



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN**

**"AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS  
DE EXCRETAS DE AVES DEL PARQUE ZOOLOGICO  
DE SAN JUAN DE ARAGÓN"**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A:**

**ARMINDA  LARA RODRÍGUEZ**

**ASESORES:M.V.Z. SUSANA E. GARCÍA VÁZQUEZ**

**M.V.Z. M.C. TONATIUH A. CRUZ SÁNCHEZ**

**M.V.Z. J. ARTURO RIVERA REBOLLEDO**

**CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO.**

**1997**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

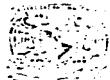


INSTITUTO NACIONAL  
DE ESTADÍSTICA Y  
CENSOS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DEPARTAMENTO DE  
EXÁMENES PROFESIONALES

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLÁN  
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
Jefe de Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 26 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Aislamiento e identificación de levaduras de excrementos de aves del Parque Zoológico de San Juan de Aragón"

que presenta la \_\_\_\_\_ pesante: Amanda Lara Rodríguez  
con número de cuenta: 7016200-0 para obtener el TÍTULO de:  
Médica Veterinaria Zootecnista.

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXÁMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Mex., a 26 de Abril de 1997

PRESIDENTE M. en C. Jonatán A. Cruz Sánchez

VOCAL M. en C. Alejandro Martínez Rodríguez

SECRETARIO M. V. Z. Rodolfo Córdoba Ponce

PRIMER SUPLENTE M. V. Z. Silviano Trejo Nuñez

SEGUNDO SUPLENTE M. V. Z. Gerardo López Islas

**Este trabajo fue realizado en el laboratorio L-513  
Campo 4 de la Sección de Microbiología de la  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán y en el  
Parque Zoológico de San Juan de Aragón de la  
Delegación Gustavo A. Madero en la Ciudad de  
México.**

Doy gracias al creador por  
haberme permitido llegar a ese  
punto de mi camino

A mis padres:  
Agustin y Lupita  
con respeto y admiración, por  
las enseñanzas de ellos  
recibidas, que sepan no fue en  
vano la espera

A mis hermanos y sobrinos:  
Ruben, M<sup>a</sup> Hilda, Graciela, Gabriel,  
Verónica, Hugo, Héctor, Conchita  
Por su ayuda desinteresada. No  
importa ¿Cuándo llegar?, lo  
importante es llegar

A mi hijo:  
David  
Porque sin saberlo, me has  
ayudado. Ojala algún día  
comprendas la importancia de  
tenerte.

A mi tío Jesús:  
Por sus consejos.

A mis asesores:

M. V. Z. Susana E. García V.

M. en C. Tonatiuh A. Cruz Sánchez

M. V. Z. J. Arturo Rivera R.

Por el apoyo brindado para la  
realización de esta tesis

Al personal del zoológico de San  
Juan de Aragón y el laboratorio L-  
514 de la Facultad de Estudios  
Superiores Cuautitlán y a todas y  
cada una de las personas que  
contribuyeron a la realización de  
esta tesis, mis más afectuoso y  
sincero agradecimiento por su  
ayuda recibida.

A mis amigos "qufitos" por la  
paciencia que me han tenido y la  
ayuda prestada.  
Gracias.

# ÍNDICE

	PAGINA
ÍNDICE DE CUADROS	I
ÍNDICE DE FIGURAS Y AVES ILUSTRADAS	II
RESUMEN	III
INTRODUCCIÓN	1
GENERALIDADES DE LOS HONGOS	1
GENERALIDADES DE LAS LEVADURAS	2
LEVADURAS DE IMPORTANCIA MEDICA	3
GENERO <i>Candida</i>	3
GENERO <i>Cryptococcus</i>	5
GENERO <i>Malassezia</i>	8
GENERO <i>Rhodotorula</i>	12
GENERO <i>Saccharomyces</i>	13
GENERO <i>Geotrichum</i>	14
GENERO <i>Trichosporum</i>	15
GENERO <i>Turolopsis</i>	16
ANTECEDENTES EN MÉXICO	17
OBJETIVOS	19
MATERIALES Y METODOS	20
RESULTADOS	30
IDENTIFICACIÓN	31
DISCUSIÓN	32
CONCLUSIONES	35
BIBLIOGRAFÍA	36

**ÍNDICE DE CUADROS**

	PAGINA
CUADRO 1 - CLASIFICACIÓN ACTUAL DEL REINO FUNGAE	2
CUADRO 2 - CLASIFICACIÓN DE LOS DEUTEROMYCETOS	3
CUADRO 3 - CLASIFICACIÓN DEL GENERO <i>Candida</i>	4
CUADRO 4 - TROPISMO DE LAS ESPECIES DE <i>Candida</i>	4
CUADRO 5 - LESIONES PRESENTADAS EN AVES RAPACES	5
CUADRO 6 - CLASIFICACIÓN DE LAS FASES DEL GENERO <i>Cryptococcus</i>	6
CUADRO 7 - PROPIEDADES DEL GENERO <i>Cryptococcus</i>	6
CUADRO 8 - CLASIFICACIÓN DEL GENERO <i>Malassezia</i>	8
CUADRO 9 - CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS DE <i>Pythiumsporium</i>	10
CUADRO 10 - CLASIFICACIÓN DEL GENERO <i>Geotrichum</i>	14
CUADRO 11 - CLASIFICACIÓN DEL GENERO <i>Trichosporium</i>	16
CUADRO 12 - AVES MUESTREADAS	21
CUADRO 13 - AISLAMIENTO DE LEVADURAS	30
CUADRO 14 - IDENTIFICACIÓN DE LAS LEVADURAS	31



## ÍNDICE DE FIGURAS

	PAGINA
FIGURA 1 - <i>C. neformans</i> , TINCION DE TINTA CHINA	7
FIGURA 2 - <i>P. ovale</i> TINCION DEL CULTIVO	11
FIGURA 3 - CULTIVO DE <i>P. ovale</i> EN MEDIO DE SABOURAUD	11
FIGURA 4 - <i>Rhodotorula spp</i>	13
FIGURA 5 - <i>Saccharomyces spp</i>	15
FIGURA 6 - ASCOSPORAS DE <i>G. candidum</i>	15
FIGURA 7 - MICROGRAFIA DE <i>T. beigelli</i>	17
FIGURA 8 - PROCESO DE IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS	28
FIGURA 10 - RELACION DE LOS AGENTES AISLADOS	31

## AVES ILUSTRADAS

CARACARA	22
CONDOR	22
LORO	22
CUERVO	23
PATO	23
ZOPILOTE	23
ÑANDÚ	24
CACATUA	24

## RESUMEN

*Cryptococcus neoformans* es una levadura patógena que ataca el sistema nervioso central principalmente. Siendo una de las fuentes de infección natural, lo conforman las excretas de diferentes aves silvestres, pudiendo ser un problema importante de salud pública. Por eso el objetivo de este trabajo, fue tratar de determinar la presencia de *C. neoformans*, en una determinada área no muestreada previamente de aves del zoológico de San Juan de Aragón.

En este estudio se trabajaron 130 muestras de heces de aves en cautiverio. Se logró el aislamiento de 8 levaduras en 20 especies de aves.

Se aisló una cepa de *Candida tropicalis* de halcón (cuarentena), cuatro cepas de *Candida famata*, procedentes de halcón cola roja (*Buteo jamaicensis*), halcón Harris (*Parabuteo unicinctus*), águila (*Aquila chrysaetos*), patos (spp). Se recuperaron tres cepas de *Candida spp.*, provenientes de pericos (CCI), cara cara (*Polyborus plancus*), no se logró el aislamiento de *Cryptococcus neoformans*, por lo que se considera, no representa un problema de salud pública.

## **INTRODUCCION**

### **GENERALIDADES DE LOS HONGOS**

Los hongos son organismos eucariotes, esto es, que contienen una membrana nuclear que limita a un núcleo definido pueden ser unicelulares (como las levaduras) o pluricelulares, en este último caso las células forman largos filamentos ramificados que se denominan hifas. Todos los hongos tienen esporas que se diferencian de las bacterias, son estructuras fundamentalmente reproductivas. Dicha reproducción pueden ser sexual o asexual, las células están limitadas por una pared celular compuesta de quitina, celulosa y otras materias orgánicas, por lo cual se parecen más a la pared de las plantas que a la de las bacterias. Sin embargo, los hongos se distinguen de las plantas porque no son fotosintéticos, no están diferenciados en raíz, tallos y hojas, y no producen tejido verdoso, aún los hongos carnosos están compuestos por simples agrupaciones de hifas (9, 17, 22)

Los medios de cultivo para su crecimiento son muy numerosos, y muchos de ellos tienen finalidades específicas (9). Para el aislamiento se utilizan medios con alto contenido de glúcidos y otras sustancias nutritivas, en estos, la mayoría de los hongos crece con facilidad, el más conocido es el medio de Saboraud. En muestras muy contaminadas de bacterias, se añaden antibióticos al medio (17, 22)

Muchos de los hongos patógenos, son de crecimiento lento, y en estos casos se puede añadir 500 mg/l de cicloheximida, para inhibir hongos saprofitos y 50 mg/l de cloranfenicol para inhibir bacterias. Para cultivos secundarios se utilizan medios que se aproximen lo más posible a los sustratos naturales del hongo, favoreciendo estos medios la esporulación, debido a su pobreza nutritiva los más comunes son: Agar papa dextrosa, agar harina de maíz y agar arroz. Con menor frecuencia se utilizan otros medios como Caldo zanahoria y agar ciruela (17, 22). Para las pruebas bioquímicas de asimilación (auxonograma) y fermentación de glúcidos, se utiliza el medio de Wickerham, añadiendo los glúcidos a una concentración de 5 al 10%. (9)

CUADRO 1 - CLASIFICACIÓN ACTUAL DEL REINO FUNGAE (6)

REINO	DIVISIÓN	SUBDIVISIÓN	CLASE
<i>Fungae o Mycetae</i>	<i>Gymnomyxota</i> <i>Mastragomocota</i>	<i>Hongos acuaticos o inferiores</i>	
	<i>Amastigomicota</i>	<i>Zygomycotina</i> <i>Ascomycotina</i> <i>Basidiomycotina</i> <i>Deuteromycotina</i>	<i>Zygomycetes</i> <i>Trichomycetes</i> <i>Ascomycetes</i> <i>Basidiomycetes</i> <i>Deuteromycetes o Fungi imperfecta</i>

#### GENERALIDADES DE LAS LEVADURAS

Las levaduras de importancia médica, son todas aquellas especies cuya forma de crecimiento es principalmente unicelular, capaces de producir o contribuir a una infección en humanos y animales (17)

El habitat de cultivo de las levaduras es sostenida cuando se cultivan activamente (fase logarítmica) bajo condiciones normales de temperatura, aereación, presión y humedad

Las colonias por lo general son lisas, de textura mucosa, cremosas o membranosas, no tienen la hifa aérea que imparte una textura vellosa o aterciopelada de los hongos filamentosos. Es verdad que muchas levaduras pueden formar filamentos o pseudohifas, pero son producidas bajo condiciones reducidas de oxígeno, tal como existen en las porciones sumergidas de medio de cultivo sólido en atmósfera de 5 a 10% de CO<sub>2</sub> o de los tejidos del huésped parasitado. Las células normales vegetativas de las levaduras son redondas y ovaladas con un diámetro de 2.5 a 6 μm, se reproducen asexualmente por gemación, fisión. Las yemas (blastoconidios) pueden quedar adheridas a la célula madre y pueden transformarse hasta gemación, así hasta producir grupos de ramificaciones de blastoconidios, sin embargo, los blastoconidios individuales se añaden a sus vecinos en una cadena que puede elongarse para producir filamentos llamados pseudohifas. Las verdaderas hifas separadas resultan de la germinación de "células transicionales" redondeadas o blastoconidios aplanados o planidiosporas (9, 17, 31) (ver tabla I)

Las afinidades taxonómicas de las levaduras con unos y otros hongos están empezando a aclararse como el conocimiento más detallado de su ciclo de vida y de su composición química y antigenética (9)

Por su método de reproducción, las levaduras pueden dividirse en tres grupos principales Ascomycetos (*Saccharomyces*, *Endomycopsis*, *Pichia*, *Nematospora*), Heterobasidiomycetos (*Leucosporidium*, *Filobasidium* y *Syringospora*), Deuteromycetos u hongos imperfectos (*Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* y *Trichosporosis*) ver tabla. Las técnicas modernas para análisis bioquímicos y ultraestructurales de las levaduras que también pueden usarse para sugerir afinidades entre las especies de levaduras y clases taxonómicas (6-9)

CUADRO 2 - CLASIFICACIÓN DE LOS DEUTEROMYCETES (6)

REINO	SUBCLASE	ORDEN	FAMILIA
<i>Deuteromycetes o Fungi imperfecti</i>	<i>Blattomycesitidae</i>	<i>Sporobolomycetales</i>	
		<i>Cryptococcales</i>	<i>Cryptococcaceae*</i>
	<i>Coelomycetidae</i>	<i>Sphaeroidales</i>	
		<i>Melanconiales</i>	
	<i>Hyphomycetidae</i>	<i>Moniliales</i>	<i>Moniliaceae*</i> <i>Dematiaceae*</i>
		<i>Agonomycetales o Mycelia sterilia</i>	<i>Tuberculariaceae*</i>

\* Familia que incluyen la mayor parte de hongos patógenos y oportunistas

## LEVADURAS DE IMPORTANCIA MEDICA

### Género *Candida*

El género *Candida* incluye un variado número de especies, pero solamente algunas de ellas pueden ser oportunistas, sobresaliendo *C. albicans*, la que dependiendo del lugar de donde se aísle, se puede encontrar entre un 60 hasta un 85% (6)

CUADRO 3 - CLASIFICACIÓN DEL GÉNERO *Candida*

CLASE	Deuteromycetes
SUBCLASE	Blastomycetidae
ORDEN	Cryptococcal
FAMILIA	Cryptococcaceae
ESPECIES	<i>albicans</i> , <i>tropicalis</i> , <i>stellatoidea</i> , <i>krusei</i> , <i>parapsilosis</i> , <i>pseudotropicalis</i> , <i>guillermonti</i> , <i>famata</i> <i>y zeylanoides</i>

La siguiente tabla resume la relación de la especie con la topografía clínica más frecuente, aunque prácticamente cualquier especie puede dar los diversos cuadros de candidosis

CUADRO 4 - TROPISMO DE LAS DIVERSAS ESPECIES DE *Candida spp.* (6)

ESPECIE	CUADRO CLÍNICO (CANDIDOSIS)
<i>C. albicans</i>	Poltropismo
<i>C. tropicalis</i> y <i>C. stellatoidea</i>	Vaginitis, broncopulmonar, SNC, intestinal, osteoarticular
<i>C. parapsilosis</i>	Endocarditis, otitis externa
<i>C. guillermonti</i>	Vaginitis, endocarditis y osteoarticular
<i>C. pseudotropicalis</i>	Uretritis y vaginitis
<i>C. krusei</i>	Onicomicosis, mucosas, endocarditis
<i>C. zeylanoides</i>	Onicomicosis

El cultivo y aislamiento de *Candida sp.* a partir de una muestra no es prueba suficiente para el diagnóstico. En el cultivo se observan blastoconidias, en conjuntos o cadenas, la formación de tubo germinativo y clamidiosporas esféricas en *C. albicans* y *C. stellatoidea*. Las colonias comunmente son blancas, pudiendo ser cremosas y con el tiempo más oscuras y membranosas. El tiempo de crecimiento en medio de Sabouraud varía de 24 a 36 hrs. en 5 a 7 días (12)

*Candida albicans* tiene los siguientes sinónimos *Mompha albicans*, muguetey y algodoncillo en el buche, en la región anal cloasitis, blenorragia anal. Se han encontrado miembros de este género en animales como son las aves (palomas, pollos, faisanes, perdices). Es un componente normal de tubo digestivo, piel, boca de los animales. Cuando se produce la

enfermedad, el buche y el proventriculo muestran areas blanquecinas engrosadas, erosión en molleja. Por lo general hay enteritis generalizada (28)

Una de las infecciones de significancia clinica entre las aves rapaces es la infección del tracto gastrointestinal producida por *Candida albicans* aunque la incidencia de candidiasis es mucho menos que la aspergilosis, la infección ha sido reportada en una gran variedad de especies de aves (12)

La candidiasis puede manifestarse en una de dos formas, la forma mas frecuente es la que presenta en forma de un parche semimembranoso de material necrotico revistiendo lengua, laringe y buche, la otra manifestación es de infección gastrointestinal profunda que crea lesiones no visibles en cavidad oral. Las aves rapaces tienen lesiones que estan restringidas a cavidad oral y no aparecen sistemáticamente (6,12) ver cuadro 5

CUADRO 5 - LESIONES PRESENTADAS EN AVES RAPACES

CANDIDOSIS	TIPO CLINICO
Mucocutanea	Oral Genital Gastrointestinal Broncopulmonar Mucocutanea cromica
Cutanea	Intertrigos Oncocomicosis Del area del pañal Pustulosis Granuloma
Sistemática	Septicemia Tracto urinario Meningitis Endocarditis

#### Género *Cryptococcus*

*Cryptococcus neoformans*, es el agente etiológico de la criptococosis e incluye dos variedades: *C. neoformans* var *neoformans* y *C. neoformans* var *gattii*; sus diferencias

radicanen algunas variantes antigénicas, así como ciertas pruebas fisiológicas, algunos autores las consideran como dos especies separadas

*C. neoformans* se le ha encontrado dos estados perfectos o telemórficos, que corresponden a basidiosporas y se denominan *Fillobasidiella neoformans* y *Fillobasidiella bacillospora*

(6) La clasificación taxonómica de ambas fases es la siguiente

CUADRO 6 - CLASIFICACIÓN DE LAS FASES DEL GÉNERO *Cryptococcus*

	Fase asexual	Fase sexual
CLASE	Deuteromycetes	Basidiomycetes
SUBCLASE	Blastomycetidae	Teliomycetidae
ORDEN	Cryptococcales	Ustilaginales
FAMILIA	Cryptocucaceae	Ustilaginaceae
GÉNERO	<i>Cryptococcus</i>	<i>Fillobasidiella</i> o <i>Fillobasidium</i>
ESPECIE	<i>neoformans</i>	<i>neoformans</i>
VARIEDAD	<i>neoformans</i> o <i>galli</i>	<i>neoformans</i> o <i>galli</i>

*C. neoformans* se desarrolla en medios de cultivo habituales. En el medio de Sabouraud dextrosa agar genera colonias mucoides, lisas, lustrosas y con tonalidades que varían del blanco al amarillo pálido, mide de 2.5 a 14  $\mu$ m, de diámetro, esta variación depende de la cantidad de capsula que se forme y del medio en que se encuentre produciendo así células excepcionalmente grandes o pequeñas (22)

CUADRO 7 - PROPIEDADES DEL GÉNERO *Cryptococcus* (6)

PROPIEDADES	<i>C. neoformans</i>	<i>C. albus</i>	<i>C. laurentii</i>	<i>C. gastricus</i>	<i>C. terreus</i>
Producción de Ureasa	-	-	+	+	+
Crecimiento a 37 ° C	+	-	+/-	-	+/-
Crecimiento a 40 ° C	+	-	-	-	-
Utilización de KNO <sub>3</sub>	-	+	-	-	+
Virulencia en el ratón	+	-	-	-	-
Producción de pigmento en medio de alpeste	-	-	-	-	+/-





Figura 1 - *C. neoformans*. Tinción de tinta china (100x ) (Cortesía del Dr. R. Lopez Martinez)

El aislamiento de *Cryptococcus* ha sido reportado a partir de habitats naturales considerados como probables fuentes de infección, como suelo, aire, frutas y vegetales. Pero el habitat natural más importante es el habitat de palomas en donde se encuentra como saprofito (17, 24).

Estudios realizados en aviarios de parques zoológicos de Nueva Delhi, Amberes y Mexico muestran la presencia de *C. neoformans* en materia fecal de loros, canarios, periquitos australianos por lo que excretas de aves diferentes a palomas, son otra fuente natural de *C. neoformans* (3, 25)

La infección primaria es casi siempre pulmonar, seguida de la inhalación de las levaduras pudiendo permanecer localizada o diseminada. En la forma diseminada el microorganismo muestra predilección por el sistema nervioso central, pudiendo diseminarse a otros órganos como la piel, hueso y vísceras (11)

La enfermedad en el sistema nervioso central es la forma diagnosticada con mayor frecuencia (3, 12, 13, 18, 19)

La prevalencia de *C. neoformans* en un nicho ecológico particular se restringe a ciertos habitats (1, 26) Es frecuente la presencia del hongo en sus tratos alcalinos altamente nitrogenados y elevada salinidad (26, 27)

*C. neoformans* raramente es capaz de infectar al ave, ya que la temperatura promedio es de 42°C, temperatura a la cual el hongo permanece viable en el aparato digestivo, pero es incapaz de reproducirse (26, 31) En las excretas húmedas o secas del ave permanecen viables por años En este sitio la levadura se establece en gran cantidad, sobrevive y se desarrolla por incremento relativo de la humedad (31)

#### Género *Malassezia* (*Pityrosporum ovale*, *Pityrosporum orbiculare*)

Una de las clasificaciones etiológicas más inciertas en la micología médica, se presenta en esta enfermedad Algunos autores consideran a *Malassezia furfur*, como el agente etiológico único, sin embargo se puede encontrar como flora habitual de piel grasa, sin presentar fases filamentosas, por lo que se le denomina *Pityrosporum orbiculare*, más la asociación de levaduras pequeñas *P. ovale* De aquí que se ha propuesto que el agente etiológico más bien sea un complejo lipofílico constituido por los tres (*M. furfur* + *P. orbiculare* + *P. ovale*) Estos hongos levaduriformes se incluyen dentro de la misma clasificación taxonómica que es (6)

#### CUADRO 8 - CLASIFICACIÓN DEL GÉNERO *Malassezia*.

CLASE	Deuteromycete o Fungi imperfecti
ORDEN	Cryptococcal
FAMILIA	Cryptococcaceae
GÉNERO	<i>Pityrosporum</i> <i>Malassezia</i>
ESPECIE	<i>orbiculare, ovale, furfur furfur</i>

*Malassezia furfur* (*Pityrosporum furfur*) Es un hongo levaduriforme formado por acumulos de blastosporas que miden entre 3 y 8  $\mu$  de diámetro y con gemas de 1 a 2  $\mu$ , acompañadas de hifas gruesas tabicadas que llegan a medir hasta 30 $\mu$  de largo por 5 de ancho Esta imagen se observa directamente de las escamas del paciente

*Pityrosporum orbiculare*. Presenta únicamente blastosporas que miden entre 4 a 8  $\mu$  de diámetro y con gemas pequeñas (1-2  $\mu$ ) Se observa de los cultivos de escamas, cuando estos se les agrega algunos aminoácidos como glicina o asparagina, es posible observar también pequeñas hifas

*Pityrosporum ovale*. Presenta blastosporas pequeñas, que miden entre 1 y 2 $\mu$ , con gemas de la mitad de su tamaño, por lo que se necesita observarlas con frotis teñidos por Gram o Wright, que dan el aspecto de una "botella"

Pertenece a las levaduras lipofílicas que se producen por la fisión de brote unipolar y se han asociado con dermatitis seborreica, psoriasis, foliculitis, blefarconjuntivitis, dacriocistitis, onícomicoas, tiña versicolor y produce cistitis, creosistitis, caspa y seborrea. *Malassezia furfur* se considera el nombre correcto para ambos *Pityrosporum*, *P. ovale* y *P. orbiculare* (12)

CAUDRO 9.- CARACTERISTICAS FISIOLOGICAS DE LAS ESPECIES DE  
*Pyrtiosporum*\*

Caracteristicas	<i>P. ovale</i>	<i>P. furfur</i>
Crescimiento a 37 °C	+	+
Formación de película de caldo	-	-
Pseudohifas	-	-
Clamidosporas	-	-
Tibos germinales	-	-
Formación de capsulas	-	-
Asimilacion		
Glucosa	-	-
Maltosa	-	+
Sacarosa	-	-
Lactosa	-	-
Galactosa	-	+
Levulosa	-	-
Fermentacion		
Glucosa	-	-
Maltosa	-	-
Sacarosa	-	-
Lactosa	-	-
Galactosa	AG	-
Levulosa	-	A
Otros		
Ureasa	-	-
Utilizacion de nitrogeno	-	-

A = Acido

G = gas

\* Tomado de N. Salcedo.

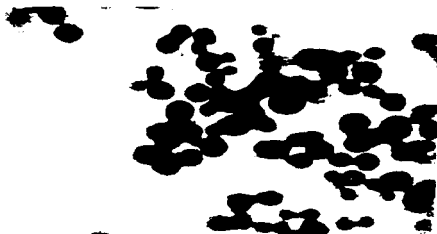


Figura 2 - *P. ovale*, tinción del cultivo (100x)

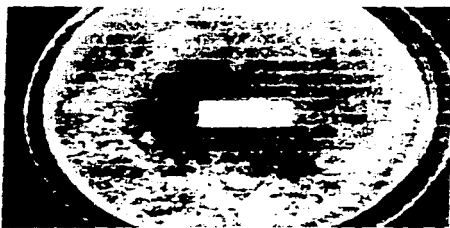


Figura 3 - Cultivo de *P. ovale* en medio de Sabouraud más ácidos grasos

*M. pachidermatis*, la segunda especie que ha sido aislada de perros y otros animales (no ha sido aislada de aves), y cuyo diámetro varía de 1 a 2 um por 2 a 4 um. Las yemas son producidas por la porción final de la célula al ceto transversal (fisión por gemación) (13, 16)

Las hifas cortas se han observado en medios especiales, pero se han visto más típicamente en tiña versicolor de piel escamosa (13)

*M. furfur* crece a 37°C en medios conteniendo aceite de olivo, aceite de coco, u otro líquido, las colonias jóvenes son cremosas y puntiformes volviéndose pustulares ya viejas (13). La observación de estas levaduras se realiza por medio del frotis se tiñe de preferencia con Gram, esta técnica es ideal para la investigación de *P. ovale*. Al microscopio se observan levaduras de 1-1.5 um de diámetro, con gemas muy pequeñas que dan el aspecto de una botella

#### Género *Rhodotorula*

Pertenece a la familia Rhodotoruloideae, puede ser una sinonimia con el género *Cryptococcus* con el cual se parece en grado de crecimiento, morfología, colonia, tamaño celular y forma pseudomicelio rudimentario ocasional, presencia de capsula y capacidad para reducir la urea, falta de capacidad fermentativa (ver figura). La falta de patogenicidad, diferentes serotipos y pigmentos carotenoides, han mantenido a *Rhodotorula* como un género distinto (6, 13)

*Cryptococcus neoformans* puede usar inositol, invadir tejido animal, humano y causar la muerte. *Rhodotorula* es un habitante normal de la piel (favorecido por el clima o por anomalías fisiológicas y/o inmunológicas del paciente), *R. rubra* y *R. glutinis* pueden causar septicemia transitoria. Una fuente frecuente de este problema es la contaminación de los tubos de hule o plásticos, colocados durante una terapia intravenosa. *Rhodotorula sp.* es cultivado a partir de cortinas de plástico, juntas de tubería de baño, en general material plástico (13).



Figura 4 - *Rhodotorula sp.* (40x)

#### Género *Saccharomyces*

Este género es miembro de la familia Saccharomycetaceae (*Ascoporogenous*). *Saccharomyces cerevisiae* es el responsable de casos de candidiasis y vulvovaginitis. También ha sido reportado a partir de muestras de orina en diabéticos. Las células son ovales o esféricas de 3 por 5  $\mu$ m pueden existir como células gemantes en condición haploide o diplóide, después de la fisión de las células pueden formar cadenas cortas y alargarse como pseudohifas. Las ascosporas están arregladas en número de 1 a 4 en forma lineal o tetrahedral son Gram negativas (las células vegetativas son Gram positivas), un excelente medio de esporulación es el medio de glucosa, extracto de levadura, acetato de potasio (10, 17).

La producción ocasional de un pseudomicelio rudimentario se presenta, este género es el estado perfecto de *Candida robusta*, un no patógeno (17)

El crecimiento es rápido en la mayoría de los medios en condiciones aeróbicas y anaeróbicas, la temperatura óptima es de 25 a 37°C (17)

Los caracteres clínicos son los de la ulceración indurada crónica de la piel especialmente de las piernas con engrosamiento de los linfáticos superficiales, formación de abscesos y descarga de material purulento, seguido por el desarrollo de nuevas úlceras indoloras (6, 30)

#### Género *Geotrichum*

*Geotrichum candidum* es un hongo levaduriforme, aunque algunos autores no lo consideran así, debido a que no se reproducen por blastosporas, sin embargo su comportamiento, sobre todo bioquímico es bastante similar a este tipo de hongos

Su clasificación es la siguiente presenta tanto forma sexuada como asexuada su taxonomía puede verse en la tabla inferior

*G. candidum* crece en la mayor parte de medios de cultivo, es inhibido por el actidione (cicloheximida) Desarrolla rápidamente entre 3 a 5 días cuando se incubaba tanto a 25 como a 37 ° C, presenta colonias blancas y blanco-anarillentas, planas, vellosas, húmedas, en ocasiones se puede confundir con colonias de *Cephalosporium sp* Al microscopio se observan hifas macrosifonadas, septadas, con artrosporas rectangulares de aproximadamente 4 a 10 µ, cuando provienen de cultivos incubados a 37° C estas tienden a redondearse No presentan membrana entre artrospora y artrospora, fenómeno que lo distingue de *C. immitis* (6)

CUADRO 10 - CLASIFICACIÓN DEL GÉNERO *Geotrichum*.

	Fase asexuada	Fase sexuada
CLASE	Deuteromycete	Ascomycete
SUBCLASE	Hyphomycetidae	Hemiascomycetidae
ORDEN	Monilia	Endomycetales
FAMILIA	Moniliaceae	Endomycetaceae
GÉNERO	<i>Geotrichum</i>	<i>Endomyces</i>
ESPECIE	<i>candidum</i>	<i>geotrichum</i>



Geotricosis, infección oportunista oral, intestinal, bronquial o pulmonar de los perros, el hombre y las aves en cautiverio causada por *Geotrichum candidum* (2) Aspectos clínicos geotricosis pulmonar, branquial, intestinal oral, cutánea, ótica

El hongo en estado parasitario se ven células rectangulares y alargadas con extremos poco redondeados y células circulares parecidas a las de los *Blastomyces*, que reciben el nombre de artrosporas, teniendo valor diagnóstico encontrarlas en cultivos. Se cultiva en agar glucosa Sabouraud con adición de antibióticos (6, 10, 21)



Figura 5 - *Saccharomyces* sp (Ascosporas),  
(100x)



Figura6 - Ascosporas de *G. candidum*  
(40x)

#### Género *Trichosporum*

*Trichosporum beigeli* también conocido como *Trichosporum cutaneum*, es un hongo levaduriforme, forma parte de la flora habitual de la piel sana, es un agente etiológico de la piedra blanca y en ocasiones se ha reportado en infecciones a nivel de vías urinarias, onicomicosis, queratitis micótica y otomicosis. Se ha encontrado también afectando pelos de primates (ver cuadro 11)

CUADRO 11.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL GÉNERO *Trichosporum*.

SUBDIVISION	Deuteromycotina
CLASE	Deuteromycetes
SUBCLASE	Blastomycetidae
ORDEN	Cryptococcal
FAMILIA	<i>Cryptococcaceae</i>
GENERO	<i>Trichosporon</i>
ESPECIE	<i>beigelii</i> o <i>cutaneum</i>

*Trichosporum beigelii* (*cutaneum*), causa en nodulos superficiales en la porcion distal del cabello, (piedra blanca), y ocasionalmente ocasiones oportunistas de las membranas mucosas o piel, *T. capitatum*, *T. fermentans* y *T. penicillatum* han sido clasificados en *Geotrichum*. *Trichosporum* tambien desarrolla hifas y pseudohifas, su reproduccion es por blastoconidias, o artroconidias, clamidiosporas o ascosporas no han sido reportadas

El crecimiento es aerobio y se presenta en todos los medios de cultivo generales, colonias lisas brillantes de 3 a 6 mm aparecen después de una semana Después se vuelven membranosas, secas y cerebriformes, la temperatura optima es de 25 a 37°C, algunas especies crecen mejor a 37°C (6, 17)

#### Género *Torulopsis*

Es considerado como sinonimo de *Candida*. *Torulopsis* (*Candida labrata*) es comunmente aislada de orina, está considerada ser un comensal de humanos, pero tambien ha sido reportada como causa de pielonefritis, neumonia, septicemia, en pacientes inmunocomprometidos Los reportes de la patogenicidad pueden ser solo acompañados por la demostración de la invasion del tejido por biopsias El tejido teñido tiene un gran parecido con *Histoplasma capsulatum* a partir del cual puede ser diferenciable *Torulopsis* (*Candida pintolopesii*) es una levadura termofílica, capaz de crecer en 40-42°C (17)

Es raramente aislada a partir de humanos, pero es un comensal del tracto intestinal de ratones y puede ser obtenido cuando se hacen estudios de patogenicidad en animales *Torulopsis candida* (*Candida famata*) es ocasionalmente aislado a partir de muestras como

un contaminante pero no ha sido demostrado que produzca enfermedad en humanos (17). En aves se desconoce.



Figura 7 - Microgrsía de *T. bergelli*. A) Blastosporas, B) Artrosporas (40x)

#### ANTECEDENTES EN MEXICO

El zoológico de San Juan de Aragón tiene 30 años de haberse inaugurado, destinando un área para la exhibición de las aves, actualmente se cuenta con aves de diferentes clases que han sido obtenidas del zoológico de Chapultepec, así como donaciones de particulares. Un caso específico es el del Emu que fue obtenido del zoofari de Taxco, Gro y el zopilote rey de Yucatán

Las principales enfermedades que sufren las aves las podemos generalizar según el tipo de aves, en el caso de las acuáticas padecen principalmente infecciones por *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma sinoviae*, en el caso de otras afecciones están la Antracosis, asfixias por sobre población y por importaciones de huevo

En el caso de las aves rapaces se han reportado casos de parasitosis y neumonías, en este grupo se han detectado casos de Candidiasis y la sospecha de la presencia de Aspergillus, otra causa común son los traumatismos

Poco se conoce en el país de la presencia de levaduras en aves de ornato y cautiverio, sin embargo se han realizado algunas investigaciones al respecto. Se realizaron muestreos de 118 muestras de aves de palomas procedentes de diversas iglesias del Distrito Federal, así mismo se tomaron 53 muestras de gallinaza de diferentes granjas de los estados de Hidalgo y México, con el fin de aislar e identificar levaduras. En el caso de excretas de palomas se encontraron levaduras como *Cryptococcus neoformans* (14.4%), *Rhodotorula* (35.6%), levaduras negras (10.2%) y otras (85.6%). En el caso de la gallinaza no se encontraron *Cryptococcus neoformans* ni levaduras negras y solo se detectó una cepa de *Rhodotorula* y dos de otras levaduras. En el caso de los aislamientos de *C. neoformans* se detectó la presencia de *C. neoformans* var. *gatti* así como de *C. neoformans* var. *neoformans* (24).

En otro trabajo se recolectaron 106 muestras de aves de zoológico pertenecientes a la orden psitaciformes, falconiformes. De dichas muestras solo realizaron 16 aislamientos de *C. neoformans*, sin embargo solo manejan un total de 16 especies de aves recomendando realizar un muestreo en más especies de aves con el fin de establecer la presencia de *C. neoformans* en su hábitat natural (25).

Se desconoce el comportamiento patógeno en las aves de zoológico del país de los géneros de las levaduras en las heces así mismo la presencia de *C. neoformans* dado que desde el punto de vista epidemiológico puede causar daño potencialmente a la salud del hombre. Por ello el presente trabajo pretendió ampliar la variedad de aves no muestreadas en trabajos anteriores, con el fin de contemplar un panorama más amplio de la distribución de levaduras en aves de zoológico del país.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO PRINCIPAL**

Aislamiento e identificación de levaduras de aves del zoológico, con la finalidad de detectar la presencia de *Cryptococcus neoformans*.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- 1.- Aislamiento de levaduras de las aves
- 2.- Identificación de levaduras aisladas.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **MATERIAL**

#### **a) Recolección de muestras**

Para el presente trabajo se realizaron diversas visitas de los meses de enero a julio de 1992 al parque zoológico de San Juan de Aragón, ubicado entre las avenidas Loreto Favela, Av. 510, Av. 508, Av. 535 en la Delegación Gustavo A. Madero, al norte del Distrito Federal

Donde se obtuvieron muestras de heces de 12 especies diferentes de aves enlistadas en el cuadro 12

Se realizaron diversas visitas al zoológico para muestrear el total de animales que comprendió el trabajo.

Las muestras se recolectaron por la mañana directamente del piso de las jaulas de las aves colocandose en bolsas de plástico nuevas transportandose en cajas de unicel con hielo, hasta su llegada al laboratorio L-513, de la Sección de Microbiología de la Facultad de Estudios Superiores- Cuautitlan U.N.A.M., en donde se procesaron para el aislamiento e identificación se recolectaron un total de 130 muestras.

Algunas de las aves se ilustran después del cuadro 12.

Cuadro 12 - Aves muestreadas

Nombre comun	Nombre científico
Aguila dorada	<i>Aquila chrysaetos</i>
Zopilote rey	<i>Sacoramphus papa</i>
Condor de los Andes	<i>Vultur gryphus</i>
Halcón Harris	<i>Parabuteo unicinctus</i>
Halcón cola roja	<i>Buteo jamaicensis</i>
Halcon Rood Side	<i>Buteo magnirostris</i>
Nandu	<i>Rhea americana</i>
Emu	<i>Dromaius novaeollandiae</i>
Cara cara	<i>Polyborus pliancus</i>
Bubo virginiano	<i>Bubo virginianus</i>
Pato mallard	<i>Anas platyrhynchos</i>
Pato amizclado	<i>Carina moschata</i>
Pato pekín	<i>Anas platyrhynchos pekinesis</i>
Pato tarro canelo	<i>Tadorna ferruginea</i>
Pato piliji	<i>Dendrocygna autumnalis</i>
Cuervo	<i>Corvus corax</i>
Cacatua cresta amarilla	<i>Cacatua</i>
Perico verde	<i>Aratinga holochlora</i>
Perico frente roja	<i>Amazona viridigenalis</i>
Perico mejilla amarilla	<i>Amazona autumnalis</i>



**CARACARA** (*aves, falconiformes*) Pertenece a la subfamilia de los halcones. Los caracaras son aves de presa de color blanco y negro que se encuentran principalmente desde el sur de Estados Unidos hasta Sudamérica. Su longitud aproximada es de 60 cm, tienen la cara parcialmente desnuda, son buenos corredores; se alimentan de carroña y de pequeños animales que cazan vivos. Se les ve a menudo mezclados con los buitres.

**CONDOR** (*aves, falconiformes*) Esta magnífica y poderosa ave habita en los Andes y el sur de California. Tiene más de 120 cms de largo y puede alcanzar una envergadura de hasta 350 cms. El condor prefiere la carroña, aunque a veces mata para comer. Anida en cuevas, en acantilados de gran altura y pone cada vez un solo huevo de casi 13 cm de largo.



**LORO** (*aves, psittaciformes*) Las aves de este bellissimo grupo tropical, comedoras de semillas, tienen unos dedos muy especiales: el primero y el cuarto, vueltos hacia atrás, lo que les permite realizar verdaderas hazañas al trepar. El orden, de unas 315 especies, comprende los macacos, los loros comunes, las caca tuas y los periquitos. Su lengua, gruesa, carnosa y algo prensil, les facilita coger objetos entre ella y la parte superior del pico. Algunas pueden aprender a "hablar".



**CUERVO** (*aves, passeriformes*) Anida en acantilados y en árboles, pone de tres a ocho huevos. Los cuervos son menos gregarios que la mayoría de los grajos, aun cuando pasan el invierno en bandadas. Les gusta la vida salvaje, por su inteligencia, son fácilmente domesticables.



**PATO** (*aves, anseriformes*) En tierra, la mayoría de las especies "anadean", porque sus patas están colocadas muy hacia atrás en el cuerpo, pero en el agua esta disposición les permite nadar y zambullirse. El pato blanco común de granja es el pekinés, traído de China en 1870. El anade real se encuentra salvaje y domesticado. Los patos silvestres forman tres grupos: patos de río o de estanque, patos marinos o buceadores y patos pescadores o serretas. Los patos de bosque viven en los agujeros de los árboles y la mayoría de los otros anadan en praderas pantanosas. El dibujado aquí es el pato rabudo.

**ZOPILOTE** (*aves, falconiformes*) Los zopilotes o aves de presa, planean ininterrumpidamente, ayudados por las altas corrientes de aire, buscando carroña. Vive en América y pesa de 900 gramos a kilo y medio, tiene una fea cabeza de color rojo, pico blanco color carne. Nidifica en tacones huecos en el suelo y pone sólo dos huevos.





**ÑANDU** (*aves, reiformes*) Es la mayor ave del Nuevo Mundo, y pesa alrededor de 20 kilos. Los ñandúes o reas semejan pequeñas avestruces, pero no tienen nada que ver estas y forman de por sí otro orden. Viven en monte de escasa vegetación, en Sudamérica. Lo mismo que la avestruz, no pueden volar, pero corren velozmente. También pueden nadar. Cada macho se apareja con varias hembras, que ponen sus huevos en un nido común en el suelo, entonces aquel los incuba y después cuida de los crios. Su caza es un deporte clásico en Sudamérica.

**CACATUA** (*aves, psittaciformes*) La cacatúa, que es un loro de mediano tamaño, tiene la cabeza rematada por una cresta. La especie de color blanco es la más conocida. Las cacatúas se encuentran en Australia e Indonesia. De carácter travieso y apariencia grotesca, les gusta comer orquídeas, semillas, nueces y frutas. La cacatúa blanca es un animalito notable, aunque muy ruidoso.



### b) Aislamiento de levaduras

Para el aislamiento de las levaduras se utilizaron los siguientes medios de cultivo:

1 - Medio de Sabouraud (Bioxon)

2 - Medio de Niger

Semillas de Guizotia abyssinica (Niger)	50 g
Agar	15 g
Agua destilada	1000 ml
Cloranfenicol	50 mg

#### Elaboración del medio:

- Pulverizar las semillas de Niger en un mezclador eléctrico y hervir por 25 min en 1000 ml de agua destilada, filtrar a través de una gasa o papel filtro
- Agregar 15 g de agar, llevar a un volumen de 1l con agua destilada
- Esterilizar a 110° C por 25 min
- Homogeneizar y servir en placas o tubos

### c) Identificación de levaduras

El material que se empleó para la identificación de las levaduras fue

1.- Tinción negativa

La técnica consiste en la observación directa de levaduras capsuladas utilizando tinta china.

Procedimiento

- Colocar en un portaobjetos una gota pequeña de tinta china y una gota pequeña de agua destilada.
- Suspender una pequeña parte de la muestra y mezclar en la tinta china
- Colocar un cubre objetos presionando ligeramente
- Observar al microscopio buscando las levaduras capsuladas

### 2.- Prueba de ureasa

El género *Cryptococcus* y otras levaduras producen la enzima ureasa esta característica provee una prueba útil para diferenciar al género *Cryptococcus* de otros géneros como

**Conclusión.** El agar usado contiene rojo de fenol que sirve como indicador de la reacción alcalina que resulta cuando la urea es degradada produciendo amonio en la reacción

**Procedimiento**

-Medio de urea de Christensen (Bioxon de México S A ) disolver 13 g del medio de caldo de urea en 100 ml de agua destilada y esterilizar por filtración

- Distribuir el caldo de urea en tubos esteriles, aproximadamente 1.5 ml en cada uno.

- Para llevar a cabo la prueba se toma una pequeña parte de la muestra y se suspende en el medio, incubando posteriormente a 37° C El desarrollo de un color rosa mexicano en el tubo indica una prueba positiva la cual se puede dar entre 18 y 48 hrs

3 - Crecimiento en medio de Byggi (Bioxon de Mexico, S A )

4 - Prueba de tubo germinativo

- Suero de equino esteril

El suero de equino esteril se coloco en tubos de ensaye y se siembra la levadura. Estos tubos se incubaron en la estufa de 3 a 18 hrs a 37°C Despues de este tiempo se observo al microscopio celulas en gemación desarrollando el tubo germinal

- Tubos de ensaye esteriles

- Gradillas

- Estufa bacteriológica

- Microscopio

5 - Fermentación de carbohidratos

- Medio de Wickerham

- Extracto de carne 3g

- Peptona 10g

- NaCl 5 g

- Agua destilada 1000 ml

Se disolvió el medio en el agua calentando y ajustando el pH a 7.2

Se preparó una solución de Púrpura de Bromocresol de la cual se tomó 1 ml para preparar el medio.

**Púrpura de Bromocresol 1.6 g**

Alcohol al 95%

100 ml

#### Solución de carbohidratos

- Carbohidratos utilizados glucosa, maltosa, galactosa, lactosa, sacarosa y trehalosa, se prepararon al 6%.

Se tomaron 9 ml del medio descrito anteriormente y se colocaron en tubos de ensaye a esto se le agrego 1 ml de la solución de carbohidratos correspondiente, se esterilizan a 110° C 10 min 10lb. Se metieron a prueba de esterilidad, los tubos se inocularon con una asada de la levadura a identificar. El resultado se observo por el viraje de color de morado a amarillo cuando es positivo, esto puede suceder de 12 hrs a 15 dias

### **METODOS**

#### **a) Cultivo y aislamiento de levaduras**

##### **Tratamiento de las muestras**

El proceso a seguir para el análisis de las muestras, fue de la manera siguiente

- 1.- De las muestras colectadas se tomaron 4 g colocandose en 25 ml de solución salina fisiologica (SSF) agitandose por 3 min
- 2.- Se agregaron 5 ml de una solución de cloranfenicol a concentración de 25 mg/ml incubandose a temperatura ambiente por dos horas
- 3.- Sembrar en medio de Niger (*Gutzotia abyssinica*) incubar a 28°C hasta por dos semanas.

#### **b) Identificación de las levaduras**

Su identificación se hizo por diversas fases de acuerdo al diagrama de la figura 8:

T.4a I. Características de cultivo y bioquímica de levaduras azúcares con frecuencia en experimentos clínicos (a)

	Asimilación										Fermentación																	
	Crecimiento a 37°C	Película de caldo	(Pasoso) hifas	Clamidiosporas	Tubo germinativo	Capsula: forma china	Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Lactosa	Galactosa	Melitosa	Celulosa	Inulina	Xilosa	Rafinosa	Trehalosa	Sorbitol	Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Lactosa	Galactosa	Trehalosa	Urea	Utilización KNO <sub>3</sub>	Oxidación de tenol	
<i>Candida catenulata</i>	+				+													F	F									
<i>C. lusitana</i>	+																	D	F	D								
<i>C. glabrata</i>	+																		D									
<i>C. guilliermondii</i>	+																		F	F								
<i>C. krusei</i>	+																		F	F								
<i>C. parapsilosis</i>	+																		F	F								
<i>C. pseudopedis</i>	+																		F	F								
<i>C. pseudopedis</i>	+																		F	F								
<i>C. rugosa</i>	+																		F	F								
<i>C. detrita</i>	+																		F	F								
<i>C. tropicalis</i>	+																		F	F								
<i>Candida lusitana</i>	+	R																	F	F								
<i>C. albida</i> var. <i>albida</i>	+	R																	F	F								
<i>C. albida</i> var. <i>diffusa</i>	+																		F	F								
<i>C. guilliermondii</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								
<i>C. lusitana</i>	+																		F	F								

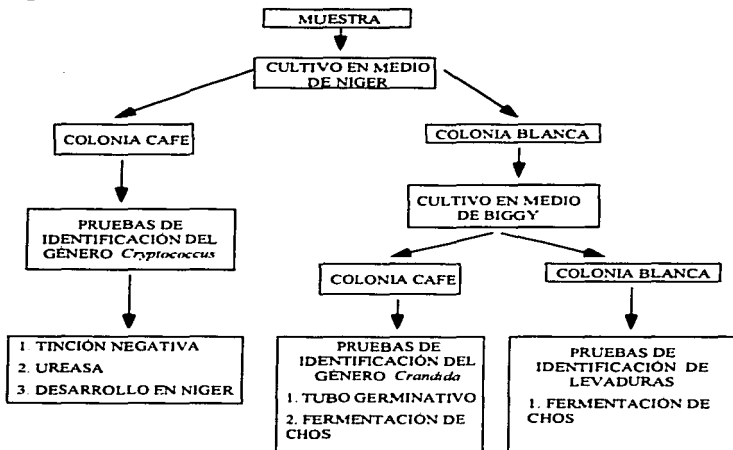
(a) Los asteriscos indican alguna variación, R, raro; Bajo Asimilación, el signo + indica un crecimiento mayor que aquellos de control negativo. Bajo Fermentación, F, indica que el azúcar se fermenta (i.e. se produce gas), D, fermentación débil. Según datos de Ahearn y Schilder y de Uchida.

(b) *C. pseudopedis* es una levadura termotolerante, capaz de crecer a temperaturas de entre 40 y 42°C.

(c) Algunas cepas de *C. tropicalis*, producen clamidiosporas con forma de lígula.

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

Figura 9.- Proceso de identificación de levaduras



## RESULTADOS

### AISLAMIENTO

Se trabajaron un total de 130 muestras, de las cuales se aislaron 8 cepas de levaduras provenientes de 20 especies de aves. En todas las muestras no se logro aislar organismos del genero *Cryptococcus*. Tambien se realizo el aislamiento de bacterias y hongos miceliales, pero no fueron considerados en este estudio (ver cuadro 13)

Cuadro 13 Aislamiento de levaduras de la materia fecal de las aves muestreadas del zoológico de Aragon

Nombre comun	Nombre científico	No de muestras trabajadas	Aislamiento de levaduras	Aislamiento de bacterias	Aislamiento de hongos miceliales
Aguila dorada	<i>Aquila chrysaetos</i>	11	1 positivo	4	6
Zopilote rey	<i>Sacoramphus papa</i>	8	1 positivo		7
Condor de los Andes	<i>Vultur gryphus</i>	4	negativo	1	3
Halcón Harris	<i>Parabuteo unicinctus</i>		1 positivo		
Halcón cola roja	<i>Buteo jamaicensis</i>	21	1 positivo		18
Halcón Rood Side	<i>Buteo magnirostris</i>		1 positivo		
Nandu	<i>Rhea americana</i>	9	negativo	5	4
Emu	<i>Dromaius novaehollandiae</i>	9	negativo	2	7
Cara cara	<i>Polyborus pliancus</i>	12	1 positivo		11
Buho virginiano	<i>Buho virginianus</i>	8	negativo		8
Pato mallard	<i>Anas platyrhynchos</i>				
Pato amezclado	<i>Carina moschata</i>				
Pato pekín	<i>Anas platyrhynchos pekinesis</i>	20	1 positivo		19
Pato tarro canelo	<i>Tardona ferruginea</i>				
Pato púji	<i>Dendrocygna autumnalis</i>				
Cuervo	<i>Corvus corax</i>	12	negativo		12
Cacatua cresta amarilla	<i>Cacatua</i>		negativo		
Perico verde	<i>Aratinga holochlora</i>	10	negativo		10
Perico frente roja	<i>Amazona viridigenalis</i>		negativo		
Perico mejilla amarilla	<i>Amazona autumnalis</i>	6	1 positivo		5
	Total de muestras	130			
	Levaduras aisladas	8			

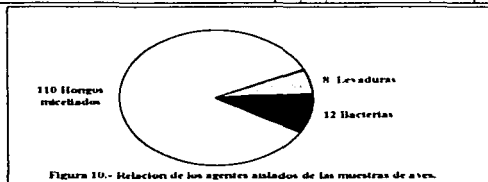


## IDENTIFICACION

El desarrollo que se observó en el medio de Niger fue de colonias blancasopacas, convexas de bordes regulares. Dichas colonias fueron posteriormente sembradas en el medio de Biggy en el cual tuvieron el siguiente desarrollo colonias café obscuro o canela, opacas convexas de bordes regulares. Este crecimiento es característico al género *Candida* para lo cual se realizaron las pruebas de identificación que se describen en el cuadro

Cuadro 14 Identificación de levaduras aisladas

No. de levadura	Procedencia	Inoculación de tinta china	Tubo germinativo	Fermentación de CHO's					Identificación	
				Glicosa	Maltosa	Galactosa	Lactosa	Sacarosa		Trehalosa
1	Halcón cuarentena	-	-	-	+	-	-	+	+	<i>Candida tropicalis</i>
2	Halcón cola roja	+	-	-	-	-	-	+	+	<i>C. famata</i>
3	Halcón Harris	+	-	-	-	-	-	+	+	<i>C. famata</i>
4	Agulia	-	-	-	-	-	-	+	+	<i>C. famata</i>
5	Patos	-	-	-	-	-	-	+	+	<i>C. famata</i>
6	Zopilote	-	-	+	+	+	+	-	-	No identificada
7	Caracara	-	-	+	+	+	+	-	-	No identificada
8	Loro	-	-	+	+	-	-	-	-	No identificada



## DISCUSION

Se desconoce en aves de zoológico del país géneros de levaduras en las heces y su posible comportamiento patógeno así como la presencia de *C. neoformans* ya que este germen puede causar daño a la salud del hombre

Es por eso que el presente trabajo pretendió ampliar el panorama de la distribución de las levaduras en aves de zoológico del país

Al no poderse realizar nuestro objetivo de aislar *Cryptococcus neoformans* suponemos estas aves no representan un problema de salud pública, sin embargo se sugiere un estudio más exhaustivo en diferentes épocas del año para dar por hecho nuestra suposición

Durante la investigación sólo pudo realizarse el aislamiento de ocho levaduras considerando que este número es pobre, sin embargo, algunos factores que pudieron haber influido en estos resultados serían los siguientes la presencia de ácido úrico en las palomas que se consideran un portador sano, es alto, pero desconocemos la concentración de este componente en aves rapaces y otras especies de aves como patos, loros, caca tuas, emu, ñandu etc., dado que si tienen poco ácido úrico el crecimiento del *Cryptococcus* será pobre o nulo Otro factor que influyó fue la alta contaminación de hongos miceliales, lo que dificulta el aislamiento de levaduras.

A pesar de que el medio utilizado contenía cloranfenicol para inhibir el crecimiento bacteriano, estas crecieron. lo cual al igual que los hongos misceliales frecuentemente contaminaban nuestros cultivos

Otro factor a considerar es el tiempo de realización de este trabajo, ya que solamente se realizó en los primeros seis meses del año, existe otro estudio realizado en los aviarios de este zoológico, (aves psitaciformes, galliformes, passeriformes, columbiformes, anseriformes y pisceformes), en donde se aislaron levaduras de *Cryptococcus neoformans* (Ríos y López

1990). En el zoológico de Calcuta se realizó un estudio similar durante un periodo de dos años (Chakraborty y cols 1991) En este estudio las levaduras que fueron aisladas pertenecen al género *Candida*.

En el presente estudio se muestrearon heces de halcones aislandose *Candida tropicalis* y *Candida famata* no pudiendose aislar *Cryptococcus neoformans* sin embargo se tiene información de Shnawa (1988) reporta el aislamiento de *C. neoformans* a partir de dos halcones (*Accipiter nisus*) Es de llamar la atención el aislamiento de *Candida tropicalis* de una jaula que contenía halcones en cuarentena ya que estos halcones se obtuvieron por donación y probablemente tuvieron contacto con humanos dado que esta levadura es patógena al hombre

La detección del género *Candida* es más frecuente y común tanto en aves clínicamente afectadas como en aves sanas como lo muestran los trabajos de Sheila y cols (1977), donde detectaron Candidiasis ocular en patos de las especies Pato Mergo Pechicastaño (*Mergus serrator*), Pato Ojiamarillo Norteño (*Bucephala islandica*), Pato Negro Negro (*Melanitta nigra*), y el trabajo mostrado por Bryan y Mayeda (1961), en donde se hace un estudio exhaustivo en pollos y patos en el valle de Sacramento California

El aislamiento de *Candida famata* fue el agente más frecuentemente aislado, sin embargo este no parece tener actividad patogena, dado que se considera como saprófito. Las levaduras que fueron reportadas como *Candida spp* se debió que en el medio de Biggy se obtuvieron colonias de color café, indicativo del género *Candida* sin embargo al realizar las pruebas bioquímicas conocidas no hubo concordancia con los resultados de las tablas de identificación conocidas por lo cual sería necesario verificar por otro tipo de pruebas si realmente pertenecen al género *Candida* A pesar de haber realizado el muestreo en horas tempranas, la acidez o desecación también pudieron influir con la no detección de este microorganismo sugiriendo realizar el muestreo en temporada de clima cálido.

Un aspecto interesante es que en muchos de los estudios se aísla un bajo número de levaduras como es el trabajo realizado en Alemania en la Universidad de Ludwig-Maximilians donde de 1046 muestras de materia fecal solo se pudo recuperar 9 cepas de *Cryptococcus neoformans*.

Actualmente existen pruebas inmunológicas para detectar anticuerpos contra *Cryptococcus neoformans*, sin embargo dado el temperamento y el manejo a realizar en las aves hacen que sean poco aplicables.

## CONCLUSIONES

- 1.- Se trabajaron 130 muestras de heces provenientes de 20 especies de aves en cautiverio.
- 2.- De estas aves se logró el aislamiento de 8 levaduras de las siguientes 8 especies de aves: se aisló una cepa de *Candida tropicalis* de halcón, cuatro cepas de *Candida famata* procedentes de halcón cola roja (*Buteo jamaicensis*), halcón Harris (*Parabuteo unicinctus*), águila dorada (*Aquila chrysaetos*), y patos.
- 3.- Se recuperaron tres cepas de *Candida* spp provenientes de loros (*Aratinga holochlora*, *Amazona viridigenalis*, *Amazona autumnalis*), zopilote (*Sacoramphus papa*), cara cara (*Poluborus plancus*).
- 4.- No se logró el aislamiento de *Cryptococcus neoformans* por lo que se considera que no representa un problema de salud pública, sin embargo se sugiere un estudio más exhaustivo para verificar esta suposición.

## BIBLIOGRAFIA

1. Abou -Gabal M ; Atica M, Study of the role of pigeons in the dissemination of *Cryptococcus neoformans* in nature Sabouraudia, 16 63-681 (1978)
2. Archibal, J., Blood, D C ; Henderson, J.A., Newberne, P M., Snoeyenbos, G H., Weipers, S W L. El manual Merck de Veterinaria 2ª edición, editado por Merck y Co., Inc Rahway, N J U S A 373 (1980)
3. Bauwens L., Swinne, D., De Vroey, Chand De Maurichy W., Isolation of *Cryptococcus neoformans* var *neoformans* in the aviaries of the Antwerp Zoological Gardens Mykosen, 29 291-294 (1986)
4. Bergman, F., Occurrence of *C. neoformans* in Sweden Acta medica Scandinavica 174 651-655 (1963)
5. Bmmoons, C., Saprophytic sources of *C. neoformans* associated with pigeons (*Columba livia*). American Journal of Hygiene 62 227 (1955)
6. Bonifaz A. Micología Médica básica 1a edición (1991) Editorial Méndez Cervantes
7. Bull, J., Farrand, J., The Audubon Society Field Guide to North American Birds (Eastern Region) Alfred A. Knopf, Inc New York, U S A (1977)
8. Byan, Mayeda, Candidiasis in turkeys and chickens in the Sacramento Valley of California Presented at 10th Western Poultry Disease Conference, feb 1, 1961, Davis California
9. Chakraborty, Basak, Bhowmik, Mazumder, isolation of *Cryptococcus neoformans* from captive birds Indian-Veterinary-Journal, 68 517-520 (1991)
10. Davis, B. A., Dulbecco, R. Tratado de Microbiología 2ª ed., Editorial Salvat (1983)
11. Estrade, C.J.: Las micosis o fungosis en medicina veterinaria 1ª ed Editorial Jimo, (1970)
12. Gugnani, H.C., N.P. Gupta and J.B. Shrivastav, Prevalence of *C. neoformans* in Delhi Zoological Park and its recovery from the sputum of and employee Indian J. Med. Res., 60:182-185. (1972)
13. Hagan, W.A.; Bruner, J. Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos 1ª edición, Ediciones Científicas La Prensa Médica Mexicana. (1983)

14. Hernandez, G Ma R: Biotipificación de cepas de *Fliobasidiella* (*Cryptococcus*) *neoformans* y gatti aislados a partir de casos clinicos humanos, 1988, Tesis de Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan - U N A M
15. Kauer, Excretion of *Cryptococcus neoformans* by cage birds Inaugural Dissertation, Tierartliche 1990
16. Koneman, S , Allen, W , Dowell, P , Diagnostico Microbiologico. Editorial Medica Panamericana, 1983
17. Kusters, Studies on the excretion of *Cryptococcus neoformans* Deutsche Tierarztliche Wochenschrift, 98 4, 134-136, (1991)
18. Lonnete, E A Manual of Clinical Microbiological, third edition, American Society of Microbiologi, Washington, D C , 1980
19. Maravillas y Misterios del Reino Animal, S A de C V Selecciones del Reader's Digest (1965)
20. Pal, M and Mehrotra, B S , Studies on the isolation of *C neoformans* from fruits and vegetables Mykosen, 28 200-205 1987
21. Pal, M., Khan, Z U and Randhawa, H S , Observations on Niger seed creatinine agar as a selective medium for *C neoformans* Ind J Microbiol , 19 19-22 (1979)
22. Peyrefitte G A , Diccionario de Micología Veterinaria, 1991, Tesis de Licenciatura M.V.Z , Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan-U N A M
23. Pijoan, A C , Cervantes, O R , Manual de Micología Veterinaria 1ª edición, Universidad Nacional Autónoma de Mexico 1976
24. Randhawa, H ; Cleyton, Y , Rddel, R , Isolation of *C neoformans* in pigeons habitats in London. Nature London, 208 801 (1965)
25. Rendon, R Ma C J., Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* a partir de excretas de paloma y gallina, 1986, Tesis de Licenciatura Q F B , Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan -U N A M
26. Rios, R C ; López, M R , Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en los aviarios del parque Zoológico de San Juan de Aragón Memorias VIII Simposio sobre fauna silvestre 182-186. (1990)
27. Rippon, J. W. ; Medical Mycology W.B Sanders Company; E U A., 1988

28. Ruiz, A.; Neilson, J.B.; Bulmer, G.S. Control of *C. neoformans* in nature by biotic factors *Sabouraudia*, 82: 21-29 (1982)
29. Schwartz, L.D. Manual de Sanidad Avícola 1ª edición, Unión Tipográfica Editorial Hispano- Americana, S.A. de C.V., 1980
30. Sheila, Barnett, Ocular Candidiasis in ornamental ducks *Avian Pathology*, 7, 49-59 (1978)
31. Smith, H.A.; Jones, T.C. Patología Veterinaria 1ª edición Unión Tipográfica Editorial Hispano-Americana, S.A. de C.V., (1987)
32. Swinne, Desgain, D. *C. neoformans* of Saprophytic origin *Sabouraudia*, 13: 303-308 (1975)
33. Tory, P. R.; Chalif, E.L., *Aves de México guía de campo* Editorial Diana México (1989)
34. Weber, A.; Schafer Investigations on the presence of *Cryptococcus neoformans* in droppings of birds kept within human living area *Berliner und Munchener Tierärztliche Wochenschrift* 104: 12, 419-421 (1991)