

Reclasificación taxonómica de *Plasmodium juxtancleare* del subgénero *Novyella* Versiani & Gomes, 1941 a *Bennettinia* Valkiūnas, 1997

Taxonomic re-classification of Plasmodium juxtancleare of the subgenus Novyella Versiani & Gomes, 1941 to Bennettinia Valkiūnas, 1997

Karen R. Valera^{1*}, Ramón Escalona¹, Carmen J. Silva-Sánchez^{1,2} & José Romero Palmera^{1,2}

RESUMEN

En este trabajo se presenta la reclasificación taxonómica de la especie *Plasmodium Novyella juxtancleare* Versiani & Gomes, 1941 reportadas por Gabaldon en el año 1976 a el nuevo subgénero establecido por Valkiūnas, 1997 *Plasmodium Bennettinia juxtancleare* basado en características morfológicas y medidas morfométricas de 232 extendidos de sangre periférica de la cepa 8185 en el hospedador *Gallus gallus*, almacenados en la Colección de Parásitos Maláricos y Otros Haemosporidios "Dr. Arnoldo Gabaldon". La actualización se basó en la revisión bibliográfica, diagnóstico microscópico a 1000x y medidas morfométricas con ImageJ. Se observaron un total de 13.923 formas parasitarias, de las cuales el 56,65% (7888/13923) correspondieron a trofozoitos, seguido de 21,66% (3016/13923) por esquizontes presegmentados, 15,00% (2088/13923) de microgametocitos, 5,00% (696/13923) de macrogametocitos y finalmente 1,69% (235/13923) por esquizontes segmentados. Todos con características correspondientes a *Plasmodium Bennettinia juxtancleare*, mostrando un % de coincidencia de 99,29% en los trofozoitos, 99,50% esquizontes presegmentados, 99,15% esquizontes segmentados, 99,62% microgametocitos y 99,71% en los macrogametocitos respectivamente, conllevando a la reclasificación taxonómica de la especie malárica *juxtancleare* desde el subgénero *Novyella* a *Bennettinia* quedando así 232 láminas analizadas con diagnóstico de *Plasmodium Bennettinia juxtancleare*.

Palabras claves: *Plasmodium*, Subgénero, Galliformes, *Novyella*, *Bennettinia*.

SUMMARY

This work presents the taxonomic reclassification of the species *Plasmodium Novyella juxtancleare* Versiani & Gomes, 1941 reported by Gabaldon in 1976 to the new subgenus established by Valkiūnas, 1997 *Plasmodium Bennettinia juxtancleare* based on morphological characteristics and morphometric measurements of 232 extended blood peripheral strain 8185 in the host *Gallus gallus*, stored in the Collection of Malaria Parasites and Other Haemosporidios "Dr. Arnoldo Gabaldon". The update was based on the literature review, microscopic diagnosis at 1000x and morphometric measurements with ImageJ. A total of 13.923 parasitic forms were observed, of which 56,65% (7888/13923) corresponded to trophozoites, followed by 21,66% (3016/13923) by presegmented schizonts, 15,00% (2088/13923) of microgametocytes, 5,00% (696/13923) of macrogametocytes and finally 1,69% (235/13923) by segmented schizonts. All with characteristics corresponding to *Plasmodium Bennettinia juxtancleare*, showing a 99% coincidence % in trophozoites, 99,50% presegmented schizont, 99,15% segmented schizonts, 99,62% microgametocytes and 99,71% in macrogametocytes respectively, leading to the taxonomic reclassification of the *juxtancleare* malarious species from the subgenus *Novyella* to *Bennettinia*, thus leaving 232 sheets analyzed with a diagnosis of *Plasmodium Bennettinia juxtancleare*.

Key words: *Plasmodium*, Subgenus, Galliformes, *Novyella*, *Bennettinia*.

INTRODUCCIÓN

A nivel global en diferentes perfiles altitudinales, de Asia, África, Europa, Oceanía y América se encuentran ampliamente distribuidos los parásitos Haemosporidios (Sporozoa: Haemosporida)

de las familias *Plasmodiidae* (Mesnil, 1903), este grupo de protistas heteroxenos requieren de la intervención de insectos dípteros hematófagos como vectores; pueden afectar a diversas especies de vertebrados incluyendo las aves (Valkiūnas, 2005). Actualmente el género *Plasmodium* cuenta

¹ Laboratorio de Biología de Vectores y Reservorios (LBVR), Centro de Estudios de Enfermedades Endémicas y de Salud Ambiental (CEEESA), Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldon" (IAE). Maracay, Edo. Aragua, Venezuela.

² Departamento Clínico Integral de la Escuela de Bioanálisis Omaira Figueroa, Facultad de Ciencias de la Salud (FCS), Universidad de Carabobo (UC). La Morita, Edo. Aragua, Venezuela.

*Autor de Correspondencia: karenvalera00@gmail.com

con 5 subgénero, *P. Novyella*, *P. Giovannolaia*, *P. Haemamoeba*, *P. Huffia* y *P. Bennettinia* (Valkiūnas, 2005).

La gallina doméstica (*Gallus gallus* Linnaeus, 1758) perteneciente al orden Galliformes, se ha encontrado naturalmente infectada con dos especies de *Plasmodium* morfológicamente distintos; *P. gallinaceum* de ocurrencia natural restringida al Viejo Mundo, parásito de gran dimensión, que posee esquizontes redondeados o irregulares con 8 a 32 merozoítos, y gametocitos esféricos que dislocan el núcleo del eritrocito y *Plasmodium (Novyella) juxtannucleare* de ocurrencia en varios países de América Latina, Asia y África; presenta pequeñas formas parasitarias de localización juxtapuesta al núcleo del hematíes, posee esquizontes con dos u ocho merozoítos, usualmente cuatro, y gametocitos ovals que raramente dislocan el núcleo del eritrocito (Bennett & Warren, 1966; Versiani & Gomes 1941).

La infección por *Plasmodium (Novyella) juxtannucleare* fue descrita en gallina de explotaciones rústicas en los estados de Minas Gerais, Río de Janeiro, Espírito Santo, Pará, Mato Grosso del Sur y Pernambuco (Versiani & Gomes, 1941) y en gallina de explotación industrial en el Estado de Río de Janeiro (Massard, 1982). La malaria por *P. juxtannucleare* se presenta bajo una forma clínica, aguda o crónica, y es responsable por pérdidas económicas, principalmente, en los criaderos sin control sanitario adecuado (Soares, Souza & Mota, 1999).

Gabaldon, Ulloa & Montcourt, en su segundo año de búsqueda en la primera encuesta sobre malaria llevada en Venezuela en 1975, encontraron seis infecciones por una especie que debido a su morfología y a las reinoculaciones que practicaron fue clasificada como *P. juxtannucleare*, por tal motivo en el año 1976 emprendieron una búsqueda especial en donde se encontraron las infecciones para determinar con precisión la prevalencia y extensión de *Plasmodium juxtannucleare* en Venezuela.

En dicha búsqueda se examinaron 725 aves de municipios del centro, sur, este y oeste, Mostrando así la distribución geográfica de *Plasmodium Novyella juxtannucleare* en Venezuela (Fig. 1).

Gabaldon basándose en la observación de las láminas con extendidos de frotis sanguíneo

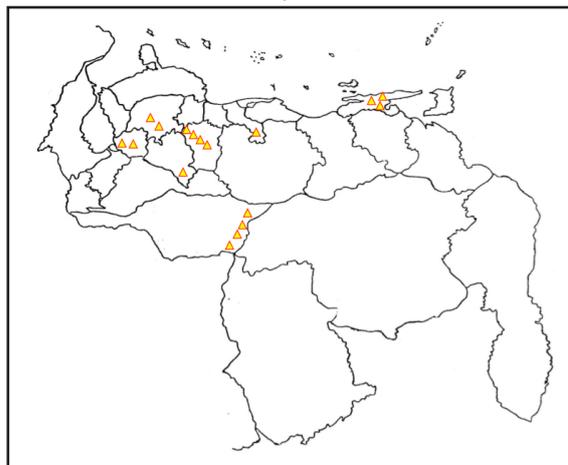
pudo describir morfológicamente los trofozoitos, esquizontes presegmentados, esquizontes segmentados, microgametocitos y macrogametocitos de *Plasmodium Novyella juxtannuclear*, publicados en el libro Malaria Aviaria en un país de la región neotropical Venezuela para el año 1998.

Más adelante en el año 1997, Valkiūnas incorpora un nuevo sub-género a la familia Plasmodiidae, *Plasmodium Bennettinia*, nombrado así en honor al profesor Gordon F. Bennett, quien junto a M. Warren y W. H. Cheong investigaron el desarrollo de este hemoparásito en el hospedador vertebrado, haciendo el descubrimiento de ooquistes pedunculados, este sub-género incluye una sola especie *Plasmodium (B) juxtannucleare*, manteniendo la designación original Versiani & Gomes, 1941, caracterizado por sus pequeños y redondos esquizontes así como los gametocitos y ooquistes pedunculados únicos.

Todas las características descritas por Valkiūnas (1997) para *Plasmodium (B) juxtannucleare* son exactamente igual a *Plasmodium (Novyella) juxtannucleare* descritas por Gabaldon en 1976.

Por tal razón, se planteó estudiar a través de la descripción morfológica y medidas morfométricas la reclasificación taxonómica de *Plasmodium juxtannucleare* del subgénero *Novyella* Versiani & Gomes, 1941 a *Bennettinia* Valkiūnas, 1997 de la Colección de Parásitos Maláricos y otros haemosporidios “Dr. Arnoldo Gabaldon”.

Fig. 1. Distribución geográfica de *Plasmodium Novyella juxtannucleare* en Venezuela. (Gabaldon Ulloa & Montcourt, 1997).



MATERIALES Y MÉTODOS

Población y áreas del estudio

La población estuvo conformada por 232 registros de láminas de extendidos de sangre periférica, teñidos con Giemsa de la cepa 8185 en hospedador aves Galliformes de la Colección de Parásitos Maláricos y otros haemosporidios “Dr. Arnoldo Gabaldon” del año 1976.

Diagnóstico

La observación microscópica se realizó en objetivo de 1000x, al identificar un hemoparásito, se realizaron micrografías empleando cámaras digitales de 16,1 megapíxeles, se detalló la morfología del mismo tomando en consideración los aspectos estructurales fundamentales, tales como tinción del citoplasma, presencia o ausencia de vacuolas, distribución del material genético y localización de núcleo que se hace evidente en frotis teñidos con Giemsa (Gabaldon, 1998). Además, se realizó la medición del ancho y largo del parásito en micras de todas las formas parasitarias (Valkiūnas *et al.*, 2005).

Análisis estadísticos

Se empleó el programa Microsoft Excel para construir la base de datos y el programa de paquete Estadístico Epidat para el cálculo del promedio, las DS e intervalo de confianza de 95%, para las medidas morfométricas se usó el programa ImageJ, por otra parte se hizo uso de Microsoft PowerPoint para mejorar y construir planchas de fotografías.

RESULTADOS

De las 232 láminas analizadas, se observaron un total de 13.923 formas parasitarias, de las cuales el 56,65% (7888/13923) correspondieron a trofozoítos, seguido de 21,66% (3016/13923) por esquizontes presegmentados, 15,00% (2088/13923) de microgametocitos, 5,00% (696/13923) de macrogametocitos y finalmente 1,69% (235/13923) por esquizontes segmentados. Todos con características correspondientes a *Plasmodium Bennettinia juxtannucleare*, mostrando un % de coincidencia de 99,29% en los trofozoítos, 99,50% esquizontes presegmentados, 99,15% esquizontes segmentados, 99,62% microgametocitos y 99,71% en los macrogametocitos respectivamente (Tabla I).

Morfológicamente los trofozoítos, se observaron redondos, de color marrón claro con uno a tres granos de pigmento. El núcleo, redondo u oval, deposición periférica. El citoplasma es azul y poco diferenciado. Algunos trofozoítos estaban muy cercanos al núcleo y otros adosados. La posición variaba de manera polar, latero-polar, lateral o ecuatorial. Las medidas de los trofozoítos tenían una media de 1,901 μm de largo y 1,581 μm de ancho (Tabla II, Fig. 2).

Los esquizontes presegmentados se observaron con dos a tres núcleos casi sin citoplasma, adosados al núcleo y de tamaño menor al del núcleo del eritrocito parasitado de color marrón oscuro, por otro lado los esquizontes segmentado se observaron con 4 núcleos con pigmento grande y negro, la medida de los esquizontes segmentados no superaban las 5 μm de largo (4,165 μm) (Tabla II, Fig. 2).

Tabla I. Formas parasitarias en replica 8185 en hospedador *Gallus gallus* de la Colección de Parásitos Maláricos y otros haemosporidios “Dr. Arnoldo Gabaldon” del año 1976.

Forma parasitaria	Frecuencia		% de coincidencia	
	Absoluta	%	n	%
Trofozoíto	7888	56,65	7832	99,29
Esquizonte presegmentado	3016	21,66	3001	99,50
Esquizonte segmentado	235	1,69	233	99,15
Microgametocito	2088	15,00	2080	99,62
Macrogametocito	696	5,00	694	99,71
Total	13923	100,00	13840	99,40

Tabla II. Medidas en μm de *P. juxtannucleare* en sangre periférica reevaluadas de la Colección de Parásitos Maláricos y otros haemosporidios “Dr. Arnoldo Gabaldon” de 1976.

Forma parasitaria	<i>P. (B) juxtannucleare</i> (μm)	
	n	X
Trofozoítos	7888	
Largo		1,901
Ancho		1,581
Esquizontes presegmentados	3016	
Largo		2,965
Ancho		1,976
Nº de merozoítos		3
Esquizontes segmentados	235	
Largo		4,165
Ancho		1,976
Nº de merozoítos		5
Microgametocitos	2088	
Largo		5,578
Ancho		4,012
Largo del núcleo		1,974
Ancho del núcleo		1,678
Nº de pigmentos		4
Macrogametocitos	696	
Largo		6,976
Ancho		5,012
Largo del núcleo		2,122
Ancho del núcleo		1,501
Nº de pigmentos		6
Total	13923	

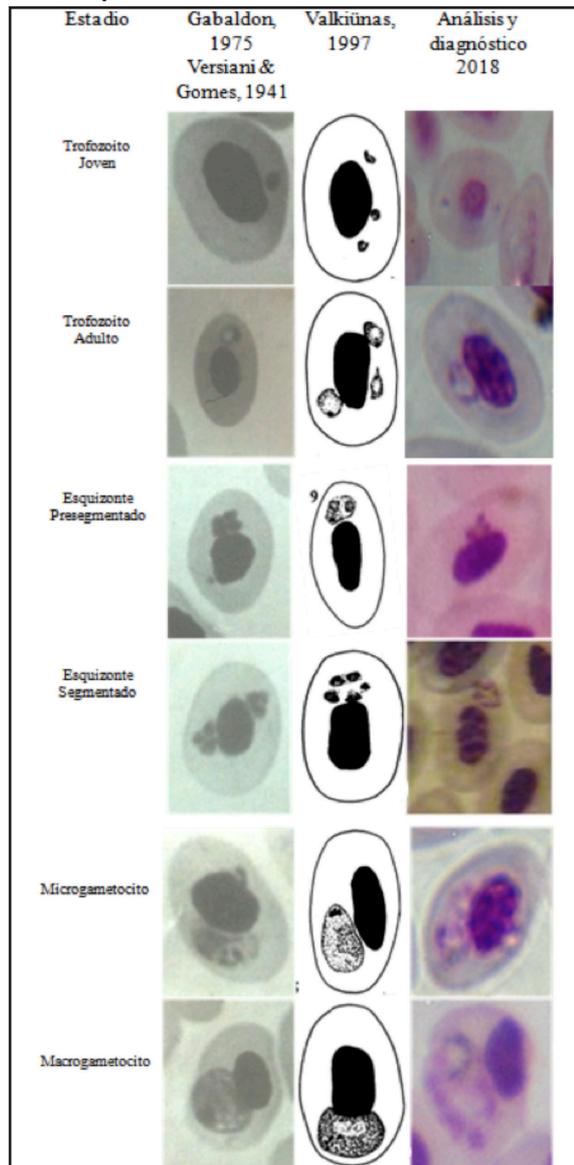
Los macrogametocitos tenían forma oval o esféricos con citoplasma azul pálido y mucho más grande que el eritrocito con medidas aproximadas de 7 μm de largo y 5 μm con pigmentos redondos en número aproximado de 3 a 7, negros menor a 1 μm , variable en el número (Tabla II, Fig. 2).

Los microgametocitos tenían una medida media de 5,578 μm de largo y 4,012 μm de ancho, con citoplasma ligeramente rosado, con núcleo diseminado, el pigmento esta frecuentemente disperso, con cuatro o cinco granos, medianamente refringente, el núcleo del eritrocito parasitado con frecuencia se encontraba desplazado (Tabla II, Fig. 2).

DISCUSIÓN

El hospedador *Gallus gallus* (gallina domestica), se ha encontrado naturalmente infectada por *Plasmodium (Novyella) juxtannucleare* de ocurrencia en varios países de América Latina, Asia y África; presenta pequeñas formas parasitarias de localización juxtapuesta al núcleo del hematíes, posee esquizontes con dos u ocho merozoítos, usualmente cuatro, y gametocitos ovales que raramente dislocan el núcleo del eritrocito (Bennett & Warren, 1966; Massard & Massard, 1981; Elisei *et al.*, 2001), reportado como *Plasmodium (Bennettinia) juxtannucleare* Valkiūnas (2005).

Fig. 2. Trofozoito Joven; Trofozoito Mediano, Esquizonte presegmentado, Esquizonte segmentado, Microgametocito y Macrogametocito con diagnóstico de Gabaldon 1975; Versiani & Gómez, 1941; Valkiūnas, 1997 y análisis y diagnósticos actuales 2018 (Replica 8185) en el hospedador *Gallus gallus*, estado Aragua, Valle Morín, Coordenadas: 9,918432, -66,97989, de la Colección de Parásitos maláricos y otros haemosporidios en aves "Dr. Arnoldo Gabaldon".



Las descripciones morfológicas de las láminas reevaluadas microscópicamente coincidieron con las características realizadas por Gabaldon, (1976) para *Plasmodium (N) juxtannucleare* con un 99,29% de coincidencia con *Plasmodium (B)*

juxtannucleare reportado por Valkiūnas (2005). Los trofozoitos redondos, de color marrón claro con uno a tres pigmentos, con media de 1,901 μm de largo y 1,581 μm de ancho coincidieron con los estudios realizados por Elisei *et al.* (2001) y Valkiūnas (2005).

En los trofozoitos jóvenes son muy pequeños, constituidos por un núcleo y una manchita de citoplasma, en algunas ocasiones se observaron raras infecciones múltiples con dos trofozoitos jóvenes dentro del mismo eritrocito, posiblemente en reticulocito. Estas raras infecciones de los eritrocitos jóvenes fueron señaladas por Bennett & Warren (1966).

Los esquizontes presegmentados se observaron en mayor cantidad, los esquizontes segmentados fueron difíciles de encontrar así como los gametocitos, coincidiendo con lo descrito por Gabaldon en el libro "MALARIA AVIARIA EN UN PAÍS DE LA REGIÓN NEOTROPICAL" publicado en el año 1998 y la investigación de Elisei *et al.*, (2001), con un 99,50% (esquizontes presegmentados) y 99,15% (esquizontes segmentados) de coincidencia con *Plasmodium (B) juxtannucleare* Valkiūnas (2005).

Los microgametocitos se encontraron en mayor frecuencia que los macrogametocitos, pues estos últimos presentaron aproximadamente la mitad de los microgametocitos encontrados, coincidiendo con la investigación realizada por Elisei *et al.* (2001), donde el número de microgametocitos fue de 34 y macrogametocitos de 18, con características morfológicas y medidas morfométricas que coinciden con los estudios realizados por Valkiūnas (2005) para *Plasmodium (B) juxtannucleare*.

CONCLUSIONES

Las descripciones morfológicas establecidas por Gabaldon en su libro "MALARIA AVIARIA EN UN PAÍS DE LA REGIÓN NEOTROPICAL" publicado en el año 1998 y los criterios publicados por Valkiūnas en 2005, coincidieron entre sí para el mismo subgénero, conllevando a la reclasificación taxonómica de la especie malárica *juxtannucleare* desde el subgénero *Novyella* a *Bennettinia* quedando así 232 láminas analizadas con diagnóstico de *Plasmodium Bennettinia juxtannucleare*.

Conflicto de Intereses

Los autores declaramos que no existe conflicto de intereses en la realización de este trabajo y los resultados presentados.

AGRADECIMIENTO

Primeramente a Dios y al Servicio autónomo Instituto de Altos Estudios “Dr. Arnoldo Gabaldon” (IAE), por el apoyo financiero y técnico en la realización del proyecto de investigación.

REFERENCIAS

- Bennett G. F. & Warren W. (1966). Biology of the malaysian strain of *Plasmodium juxtancleare* Versiani and Gomes, 1941. I. Description of the stages in the vertebrate host. *J Parasitol.* **52**: 565-9.
- Elisei C., Souza C. A., Massard C. L. & Soares C. O. (2001). Caracterización morfológica y morfométrica de *Plasmodium juxtancleare* (Apicomplexa: *Plasmodiidae*). *Parasitología al día.* **25(1-2)**: 12-18.
- Gabaldon A. (1998). *Malaria Aviaria: Un país de la Región Neotropical.* (1eraed). Caracas, Venezuela: Editorial Interfundaciones.
- Massard C. L. & Massard C. A. (1981). Aspectos biológicos do *Plasmodium juxtancleare* Versiani & Gomes, 1941 em aves do Brasil. *Rev Bras Med Vet.* **4**: 3-24.
- Massard C. L. (1982). Caracterização do parasitismo por *Plasmodium juxtancleare* (Haemosporidea: *Plasmodiidae*) em criação de *Gallus gallus* da raça Leghorn Branca. *Arq Univ Fed Rio de Janeiro*, **5**: 141-6.
- Soares C. O., Massard C., Fonseca A. H. & Souza P. C. A. (1999). Esquizogonia exoeritrocítica plasmática en *Plasmodium (Novyella) juxtancleare* (Apicomplexa: *Plasmodiidae*). *Parasitol al Día*, **23**: 87-90.
- Valkiūnas G. (1997). Bird Haemosporida. Vilnius: Institute of Ecology. *Acta Zool. Lit*, **3-5**: amonograph).
- Valkiūnas G. (2005). *Avian malaria parasites and other haemosporidia.* Florida: CRC Press.
- Valkiūnas G., Anwar A. M., Atkinson C. T., Greiner E. C., Paperna I. & Peirce M. A. (2005). What distinguishes malaria parasites from other pigmented haemosporidians? *Trends Parasitol.* **21**: 357-358.
- Versiani V. & Gomes B. F. (1941). Sobre um novo hematozoário da galinha - '*Plasmodium juxtancleare*'n. sp. (Nota prévia). *Rev. Brasil. Biol.* **1**: 231-233.

Recibido el 05/07/2019
Aceptado el 05/11/2019