásitos aviares vs. ciudad y zona de estudio.

Analizando de manera conjunta todas las especies de aves, se encontró que la prevalencia de hemoparásitos varió según la ciudad de estudio (Test de Chi-cuadrado:  $\chi^2 = 8.024$ , g.l. = 1,  $p = 0.005$ ), siendo superior en Nauta (32.79%) que en Iquitos (16.95%) (Tabla 6, Figura 3-a).

Excluyendo a los individuos de la especie *Cacicus cela* para los análisis (por estar presente exclusivamente en zona periurbana), se comprobó que la prevalencia de hemoparásitos también varió según la zona de estudio de cada ciudad (Test de Chi-cuadrado:  $\chi^2 = 7.427$ , g.l. = 1,  $p = 0.006$ ), siendo superior en la zona urbana (31.94%) que en la zona periurbana (15.50%) (Tabla 5, Figura 3-b).

**Tabla 6.** Número de individuos no infectados e infectados de las especies analizadas según zonas de estudio en Iquitos y Nauta.

Ciudad	Zona	No Infectado	Infectado	Total
<b>Iquitos</b>	Periurbana	55	12	67
	Urbana	29	6	35
<b>Nauta</b>	Periurbana	54	8	62
	Urbana	20	17	37

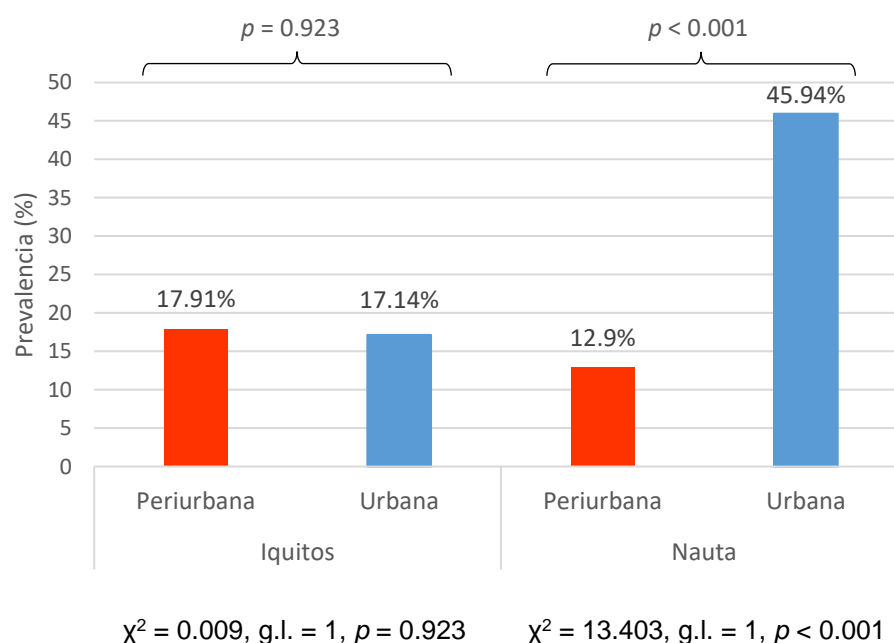


$$\chi^2 = 8.024, \text{ g.l.} = 1, p = 0.005$$

$$\chi^2 = 7.427, \text{ g.l.} = 1, p = 0.006$$

**Figura 3058.** Prevalencia de hemoparásitos en las especies de aves estudiadas según ciudad de estudio (n = 240) y según zona de estudio (n =

La interacción entre la ciudad y la zona de estudio mostró que en Iquitos no hubo diferencias en la prevalencia de hemoparásitos entre zona urbana (17.14%) y periurbana (17.91%) (Test de Chi-cuadrado:  $\chi^2 = 0.009$ , g.l. = 1,  $p = 0.923$ ), mientras que en Nauta la prevalencia en la zona urbana fue superior (45.94%) a la hallada en la zona periurbana (12.90%) (Test de Chi-cuadrado:  $\chi^2 = 13.403$ , g.l. = 1,  $p < 0.001$ ) (Tablas 6-7, Figura 4). Se realizó un análisis de regresión logística para comprobar, de manera conjunta, si la ciudad, la zona de estudio y la interacción entre ambas variables categóricas influían de manera significativa en la posibilidad de infección por hemoparásitos. Los resultados del modelo indicaron que tanto la ciudad como la zona de estudio y su interacción explicaron de manera significativa la posibilidad de infección por hemoparásitos (Tabla 6).



**Figura 3649.** Prevalencia de hemoparásitos según zona de estudio en cada ciudad (n = 201).



**Tabla 7.** Regresión logística de la probabilidad de infección por hemoparásitos según ciudad, zona y la interacción de ambas variables (n = 240).

Variable	B	S.E.	Wald	g.l.	$\rho$	Exp (B)
<b>Ciudad</b>	-1.413	0.557	0.441	1	0.011	0.243
<b>Zona</b>	-1.747	0.502	12.095	1	0.001	0.174
<b>Ciudad x Zona</b>	1.800	0.745	5.839	1	0.016	6.050

#### 4.2.3. Prevalencia de hemoparásitos vs. ciudad y zona de estudio

##### **(*Ammodramus aurifrons*).**

A continuación, se analiza la posibilidad de infección por hemoparásitos según ciudad y zona de estudio de forma detallada para cada especie de ave.

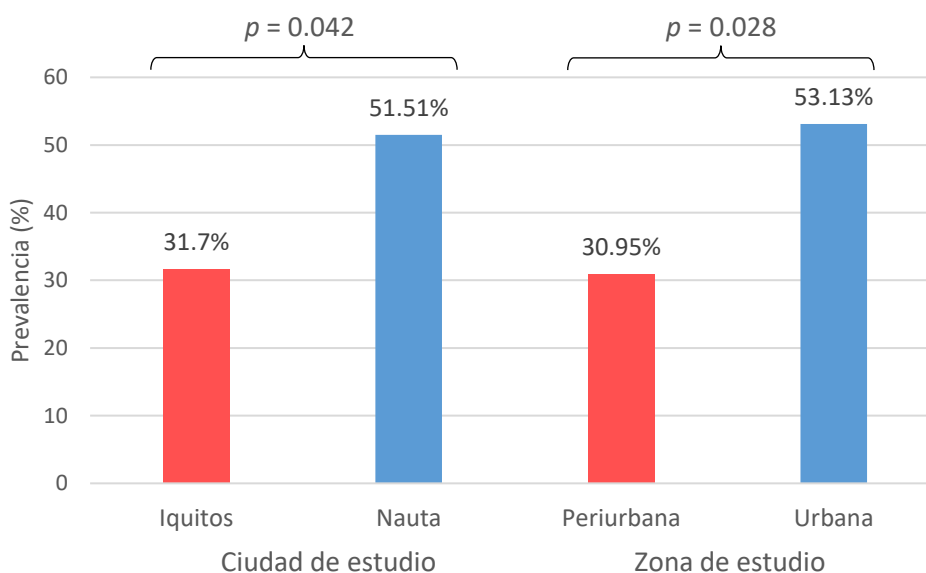
Se realizó un análisis de regresión logística para comprobar, de manera conjunta, si la ciudad, la zona de estudio y la interacción entre ambas variables categóricas influían de manera significativa en la posibilidad de infección por hemoparásitos en *A. aurifrons* (n = 74). Los resultados del modelo muestran que tanto la ciudad como la zona de estudio explicaron de manera significativa la posibilidad de infección por hemoparásitos (Tabla 8), siendo mayor la prevalencia en Nauta (51.51%) que en Iquitos (31.70%), y en la zona urbana (53.13%) que en la periurbana (30.95%) (Tabla 9, Figura 5). La interacción entre la ciudad y la zona de estudio no influyó significativamente en la posibilidad de infección por hemoparásitos (Tabla 8).

**Tabla 8.** Regresión logística de la probabilidad de infección por hemoparásitos según ciudad, zona y la interacción de ambas variables en *A. aurifrons*.

Variable	B	S.E.	Wald	g.l.	p	Exp (B)
<b>Ciudad</b>	-1.584	0.778	4.150	1	0.042	0.205
<b>Zona</b>	-1.689	0.770	4.809	1	0.028	0.185
<b>Ciudad x Zona</b>	1.753	1.058	2.748	1	0.097	0.773

**Tabla 9.** Número de individuos no infectados e infectados de *A. aurifrons* analizados según ciudad y zona de estudio en Iquitos y Nauta (n = 74).

<i>A. aurifrons</i>	Zona	No Infectado	Infectado	Total
<b>Iquitos</b>	Periurbana	19	9	28
	Urbana	9	4	13
<b>Nauta</b>	Periurbana	10	4	14
	Urbana	6	13	19

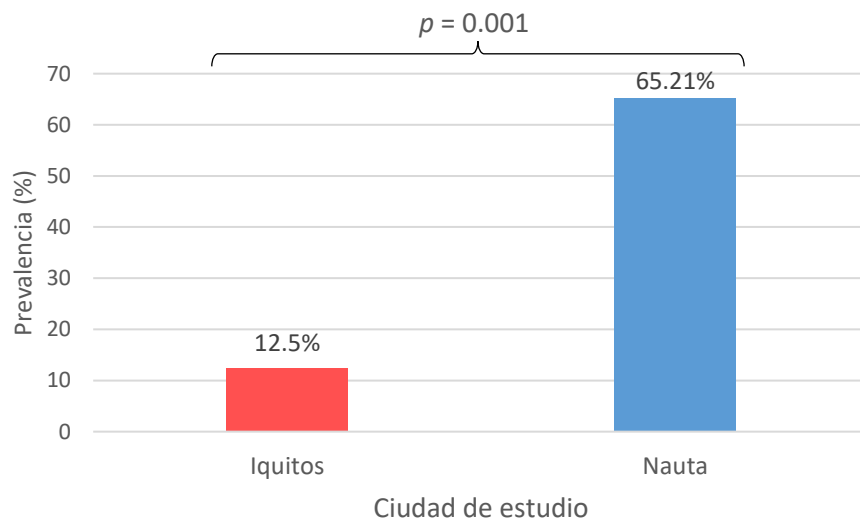


**Figura 5.** Prevalencia por hemoparásitos en *A. aurifrons* (n = 74) según ciudad y zona de estudio en Iquitos y Nauta.

#### 4.2.4. Prevalencia de hemoparásitos vs. ciudad (*Cacicus cela*).

Todos los ejemplares de *C. cela* fueron capturados en la zona periurbana. Consecuentemente, únicamente se pudo establecer comparación de prevalencia de hemoparásitos entre ciudades de estudio.

La prevalencia por hemoparásitos varió según la ciudad de estudio en ejemplares de *C. cela* (Test de Chi-cuadrado:  $\chi^2 = 10.665$ , g.l. = 1,  $p = 0.001$ ), siendo superior en Nauta (65.21%) que en Iquitos (12.5%) (Tabla 10, Figura 6).



$$\chi^2 = 10.665, \text{ g.l.} = 1, p = 0.001$$

**Figura 6.** Prevalencia de hemoparásitos en *C. cela* (n = 39) según ciudad de estudio.

**Tabla 10.** Número de individuos no infectados e infectados de *C. cela* analizados según ciudad de estudio (n = 39).

<i>C. cela</i>	No Infectado	Infectado	Total	Prevalencia (%)
Iquitos	14	2	16	12.5
Nauta	8	15	23	65.21

#### 4.2.5. Prevalencia de hemoparásitos vs. ciudad y zona de estudio

##### *(Thraupis episcopus)*.

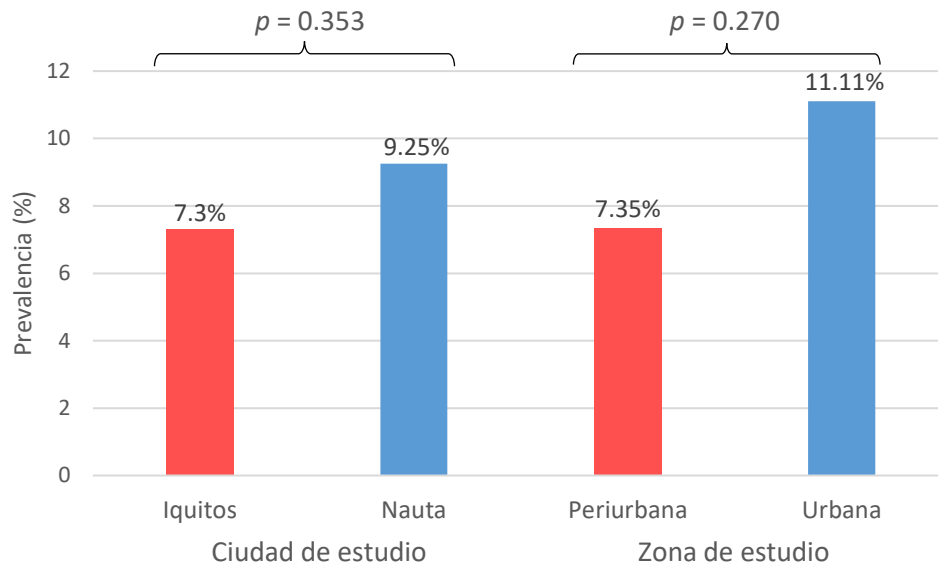
Mediante un análisis de regresión logística se comprobó, de manera conjunta, si la ciudad, la zona de estudio y la interacción entre ambas variables categóricas influían de manera significativa en la posibilidad de infección por hemoparásitos en *T. episcopus* (n = 95). Los resultados del modelo mostraron que ninguna de las variables analizadas influyó de manera significativa en la posibilidad de infección por hemoparásitos (Tabla 11). La prevalencia de hemoparásitos fue similar en Nauta (9.25%) que en Iquitos (7.30%), y en la zona urbana (11.11%) que en la periurbana (7.35%) (Tabla 12, Figura 7). La interacción entre la ciudad y la zona de estudio tampoco influyó significativamente en la posibilidad de infección por hemoparásitos (Tabla 11).

**Tabla 11.** Regresión logística de la probabilidad de infección por hemoparásitos según ciudad, zona y la interacción de ambas variables en *T. episcopus*.

Variable	B	S.E.	Wald	g.l.	p	Exp (B)
Ciudad	-1.204	1.295	0.864	1	0.353	0.300
Zona	-1.086	0.985	1.217	1	0.270	0.338
Ciudad x Zona	1.352	1.606	0.708	1	0.400	3.865

**Tabla 12.** Número de individuos no infectados e infectados de *T. episcopus* analizados según ciudad y zona de estudio (n = 95).

<i>T. episcopus</i>	Zona	No Infectado	Infectado	Total
Iquitos	Periurbana	23	2	25
	Urbana	15	1	16
Nauta	Periurbana	40	3	43
	Urbana	9	2	11



**Figura 7.** Prevalencia de hemoparásitos en *T. episcopus* (n = 95) según ciudad y zona de estudio.

#### 4.2.6. Prevalencia de hemoparásitos vs. ciudad y zona de estudio

##### **(*Troglodytes aedon*).**

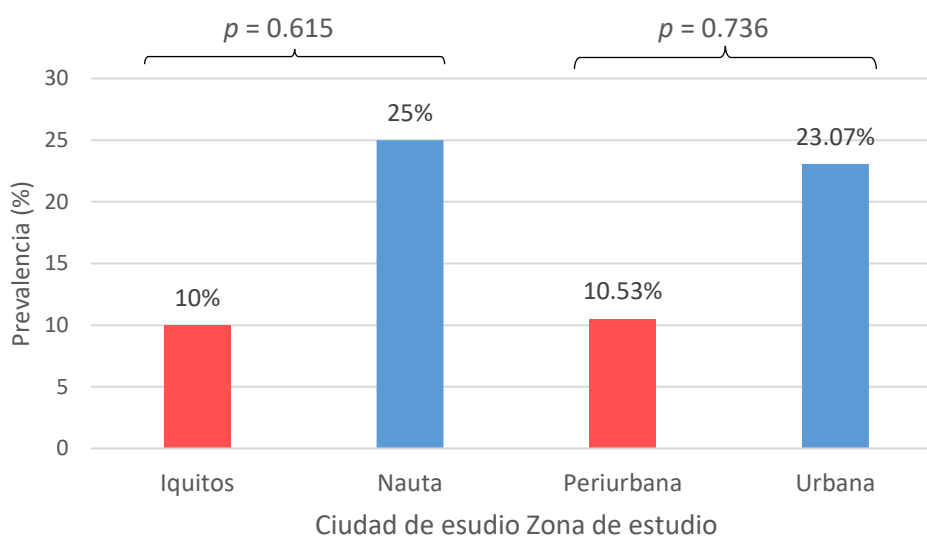
Se realizó un análisis de regresión logística para analizar, de manera conjunta, si la ciudad, la zona de estudio y la interacción entre ambas variables categóricas influían de manera significativa en la posibilidad de infección por hemoparásitos en *T. aedon* (n = 32). Los resultados del modelo mostraron que ninguna de las variables analizadas influyó de manera significativa en la posibilidad de infección por hemoparásitos. Aunque la prevalencia de hemoparásitos fue mayor en Nauta (25%) que en Iquitos (10%), y en la zona urbana (23.07%) que en la periurbana (10.53%), estas diferencias no fueron significativas (Tablas 13 - 14, Figura 8). La interacción entre la ciudad y la zona de estudio tampoco influyó significativamente en la posibilidad de infección por hemoparásitos (Tabla 13).

**Tabla 13.** Regresión logística de la probabilidad de infección por hemoparásitos según ciudad, zona y la interacción de ambas variables en *T. aedon*.

Variable	B	S.E.	Wald	g.l.	p	Exp (B)
<b>Ciudad</b>	-0.693	1.378	0.253	1	0.615	0.500
<b>Zona</b>	-0.470	1.396	0.113	1	0.736	0.625
<b>Ciudad x Zona</b>	-0.486	2.056	0.056	1	0.813	0.615

**Tabla 14.** Número de individuos no infectados e infectados de *T. aedon* analizados según ciudad y zona de estudio (n = 32).

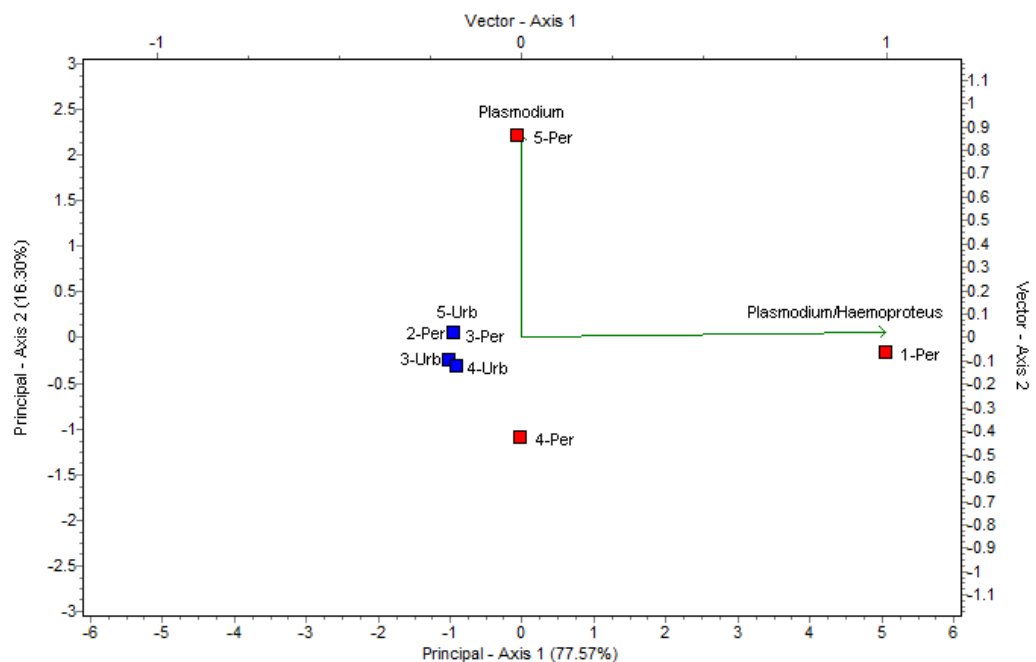
<i>T. aedon</i>	Zona	No Infectado	Infectado	Total
<b>Iquitos</b>	Periurbana	13	1	14
	Urbana	5	1	6
<b>Nauta</b>	Periurbana	4	1	5
	Urbana	5	2	7



**Figura 8.** Prevalencia de hemoparásitos en *T. aedon* (n = 32) según ciudad y zona de estudio.

#### 4.2.7. Similitud de hemoparásitos entre aves de zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos, Loreto - Perú.

El análisis de componentes principales indicó que la variabilidad en la muestra puede ser explicada al 77.5% en el 1er componente y el 16.2% en el 2do componente, en conjunto pueden explicar el 93.8% de variabilidad entre las ciudades urbanas y periurbanas. El 1er componente indicó que *Plasmodium/Haemoproteus* fue el más importante o abundante en la zona periurbana, asimismo, el 2do componente indicó que *Plasmodium* spp. fue el más abundante en la zona periurbana. La comparación entre la zona urbana y periurbana de la ciudad de Iquitos mostró que hay diferencia entre ambas zonas (ANOSIM,  $p = 0.01$ ). En resumen, hay diferencia en los hemoparásitos de aves en la zona urbana y periurbana de la ciudad de Iquitos, *Plasmodium/Haemoproteus* y *Plasmodium* spp. están más presentes en las aves periurbanas (Figura 9).



**Figura 6786.** Análisis de componentes principales de los hemoparásitos en aves de las zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos, Loreto - Perú.

#### 4.2.8. Similitud de hemoparásitos entre aves de zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Nauta, Loreto - Perú.

El análisis de componentes principales indicó que la variabilidad en la muestra puede ser explicada al 79.3% en el 1er componente y 20.1% en el 2do componente; en conjunto, ambos componentes pueden explicar el 99.4% de variabilidad entre las ciudades urbanas y periurbanas. El 1er componente indicó que *Plasmodium* spp. fue el más importantes o abundante en la zona periurbana. Asimismo, el 2do componente indicó que *Plasmodium/Haemoproteus* fue el más abundante en la zona periurbana. La comparación entre la zona urbana y periurbana de la ciudad de Nauta mostró que no hay diferencia entre ambas zonas (ANOSIM,  $p = 0.45$ ). En resumen, no hubo diferencia en los hemoparásitos de aves en la zona urbana y periurbana de la ciudad de Nauta, y los hemoparásitos *Plasmodium* spp. y *Plasmodium/Haemoproteus* están más presentes en las aves urbanas y periurbanas (Figura 10).

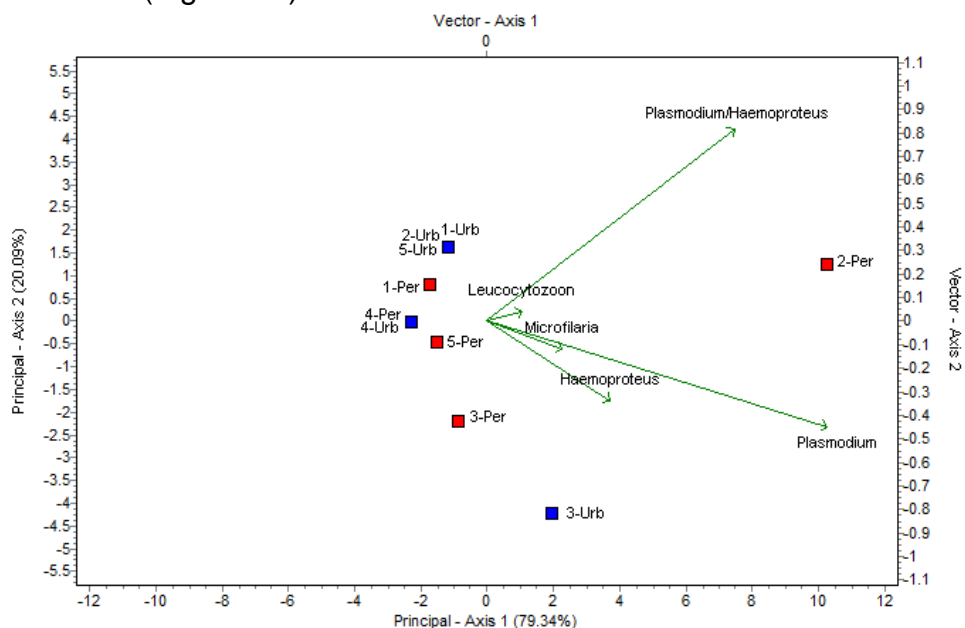


Figura 7041. Análisis de componentes principales de los hemoparásitos en aves de las zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Nauta, Loreto - Perú.



#### 4.3. Diferenciación de los índices de hemoparásitos de las zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta, Loreto - Perú.

En el análisis de todas las especies de aves en ambas ciudades, se observó una prevalencia baja en Iquitos (16.95%) y media en Nauta (32.79%). Asimismo, para el análisis de zonas urbanas y periurbanas, fueron excluidos los individuos de la especie *Cacicus cela*, donde se registró una prevalencia baja en zonas periurbanas (15.50%) y media en zonas urbanas (31.94%).

En la ciudad de Iquitos se evidenció prevalencias bajas en ambas zonas, siendo ligeramente mayor en zona periurbana (17.91%), que en urbana (17.14%), sin diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0.923$ ). Mientras que, en Nauta la prevalencia fue baja en zona periurbana (12.90%) y alta en zona urbana (45.94%), con diferencia estadística significativa ( $p = 0.001$ ).

Además, el análisis de componentes principales (ACP), mostró para cada ciudad los principales hemoparásitos según su abundancia. En la ciudad de Iquitos existió variabilidad conjunta al 93.8% entre las zonas urbanas y periurbanas, estando el 1er componente al 77.5% y el 2do al 16.2%. El hemoparásito más abundante fue *Plasmodium/Haemoproteus* en la zona periurbana en el 1er componente y *Plasmodium* spp. en la zona periurbana en el 2do componente. El análisis de similitud evidenció diferencia estadística ( $p = 0.01$ ) entre ambas zonas, donde las zonas (los puntos azules y rojos) se encuentran dispersos en el gráfico, lo que indicó que *Plasmodium/Haemoproteus* fue el más abundante entre las zonas. Mientras que, en Nauta indicó una variabilidad conjunta al 99.4% entre las zonas urbanas y periurbanas, estando el 1er componente al 79.3% y el 2do componente el 20.1%. El hemoparásito más abundante fue *Plasmodium* spp. en la zona

periurbana en el 1er componente y *Plasmodium/Haemoproteus* en la zona periurbana lo fue en el 2do componente. El análisis de similitud ( $p = 0.45$ ) evidenció que no hay diferencia estadística entre ambas zonas, donde las zonas (puntos azules y rojos) se encontraron agrupados en el gráfico, encontrándose a *Plasmodium* spp. como el más abundante entre las zonas.

## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

La presente investigación es una de las primeras en estudiar hemoparásitos en aves de las zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta. En este estudio se determinó una baja prevalencia (25%) de infección por hemoparásitos. Este resultado es ligeramente superior a lo encontrado en otros estudios en Perú; como Lima<sup>(17)</sup>, Madre de Dios<sup>(16)</sup> y Loreto<sup>(18)</sup>, donde reportaron prevalencias de 24.82%, 10% y 16.25% respectivamente, realizados en hábitats diferentes a nuestro estudio. En otros países del Neotrópico como Brasil<sup>(9)</sup> y Venezuela<sup>(14)</sup>; registraron prevalencias bajas y medias (16.94% y 46%). Mientras que, en España<sup>(20)</sup>, la prevalencia fue superior (59%). Las bajas prevalencias de parásitos sanguíneos registradas en países neotropicales pueden deberse a la gran diversidad de especies de aves presentes en estas zonas, como lo afirman Inga W. 2017<sup>(16)</sup>; Chang D. 2017<sup>(50)</sup>; Praderes G. 2016<sup>(14)</sup>. Además, demostrarían un equilibrio entre hospedero, parásito y vector<sup>(17)</sup>.

Existieron diferencias significativas en la prevalencia de infección en las cuatro especies de aves en estudio. El ave más infectada por hemoparásitos fue *Cacicus cela* (43.59%), seguido de *Ammodramus aurifrons* (40.54%), registrando a *Plasmodium*, *Haemoproteus* y *Plasmodium/Haemoproteus* como los más comunes. Las otras dos aves en estudio, *Thraupis episcopus* y *Troglodytes aedon* mostraron prevalencias menores, 15.62% y 8.42%, correspondientemente, registrándose a *Plasmodium/Haemoproteus* como el más común. Cabe mencionar que, en *A. aurifrons*, *T. episcopus* y *T. aedon* se encontró *Leucocytozoon*, y en *C. cela* y *A. aurifrons* a microfilarias. Es decir, las cuatro especies de aves en estudio mostraron infecciones por hemoparásitos. Del mismo modo, Ricopa & Villa (2016) en la

RNAM, mencionan que el ave más parasitada fue *Cacicus cela* con *Plasmodium* (3.75%), *Haemoproteus* (0.42%), microfilarias (2.08%) y *Plasmodium/Haemoproteus* (0.42%)<sup>(18)</sup>, siendo estas prevalencias similares a lo encontrado en nuestro estudio. A diferencia, Romero A (2019), estudió la prevalencia y análisis filogenético de hemoparásitos en colonias de *C. cela* en 4 lugares de la carretera Iquitos - Nauta, mostrando una prevalencia alta de *Plasmodium* (83.1%)<sup>(19)</sup>. De acuerdo con lo mencionado por Bennett G. 1978, citado por Romero A. 2019 y Chang D. 2017, los mosquitos utilizan estrategias olfativas, como la atracción hacia el CO<sub>2</sub>, por lo que la tendencia a la formación de colonias reproductivas, como es en el caso de los paucares, podría aumentar la atracción de los vectores y con ello elevar la tasa de transmisión y prevalencia de hemoparásitos<sup>(19)(26)(50)</sup>.

El hemoparásito más prevalente en este estudio fue *Plasmodium* spp. con 11.67% de los 240 individuos muestreados, seguido de *Plasmodium/Haemoproteus* con 11.25%, *Haemoproteus* con 3.33%, microfilarias con 2.5% y *Leucocytozoon* con 1.67%. Cabe indicar que, en el caso de *Plasmodium/Haemoproteus* no se logró diferenciar ambos géneros porque no se realizó secuenciamiento de ADN. Asimismo, en bosques primario y secundario de la Reserva Nacional Allpahuayo Mishana (RNAM) (Ricopa & Villa, 2016), reportaron como hemoparásito más predominante a *Plasmodium* con 10%, seguido de *Haemoproteus* con 2.9%, microfilarias 2.5% y 0.83% de *Plasmodium/Haemoproteus*<sup>(18)</sup>. Del mismo modo, en tres zonas forestales de Madre de Dios se reportó a *Plasmodium* con 5.7% como el más abundante, seguido de *Haemoproteus* con 2.9% y *Leucocytozoon* con 1.5%<sup>(16)</sup>. En zonas neotropicales como Brasil<sup>(22)</sup> y Venezuela<sup>(14)</sup> reportaron también a *Plasmodium* como el más prevalente. En contraste, en regiones paleárticas

registraron a *Haemoproteus* y *Leucocytozoon* como los hemoparásitos más abundantes<sup>(28)</sup>. Estas diferencias estarían relacionadas con la composición de las comunidades de vectores, mosquitos culícidos para *Plasmodium*, mosquitos ceratopogónidos y moscas hipobóscidos para *Haemoproteus*, y moscas simúlidos para *Leucocytozoon*; estos parásitos son cosmopolitas y se encuentran en todos los continentes, excepto en la Antártida<sup>(5)</sup>. Los factores asociados a la distribución de vectores aviares puede estar determinada por la diversidad de hospederos intermediarios (aves) y definitivos (vectores), también por factores ambientales como temperaturas, precipitaciones y tipo de hábitat (cobertura vegetal, cuerpos de agua y/o ríos), además puede estar facilitada por la migración de aves y estar restringida por barreras biogeográficas<sup>(51)</sup>. En la actualidad, no se conocen sobre los vectores responsables de la transmisión de los hemoparásitos en nuestra zona, por lo que es importante hacer estudios relacionados en este tema.

Este estudio reporta por primera vez en la ciudad de Iquitos y Nauta la presencia de *Leucocytozoon* en *A. aurifrons*, *T. episcopus* y *T. aedon*, aunque con baja prevalencia (1.7%). En el Perú, en pavos de granjas comerciales de la ciudad de Lima y alrededores<sup>(25)</sup>, se quiso comprobar la presencia de *Leucocytozoon*, con resultados negativos. Hasta el año 2015, no se reportó dicho parásito en nuestro país<sup>(52)</sup>. Tiempo después, en *Columba livia* “palomas de Castilla” de Lima, se hallaron los primeros casos de *Leucocytozoon*, aunque con baja prevalencia (1.9%)<sup>(21)</sup>. Ese mismo año, en Madre de Dios registraron a este hemosporidio con 14% de prevalencia en *Thraupis*<sup>(16)</sup>. Sin embargo, en Colombia, 7 de 8 individuos de *Turdus fuscater* estuvieron infectados con *Leucocytozoon*, registrándose una prevalencia alta (87.5%), confirmando el primer hallazgo para la sabana colombiana<sup>(24)</sup>. Al sur de España, se reporta a *Leucocytozoon* con 30% de

prevalencia en *Passer domesticus* “gorriones comunes”<sup>(20)</sup>. En este contexto, la baja prevalencia de *Leucocytozoon* en la presente investigación se explicaría por la escasez de vectores ornitofílicos apropiados en zonas neotropicales, encontrándose mayores prevalencias en el Neártico y Paleártico, donde sí hay una mayor presencia de estos vectores<sup>(52)</sup>. Además, las infecciones por *Leucocytozoon* en zonas cálidas como Loreto se podría explicar por la presencia de aves migratorias infectadas que los transportan de otras zonas donde la prevalencia es alta<sup>(21)</sup>; confirmándose por el tiempo de muestro de este estudio, que fueron de febrero a mayo, meses que coinciden con el desplazamiento de las aves procedentes de la región neártica a nuestro país<sup>(53)</sup>.

Las co-infecciones fueron halladas en 11 de las aves examinadas, resultando *A. aurifrons*, *C. cela* y *T. episcopus* con dos o tres hemoparásitos, sin significancia estadística ( $p < 0.167$ ). Siete de ellas registraron *Haemoproteus* y *Plasmodium*, dos tuvieron *Haemoproteus/Plasmodium* y *Leucocytozoon*, otros dos ejemplares reportaron *Haemoproteus/Plasmodium* y microfilarias. Resultados similares fueron encontrados por Carlos Nancy en Lima, quien reportó biparasitismo por *Haemoproteus* y *Plasmodium* y triparasitismo, por *Haemoproteus*, *Plasmodium* y *Leucocytozoon* en *Columba livia*<sup>(21)</sup>. En Venezuela, Praderes encontró una infección mixta por *Plasmodium* y microfilarias<sup>(14)</sup>. Estas coinfecciones son poco frecuentes y pueden suceder posiblemente por una especificidad en los hemoparásitos hacia ciertas especies de aves. Es por ello, desde el uso de técnicas moleculares para la detección de parásitos sanguíneos han aumentado el número de coinfecciones y en efecto pudieron estar subestimadas<sup>(54)</sup>.

20 Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la prevalencia de infección por hemoparásitos según la ciudad y zona de estudio. Es

decir, en Nauta la prevalencia fue mayor (32.79%) que en Iquitos (16.95%), así como en la zona urbana fue mayor (31.94%) que en la periurbana (15.50%). Cabe mencionar que, para el análisis de las zonas de estudio se excluyeron a *C. cela*, porque fueron capturados únicamente en zona periurbana. Mientras que al relacionar la prevalencia de hemoparásitos entre la ciudad y la zona de estudio se observó que en Iquitos no hubo diferencias entre zona urbana (17.14%) y periurbana (17.91%); sin embargo, en Nauta la prevalencia en zona urbana fue superior (45.94%) a la periurbana (12.90%). El análisis de regresión logística comprobó, de manera conjunta, que la ciudad, la zona de estudio y su interacción influyeron de manera significativa en la posibilidad de infección por hemoparásitos. Asimismo, según este análisis, solo en *A. aurifrons* se comprobó que tanto la ciudad como la zona de estudio mostraron significancia estadística en la posibilidad de infección por hemoparásitos. Mientras que, *C. cela* demostró significancia estadística únicamente entre ciudades. Sin embargo, la interacción entre la ciudad y la zona no mostró significancia estadística en las cuatro aves estudiadas. Estos resultados concuerdan con la investigación desarrollada en Brasil, donde se registraron prevalencias en tres áreas de estudio: Cerrado urbanizado (54.7%), Cerrado de transición (50.2%) y Cerrado Intacto (41.4%), con diferencias significativas<sup>(23)</sup>. Por el contrario, en el Perú analizaron “palomas de Castilla” y obtuvieron 100% de infección en aves de zona rural y 87.5% en aves de zona urbana, sin diferencia estadística significativa entre ambos lugares<sup>(21)</sup>. A esto se suma, una investigación en “gorriones comunes” donde la prevalencia fue de 67% en individuos provenientes de un hábitat natural, 60% en los de hábitat rural y 52% en los de hábitat urbano<sup>(20)</sup>. Aunque algunos estudios encontraron una menor prevalencia de infección en aves en ambientes urbanos que en hábitats no

urbanos<sup>(55)(56)</sup>, <sup>40</sup> nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores que muestran una mayor probabilidad de infección por hemosporidios en aves que habitan zonas más urbanas o antropizadas. Por ejemplo, Hernández-Lara et al. (2017)<sup>(57)</sup> registraron una mayor prevalencia y parasitemia en el saltón gargantillo (*Arremon brunneinucha*) de bosques urbanos en comparación con bosques preservados con menor grado de antropización. Igualmente, Tinajero et al. (2019)<sup>(58)</sup> encontraron una mayor prevalencia de infección por *Haemoproteus tinnunculi* en cernícalos americanos (*Falco sparverius*) que habitaban en áreas urbanizadas en comparación con individuos que vivían en zonas no urbanas. Estas diferencias en infección entre hábitats urbanos y periurbanos podrían explicarse porque las aves que viven en zonas urbanas podrían mostrar un sistema inmunitario comprometido, lo que favorecería la adquisición de la infección por hemosporidios. En este sentido, las alteraciones de los hábitats por acción humana (cambios en el uso del suelo, urbanización) se han identificado como factores estresantes para las aves, que pueden afectar negativamente la respuesta inmunitaria de las mismas<sup>(59)</sup> y aumentar la probabilidad de infección por parásitos hemosporidios<sup>(60)</sup>. Asimismo, la mayor presencia de contaminantes en zonas de mayor grado de urbanización podría afectar la función inmunológica y hacer que las aves sean propensas a adquirir nuevas infecciones por hemosporidios<sup>(2)(61)</sup>.

Según el análisis de componentes principales (ACP), existió una diferencia estadística significativa en los hemoparásitos de las aves procedentes de ambas zonas de Iquitos, encontrándose a *Plasmodium/Haemoproteus* y *Plasmodium* como los parásitos más abundantes en la zona periurbana. En Nauta *Plasmodium/Haemoproteus* y *Plasmodium* también fueron los más frecuentes, pero en ambas zonas de estudio, sin diferencia estadística significativa. Estos hallazgos



probablemente se deban a factores estructurales de la ciudad de Iquitos y Nauta; evidenciándose en lo reducido que es el casco urbano de Nauta, en tanto que, en Iquitos se observa una zona urbana mucho más extensa y delimitada por los cuatro distritos. En tal sentido, la zona periurbana de Nauta está considerablemente cerca a la urbana y por lo tanto las mismas aves pueden habitar en ambos lugares. A esto se suma la caracterización de sus espacios periurbanos, los cuales presentan más cobertura vegetal que en Iquitos, observándose el adentramiento del bosque hacia la urbe de Nauta, lo cual se aprecia en el mapa de ambas ciudades<sup>(44)(46)</sup> (Figura 1).

Finalmente,<sup>38</sup> los resultados del presente estudio confirman la hipótesis de que los hemoparásitos aviáres registrados son diferentes en<sup>3</sup> las zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta.

## CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

1. Se identificaron los siguientes hemoparásitos: *Plasmodium*, *Haemoproteus*, *Plasmodium/Haemoproteus*, *Leucocytozoon* y microfilarias.
2. La prevalencia de hemoparásitos fue baja (25%) en las aves capturadas de zonas urbanas y periurbanas de la ciudad de Iquitos y Nauta, donde se reportaron los siguientes hemoparásitos: *Plasmodium* con (11.67%), *Plasmodium/Haemoproteus* (11.25%), *Haemoproteus* (3.33%), microfilarias (2.5%) y *Leucocytozoon* (1.67%). Este último, se registró por primera vez en la región Loreto.
3. Existió diferencia significativa en la prevalencia de hemoparásitos entre ambas ciudades de estudio, en Nauta (32.79%) y en Iquitos (16.95%). En cuanto a las zonas, la zona urbana fue la más prevalente en infecciones (31.94%) siendo menor en la zona periurbana (15.50%).
4. Los hemoparásitos similares en ambas zonas de Iquitos fueron *Plasmodium/Haemoproteus* y *Plasmodium* con significancia estadística; así también en ambas zonas de Nauta, fueron similares los mismos parásitos, pero sin significancia estadística.

## **CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES**

- Es preciso utilizar técnicas de secuenciamiento para conocer los linajes genéticos de hemoparásitos aviares.
- Continuar con más estudios de hemoparásitos aviares en zonas urbanas y periurbanas, con un mayor número de especies de aves.
- Es importante realizar estudios sobre los vectores de hemoparásitos aviares en estas zonas.

## ● 18% de similitud general

Principales fuentes encontradas en las siguientes bases de datos:

- 18% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 6% Base de datos de trabajos entregados
- 3% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

### FUENTES PRINCIPALES

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	<b>repositorio.unapiquitos.edu.pe</b> Internet	5%
2	<b>cdn1.buuteeq.com</b> Internet	2%
3	<b>unapiquitos on 2023-05-03</b> Submitted works	2%
4	<b>virtual.unal.edu.co</b> Internet	1%
5	<b>saber.ucv.ve</b> Internet	<1%
6	<b>repositorio.upch.edu.pe</b> Internet	<1%
7	<b>docplayer.es</b> Internet	<1%
8	<b>vdocumento.com</b> Internet	<1%

9	<b>repositorio.utc.edu.ec</b> Internet	<1%
10	<b>repositorio.uap.edu.pe</b> Internet	<1%
11	<b>fao.org</b> Internet	<1%
12	<b>repositorio.unal.edu.co</b> Internet	<1%
13	<b>hdl.handle.net</b> Internet	<1%
14	<b>evidencia.midis.gob.pe</b> Internet	<1%
15	<b>coursehero.com</b> Internet	<1%
16	<b>scielo.org.pe</b> Internet	<1%
17	<b>creativecommons.org</b> Internet	<1%
18	<b>pesquisa.bvsalud.org</b> Internet	<1%
19	<b>repositorio.unsch.edu.pe</b> Internet	<1%
20	<b>researchgate.net</b> Internet	<1%

21	<b>datospdf.com</b>	Internet	<1%
22	<b>unapiquitos on 2023-01-11</b>	Submitted works	<1%
23	<b>alicia.concytec.gob.pe</b>	Internet	<1%
24	<b>avesdemerida.wordpress.com</b>	Internet	<1%
25	<b>repositorio.uraccan.edu.ni</b>	Internet	<1%
26	<b>Adolfo G. Navarro-Sigüenza, Ma. Fanny Rebón-Gallardo, Alejandro Gor...</b>	Crossref	<1%
27	<b>Escuela De Ingenieria De Antiquia - Columbia on 2022-03-05</b>	Submitted works	<1%
28	<b>E Castillo-Sánchez, JA Rosales-Casían, G Pérez-Ponce-de-León. "Helm...</b>	Crossref	<1%
29	<b>Submitted on 1686845354779</b>	Submitted works	<1%
30	<b>"Contemporary Mexico", University of California Press, 1976</b>	Crossref	<1%
31	<b>commons.und.edu</b>	Internet	<1%
32	<b>dspace.utpl.edu.ec</b>	Internet	<1%

33	<b>unapiquitos on 2023-01-11</b>	<1%
	Submitted works	
34	<b>unapiquitos on 2023-01-11</b>	<1%
	Submitted works	
35	<b>Consortio CIXUG on 2018-01-31</b>	<1%
	Submitted works	
36	<b>Escuela Superior Politécnica del Litoral on 2023-02-14</b>	<1%
	Submitted works	
37	<b>Fundación Universitaria Juan N. Corpas on 2022-10-18</b>	<1%
	Submitted works	
38	<b>S. Toselli, L. Argnani, E. Gualdi-Russo. "Growth of Chinese Italian infant...</b>	<1%
	Crossref	
39	<b>article.wn.com</b>	<1%
	Internet	
40	<b>bvs.sld.cu</b>	<1%
	Internet	
41	<b>listas.20minutos.es</b>	<1%
	Internet	
42	<b>repositorio.una.ac.cr</b>	<1%
	Internet	
43	<b>revistas.iiap.org.pe</b>	<1%
	Internet	
44	<b>tcp.verroes.cica.es</b>	<1%
	Internet	

45

**ilustrados.com**

Internet

<1%