

Paracoccidioides spp. en excretas de Golondrinas Migratorias (*Tyrannus savana* y *Progne tapera fusca*), procedentes de Sur América

Paracoccidioides spp. Complex in excrets of Migratory Swallows (*Tyrannus Savana* and *Progne Tapera Fusca*), from South America

Julman Rosiris Cermeño^{1*} , Rafael Espinoza¹  y Salvador Penna² 

¹Departamento de Parasitología y Microbiología, Escuela de Ciencias de la Salud “Dr. Francisco Battistini Casalta”, Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar. Ciudad Bolívar, Bolívar, Venezuela. ²Departamento de Ciencias Fisiológicas, Sección Fisiopatología, Escuela de Ciencias de la Salud “Dr. Francisco Battistini Casalta”, Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar. Ciudad Bolívar, Bolívar, Venezuela.
Correo electrónico: jcerme30@gmail.com

RESUMEN

Las aves migratorias como las especies *Progne tapera fusca* y *Tyrannus savana*, procedentes del sur del continente Americano, escapan del frío Austral y encuentran refugio en la Plaza de las Ciencias de Sur, (Centro de la ciudad de Puerto Ordaz), municipio Caroní, estado Bolívar, Venezuela. El objetivo del estudio fue describir las bacterias, parásitos y hongos en las excretas de golondrinas migratorias; para ello se realizó un estudio microbiológico y parasitológico aplicando técnicas: examen directo, sedimentación espontánea, coloración de Kinyoun, tinción de Giemsa y tinción tricrómica de Weber Green; además cultivos bacterianos y micológicos. Las bacterias identificadas fueron *Shigella sonnei* y *Escherichia coli*. Se evidenciaron ooquistes de *Cystoisospora* spp., *Cyclospora* spp., quistes de *Endolimax* spp. y *Blastocystis* spp. Además, en el examen directo se observó: *Paracoccidioides* spp., blastosporas e hifas aseptadas. Se aislaron hongos filamentosos de los géneros *Aspergillus* spp., *Mucor* spp. y *Penicillium* spp. Los hongos levaduriformes correspondieron a *Rodothorula* spp., *Candida tropicalis*, *Candida famata* y *Cryptococcus laurentii* (n = 2). Los aislamientos de *C. tropicalis* y *C. famata* fueron sensibles a fluconazol y voriconazol. Se demostraron bacterias, parásitos y hongos patógenos. Hasta ahora, no se había demostrado el Complejo *Paracoccidioides* spp. en excretas de golondrinas migratorias, representando un riesgo potencial para la salud.

Palabras clave: *Blastocystis*; *Candida* spp.; *Cyclospora*; *Cryptococcus laurentii*; *Shigella sonnei*

ABSTRACT

Migratory birds such as *Progne tapera fusca* and *Tyrannus savana* species from the South of the American Continent, escape from the cold Austral, and find shelter in the Plaza de las Ciencias de Sur, (Puerto Ordaz downtown), Caroní Municipality, Bolívar State, Venezuela. The aim of this study was to describe bacteria, parasites and fungi in the excreta of these migratory swallows. A microbiological study was carried out, applying various techniques: direct examination, spontaneous sedimentation, Kinyoun staining, Giemsa staining and Weber Green trichrome staining; also bacterial and mycological cultures. The bacteria identified in the samples were *Shigella sonnei* and *Escherichia coli*. Oocysts of *Cystoisospora* spp., *Cyclospora* spp., *Endolimax* spp. cysts and *Blastocystis* spp. were also demonstrated. In addition, direct examination showed *Paracoccidioides* spp., blastospores and non-septate hyphae. Within the filamentous fungi, the genera *Aspergillus* spp., *Mucor* spp. and *Penicillium* spp. were identified. The isolated yeast fungi corresponded to *Rodothorula* spp., *Candida tropicalis*, *Candida famata* and *Cryptococcus laurentii*. The isolates of *C. tropicalis* and *C. famata* were sensitive to fluconazole and voriconazole. Bacteria, parasites and pathogenic fungi were demonstrated in the excreta of migratory swallows, representing a public potential health risk. So far, *Paracoccidioides* spp. Complex had not been demonstrated in the excreta of migratory swallows.

Key words: *Blastocystis*; *Candida* spp.; *Cyclospora*; *Cryptococcus laurentii*; *Shigella sonnei*

INTRODUCCIÓN

Las aves silvestres son importantes en salud pública porque portan patógenos zoonóticos emergentes, ya sea como reservorios o dispersando artrópodos vectores infectados [17]. Además, la migración de aves proporciona un mecanismo para el establecimiento de nuevos focos endémicos de enfermedad a grandes distancias de donde se adquirió una infección, contribuyendo a la propagación mundial de enfermedades infecciosas emergentes de una manera análoga a los humanos que viajan en aviones [18, 37].

Las aves migratorias se desplazan periódicamente de una zona a otra para poder continuar su ciclo de vida, dependiendo de la estación climática o de la disponibilidad de nutrientes. La migración consiste en los viajes estacionales regulares realizados, esta migración es realizada generalmente para reproducirse en los veranos en áreas templadas o árticas, y el retorno a las áreas de invernada en regiones más cálidas del sur [5, 13, 16, 21, 30].

Las poblaciones de la subespecie *Progne tapera fusca*, golondrina de río, inician su flujo migratorio entre noviembre y marzo desde el sudeste de Bolivia y este de Brasil hasta el centro-sur de Argentina, y presentan una migración entre marzo y noviembre hasta el norte de Sudamérica y Panamá [13].

La golondrina común fue descrita como especie por Carlos Linneo en 1758 en la décima edición de su obra "*Systema naturae*" bajo el nombre científico de "*Hirundo rustica*". "*Hirundo*" significa "golondrina" en latín; *rusticus* quiere decir "campestre". Es la única de las especies del género "*Hirundo*" que se ha extendido a las Américas, siendo la mayoría de ellas, nativa de África [16].

Las principales enfermedades transmitidas por las golondrinas (y por otros pájaros migratorios) son la Fiebre del Oeste del Nilo, la Encefalitis Equina y muchas enfermedades bacterianas, como la causada por *Pseudomonas aeruginosa* y salmonelosis, causada por *Salmonella typhi*, y enfermedades micóticas como la histoplasmosis, causada por *Histoplasma capsulatum* que crece en los intestinos y pulmones de las aves, murciélagos y otros mamíferos salvajes, todos los cuales expulsan las esporas de *Histoplasma* y *Cryptococcus* en sus excrementos [18, 21, 33, 37, 38].

La Guayana venezolana siempre ha sido una región de gran interés para naturalistas, taxónomos, ecólogos y biogeógrafos, debido a la gran diversidad de especies. Hasta el presente se han registrado 891 especies de aves que representan el 63,4 % del total señalado para el país, el 88,3 % de todas las especies registradas para el Escudo Guayanés *sensu lato*, el 90,6 % de las especies endémicas propuestas para el Escudo de las Guayanas y el 47,5 % de las especies endémicas y casi endémicas anotadas para Venezuela [30].

La ciudad de Puerto Ordaz, capital del municipio Caroní del estado Bolívar (Venezuela) recibe cada año, a partir de mayo, la visita de las aves migratorias provenientes del sur del continente Americano, un evento natural considerado por muchos como único en esta región. De este modo, la ciudad se ve impactada por los casi quinientos mil individuos de la especie golondrina de río (*Progne tapera fusca*) de la familia Hirundinidae y tres mil Atrapamoscas tijera (*Tyrannus savana*) de la familia Tyrannidae, que escapando del frío austral, encuentran abrigo en las frondosas ceibas que adornan la Plaza de Las Ciencias del Sur ubicada en la calle Caicara del Centro de Puerto Ordaz. Este es considerado el tercer movimiento migratorio de aves más importante del planeta, y Puerto Ordaz tiene el privilegio de presenciarlo [31].

Con base en lo planteado anteriormente se realizó un estudio cuyo propósito principal fue describir si las aves migratorias *Tyrannus savana* y *Progne tapera fusca* son portadoras de bacterias, parásitos y hongos intestinales que pudieran representar un riesgo para la salud pública en quienes hacen vida en la Plaza de Las Ciencias del Sur y sus alrededores; ya que durante la permanencia de las aves migratorias en la Plaza, ésta es visitada frecuentemente por niños, adultos y turistas de varias partes del mundo, para observar este evento migratorio único.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño de estudio

Se realizó un estudio descriptivo y de cohorte transversal, que consistió en recolectar muestras de excretas de las aves migratorias, practicándose cultivo bacteriano, estudio parasitológico, cultivo micológico y sensibilidad *in vitro* de hongos levaduriformes.

Área de estudio

Estuvo representada por la superficie de la Plaza de las Ciencias del Sur, en Puerto Ordaz (8°18'59"N | 62°42'55"O), ubicada en la calle Caicara, municipio Caroní, estado Bolívar, Venezuela, durante la migración en octubre de 2014. Las excretas se ubicaron a lo largo de la plaza a 100 metros (m) de largo por 8 m de ancho. La plaza es de cemento y está rodeada de calles asfaltadas.

Inspección visual

Se realizó una inspección del lugar con el fin de evidenciar restos de excrementos de aves, la presencia de las aves migratorias y las especies involucradas con la ayuda de un especialista en Ornitología y Biología [36]. Asimismo, se evaluaron posibles factores ambientales asociados. Para ello, se realizaron desplazamientos en todo el sector en un diámetro de 500 m a la redonda.

Muestras

Se recolectaron un total de 24 muestras de excretas de las aves migratorias, con la ayuda de un biólogo ornitólogo, en diferentes sitios de la plaza, cada muestra contenía entre 200-300 gramos (g), mediante baja-lenguas de madera estériles, y fueron colocadas en placas de Petri estériles y selladas. Cada muestra fue identificada, enumerada y luego colocada en bolsas con cierre hermético de primer uso. Una porción de la muestra, 30 g, fue preservada en envases de orina estériles, para el estudio parasitológico con dicromato de potasio al 2,5 % (3:1) y otra igual en formol al 10 %, se homogeneizaron hasta no tener ningún tipo de acúmulos y fueron rotuladas. Se cerraron de manera correcta los recipientes. De las muestras recolectadas, una porción se utilizó para la realización del examen directo (parasitológico y micológico) y el resto para cultivo bacteriano y micológico. Estas fueron trasladadas en cavas con hielo seco hasta el laboratorio de Parasitología y Microbiología, Escuela de Ciencias de la Salud "Dr. Francisco Battistini Casalta" de la Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar, Venezuela. Las placas de Petri con las muestras de excretas se colocaron en refrigeración a 4°C (Frigilux®) hasta el momento de su procesamiento.

Cultivo bacteriano

Para el aislamiento de bacterias se tomaron 24 muestras de excretas de las aves migratorias y se procesaron de acuerdo con la técnica de Shields y Ajello modificada por Pal y Baxter [1, 2, 42], sin añadir antibióticos. Para ello, se realizaron suspensiones de las excretas de aves migratorias en solución salina estéril (0,85 %) en una dilución 1:10 peso/volumen (p/v). Se homogenizó por inmersión, agitándola vigorosamente durante unos 5 minutos (min). Luego se las dejó reposar durante 10 min, transfiriéndose una alícuota de 0,5 mililitros (mL) del sobrenadante de cada dilución (inóculo) en medios para bacterias, por duplicado. El inóculo fue sembrado por agotamiento en la superficie de las placas de Petri contentiva de los medios de cultivo: agar sangre (BD-BBL®), agar MacConkey (Himedia), Eosin Methylene Blue agar (EMB) (Oxoid®), agar Salmonella-Shigella (Oxoid®), agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD) (Oxoid®), caldo de Selenito (Britania®), agar (Oxoid®) sin sangre, suplementándose con cefoperazona. Las placas fueron incubadas a 37°C, durante 24 horas (h) a 72 h. Cuando hubo crecimiento bacteriano, los microorganismos fueron seleccionados según el patrón de crecimiento, color y morfología de las colonias, se realizaron montajes en láminas de cada una de las colonias seleccionadas y se realizaron tinciones de Gram para evidenciar morfología celular y el tipo de tinción. Se realizaron las pruebas bioquímicas pertinentes para las bacterias según la coloración de Gram y se identificaron los diferentes géneros bacterianos [46].

Estudio parasitológico

Para el estudio parasitológico, se tomaron 24 muestras de excretas y se realizó un examen directo de cada una de ellas con solución salina y lugol para la observación de protozoos y/o helmintos. De las porciones de las muestras que fueron preservadas con dicromato de potasio y en formol al 10 % antes de ser analizadas, fueron homogenizadas y sometidas a un proceso de filtrado con gasa, para eliminar los restos alimentarios u otros elementos que pudieran interferir con el estudio. Posteriormente, se dejaron sedimentar en tubos por 24 h. Con este sedimento se procedió a realizar el examen directo de la muestra y con el sedimento de cada una de las muestras, se realizaron 4 frotis, se dejaron secar y luego fueron fijados con metanol. Posteriormente fueron coloreados con Giemsa (1:9), coloración de Kinyoun y Tinción Tricrómica Weber-Green [6]. Se empleó un ocular micrométrico (WF10 X INDAGATOR V, Luminoptic, Australia) para medir los parásitos [6].

Cultivo micológico

Se realizó un examen directo de cada una de las muestras de excretas (n = 24) con KOH al 20 % para la búsqueda de hongos en fresco, observándose al microscopio con objetivos de 10X y 40X (OLYMPUS®, Modelo CH30RF100, Japón). Para el cultivo de hongos, se seleccionaron sólo 5 muestras de las excretas de aves. Estas fueron recogidas a una distancia de 25 m cada una, desde el inicio de la plaza hasta el final (100 m). Para el aislamiento de hongos mediante cultivo, las muestras (n = 5) fueron procesadas según la técnica de Shields y Ajello modificada por Pal y Baxter [1, 2, 42, 43]; similar a lo descrito para el cultivo bacteriano; pero en este caso y para inhibir el crecimiento bacteriano, se le agregó cloranfenicol 0,3 g·L⁻¹ a cada una de las suspensiones de las excretas de aves migratorias en solución salina estéril (0,85 %) en una dilución 1:10 (p/v). Las muestras fueron sembradas por duplicado en medios selectivos: agar Sabouraud (Oxoid®) dextrosa con cloranfenicol, medio agar de

semilla de *Guizotia abyssinica* agar, *Helianthus annuus* (girasol) y agar cerebro corazón (Oxoid®). Los cultivos fueron incubados a 35 y 25°C por duplicado (Memmert®, Modelo IN-30, Alemania). Estos fueron observados hasta por 8 semanas. Cada colonia fue enumerada e identificada hasta el nivel de género, según morfología macroscópica y microscópica. La identificación fue realizada por las técnicas estándar de laboratorio aplicando los siguientes criterios para todos los agentes: las estructuras observadas en el examen directo (con azul de lactofenol) y características macroscópicas y microscópicas de la colonia obtenida. Además, se aplicaron otros criterios: para hongos no dermatofíticos, los indicados por Kwong-Chung y Bennett [27] y Larone [28]. Adicionalmente, se realizaron microcultivos por el método de Ridell y se emplearon claves dicotómicas para la identificación de géneros según Hoog y col. [22].

De cada colonia levaduriforme desarrollada se tomaron muestras y se estudió microscópicamente utilizando tinta china negra (Pelikan®), y azul de lactofenol (Sigma-Aldrich). Además, fueron sometidas a estudio macromorfológico en agar Sabouraud dextrosa, micromorfológico en agar harina de maíz con Tween 80 (Tween® 80 (Polysorbate) Emprove® Essential Ph Eur, JP, NF) y agar leche-Tween 80, crecimiento a distintas temperaturas (37 y 45°C), formación de clamidosporos en agar crema de arroz, producción de tubos germinativos en suero humano a 37°C, producción de la fenoloxidasa en medio de semillas de girasol para su caracterización e identificación en medio agar cromogénico Brilliance® *Candida* Agar (Oxoid®), CHROMagar *Candida*® (CHROMagar Microbiology, París, Francia); así como pruebas bioquímicas utilizando el sistema API 20C y API ID 32C (Biomerieux®, Francia) y el test de urea. La interpretación de las pruebas bioquímicas se realizó mediante el software Apiweb de Biomerieux®. Como cepa control se incluyó: ATCC 22019 (*Candida parapsilosis*), ATCC 6258 (*Candida krusei*), ATCC 90028 (*Candida albicans*). Los aislamientos identificados como *Cryptococcus* spp., fueron sembrados en medio con L-Canavanina Glicina Azul de Bromotimol (CGB) (Sigma®) para la diferenciación entre el Complejo *C. neoformans* y *C. gattii*, y pruebas de asimilación de glicina, prolina y triptófano [4, 25, 26].

Estudio de sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos

Se empleó el método de difusión en medio sólido; para ello, a partir de un cultivo, de las especies de *Candida* spp., de 24 h a 35°C en agar Sabouraud dextrosa (Oxoid®), se preparó una suspensión de las levaduras y se ajustó su concentración a una turbidez de 0,5 en la escala de McFarland (equivalente a 1-5 × 10⁶ Unidades Formadoras de Colonias (UFC·mL⁻¹) con solución salina estéril. Se impregnó un hisopo humedecido con la suspensión ajustada y se inoculó la superficie de una placa de agar Müller Hinton (BBL®) suplementada con glucosa al 2 % y con 0,5 miligramos (mg)·mL⁻¹ de azul de metileno, de modo uniforme. Se dejó secar de 5 a 15 min. Se colocaron los discos de fluconazol: 25 microgramos (µg) (Oxoid®) y voriconazol: 1 µg (Oxoid®), siguiendo las recomendaciones del Comité Internacional de Estandarización de Laboratorios Clínicos (Documentos M44-A2 y M100-S23) [14, 15]. Las placas se incubaron a 35°C durante 24 h (Memmert®, Modelo IN-30, Alemania). Para la lectura e interpretación de los resultados se utilizaron los puntos de corte recomendados por el Instituto de Estándares para el Laboratorio Clínico (CLSI). Para el fluconazol, se consideró como resistente (R) cuando el halo de inhibición fue ≤ 14 milímetros (mm), susceptible dosis dependiente (SDD) entre 15-18 mm y sensible (S) ≥ 19 mm. Para el voriconazol, se consideró como R cuando el halo de inhibición

fue ≤ 13 mm, SDD entre 14-16 mm y $S \geq 17$ mm. Se utilizaron las cepas control de la American Type Culture Collection (ATCC): *C. albicans* ATCC 90028, *C. parapsilosis* ATCC 22019 y *C. krusei* ATCC 6258.

El estudio fue aprobado por la Comisión de Trabajos de Grado de la Universidad de Oriente. Núcleo Bolívar. Ciudad Bolívar, estado Bolívar, Venezuela; quien revisa los aspectos éticos y metodológicos de la investigación.

Los cultivos fueron manejados dentro de una campana de flujo laminar (Airstream Modelo AHC-4D Escó®, Canadá), con un nivel de bioseguridad estricto, manipulando los cultivos con precaución, trabajando con todas las medidas adecuadas de bioseguridad.

Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva. Las variables cualitativas se expresaron indicando las frecuencias absolutas y la proporción de cada una de las categorías. Se utilizó el programa SPSS/PC (Statistical Package for Social Sciences) para Windows versión 21,0 para Ordenador IBM.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aspecto macroscópico de las excretas de las aves migratorias fue de color negro oscuro, de aspecto heterogéneo, pastosa, con olor fuerte a urea y de pH ácido (pH = 3).

Durante la inspección visual se evidenció un olor muy fuerte a urea en todo el lugar, una capa de espesor de excretas en toda la plaza de 2,5 a 3 centímetros (cm); la presencia de abundantes moscas (*Musca domestica*) en todo el lugar, así como la visita de muchas personas, inclusive niños. Además, se observaron animales cercanos al lugar: perros (*Canis familiaris*), gatos (*Felis catus*) y palomas (*Columba livia*).

Un total de 168 placas de Petri fueron cultivadas para bacterias y 80 para hongos; se demostró crecimiento de bacterias, hongos filamentosos y levaduriformes. Las bacterias identificadas en las muestras correspondieron a *Shigella sonnei* (n = 2; 8,3 %) y *Escherichia coli* (n = 1; 4,1 %). En todas las muestras (n = 24; 100 %) se demostraron ooquistes de *Cystoisospora* spp. (20 a 30 micras (μ) x 10 a 18 μ) (FIG 1.); ooquistes de *Cyclospora* spp. (9 a 10 μ) en (n = 8; 33,33 %); quistes de *Endolimax* spp. (n = 1; 4,17 %) y *Blastocystis* spp. (n = 1; 4,17 %).

En el examen directo de las muestras con KOH al 20 %, se observaron los siguientes hongos y estructuras fúngicas: Complejo *Paracoccidioides* spp. (n = 11; 45,8 %) (FIG 2.), blastosporas (n = 24; 100 %), hifas aseptadas (n = 1; 4,17 %) e hifas septadas hialinas (n = 15; 62,5 %).

El aislamiento de microorganismos bacterianos como: *Shigella sonnei* y *Escherichia coli*; parasitarios: *Cystoisospora* spp., *Cyclospora* spp., y *Blastocystis* spp. y fúngicos: *Cryptococcus laurentii* y Complejo *Paracoccidioides* spp., de las excretas de las aves migratorias: *Tyrannus savana* y *Progne tapera fusca*, en la Plaza de las Ciencias del Sur en Puerto Ordaz es de importancia epidemiológica debido, a que estos microorganismos constituyen un riesgo potencial para la salud pública, pudiendo considerar a estas aves migratorias como vehículos de una amplia difusión de los mismos en el estado Bolívar. Por otra parte, las moscas, están en contacto con los excrementos de estas aves, y pueden también vehicular bacterias enteropatógenas y parásitos a poblaciones susceptibles [37].

La asociación de aves con la infección por *Shigella* spp. es poco frecuente [29], a diferencia de lo que ocurre con *Salmonella* spp. [7, 39], *Campylobacter* spp. [19, 40] y *Escherichia coli*, las cuales se aíslan frecuentemente en aves [23, 29, 41, 45]. En cambio, otras bacterias como *Campylobacter* son consideradas agente causal de zoonosis bacteriana de aparición reciente [41]. El hallazgo de *Shigella* spp. en las excretas de las aves migratorias en este estudio, pone de relieve su potencial zoonótico en un entorno urbano, lo que las señala como reservorios, y fuente importante de infección para los niños; la contaminación fecal con estas aves podría contribuir con el incremento de la prevalencia



FIGURA 1. Ooquistes de *Cystoisospora* spp. 400X



FIGURA 2. Levaduras de doble pared, Multigemantes, de diferentes tamaños, del Complejo *Paracoccidioides* spp. Examen directo de las excretas (KOH 20 %). 400 x

de estas infecciones, representando un riesgo potencial para la salud pública, fundamentalmente en quienes estén en contacto con sus excretas.

Este estudio demostró además, una elevada prevalencia de parásitos intestinales, superior al estudio realizado en las aves de la familia Psittacidae, por la Fundación Zoológica de Cali (Valle del Cauca, Colombia) [42]. Asimismo, la prevalencia de coccidios intestinales es superior a la demostrada en Bahía de Buenaventura, por Carvajal y Sánchez [10], quienes informan sobre la presencia de coccidios en el intestino de aves (23/114) de las familias Charadriidae, Scolopacidae, Hirundinidae, Icteridae, Laridae, Fringillidae. Además, encontraron infecciones por parásitos del género *Eimeria* en 18 aves (15 %), *Cystoisospora* en 7 aves (6 %), *Caryospora* en 9 aves (8 %), *Cyclospora* en 1 ave (0,8 %) y *Mantonella* en 7 aves (6 %). Sin embargo, los autores no evidenciaron *Capillaria* spp. ni *Ascaridia* spp. en las muestras de aves migratorias.

Un total de 80 placas fueron cultivadas para la investigación de hongos y se demostró el crecimiento de hongos filamentosos y levaduriformes. Dentro de los hongos filamentosos se identificaron colonias de los géneros *Aspergillus* spp. (n = 53), *Mucor* spp. (n = 6) y *Penicillium* spp. (n = 6). Las UFC fueron entre 1 a 20 UFC. El género *Aspergillus* spp. representó el 72,6 % del total de las colonias fúngicas observadas, seguido de *Mucor* spp. y *Penicillium* spp. (8,2 %, respectivamente). Los hongos levaduriformes aislados correspondieron a *Rodothorula* spp. (n = 2; 2,7 %), *Candida tropicalis* (n = 2; 2,7 %), *Candida famata* (n = 2; 2,7 %), y *Cryptococcus laurentii* (n = 2; 2,7 %).

Los aislamientos de *C. tropicalis* y *C. famata* fueron sensibles a fluconazol y voriconazol (fluconazol = 20 mm y voriconazol = 25 mm).

Varios estudios han demostrado que las aves silvestres migratorias juegan un papel importante en la ecología, la circulación y la difusión de organismos patógenos como los hongos [18, 21]. Además, la migración puede promover la aparición de enfermedades infecciosas y la propagación de agentes infecciosos. *Cryptococcus* spp. se ha aislado de otras especies de aves [18, 40, 44]. Por lo tanto, la presencia de aves no debe considerarse un riesgo sanitario para *Cryptococcus* spp., ya que es un saprófito del tubo digestivo, de un buen número de especies aviarias, pero sí sus excrementos, ya que constituyen un hábitat importante para esta levadura patógena.

La elevada capacidad de supervivencia del microorganismo en estos sustratos, aún desecados e insolados, los convierte en potenciales fuentes de infección, aunque deben existir factores externos, aún no bien conocidos, que influyen poderosamente en la persistencia de *Cryptococcus* en el ambiente [11, 40].

El aislamiento de hongos de las especies *no neoformans*, en los excrementos de aves, como *Cryptococcus laurentii*, fue similar a lo descrito por Rosario y col. [40] en otras aves. Además, del aislamiento de otros hongos oportunistas como: *Candida tropicalis*, *Candida famata*, *Rodothorula* spp., *Aspergillus* spp., *Mucor* spp. y *Penicillium* spp., coincide con lo descrito por otros autores [12, 21, 33, 35]. No se demostraron otros hongos patógenos primarios mediante el cultivo, debido quizás al crecimiento rápido de algunos hongos que impiden el desarrollo de los que crecen lentamente como *Histoplasma capsulatum*, Complejo *Paracoccidioides* spp. y Complejo *Sporothrix schenckii*; sin embargo, es importante destacar que estos sustratos son nichos propicios para el desarrollo de *Histoplasma*, Complejo *Sporothrix schenckii*, Complejo *Cryptococcus neoformas*,

entre otros. Si se emplearan técnicas de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) anidada posiblemente se pudieran descubrir muchos más patógenos en este ambiente [3].

Es importante destacar el aislamiento de microorganismos como *Cryptococcus laurentii* en las excretas de las aves migratorias; ya que éstas podrían ser consideradas vehículos para la difusión de hongos en esta zona del estado Bolívar. Además, otros mamíferos (perros y gatos) pudieran respirar el polvo contaminado con los hongos, siendo probable su contaminación. Considerando que la criptocosis es la cuarta micosis sistémica frecuente en Venezuela, reviste mayor importancia en los Estados con mayor número de casos, como Zulia y Bolívar [34]. Es por ello que deben considerarse medidas de saneamiento ambiental en ambientes sociales urbanos como el evaluado en este estudio. Es recomendable que aquellas personas con enfermedades inmunosupresoras no deambulen en los alrededores de sitios donde permanezcan estas aves migratorias, evitar el paseo de mascotas (perros, gatos) y prevenir que los niños estén en contacto con las excretas de estos animales.

Hasta ahora, no se había demostrado *Paracoccidioides* spp. en aves migratorias (*Tyrannus savana* y *Progne tapera fusca*); sin embargo, se han realizado estudios que demuestran el aislamiento de *Paracoccidioides* spp., en un pingüino (*Pygoscelis adeliae*) de la Antártida Uruguaya. Desde la materia fecal de esta ave marina se aisló el hongo que, recientemente, ha sido considerado como una nueva especie del género *Paracoccidioides*: *P. antarcticus* [20].

Especies de *Paracoccidioides* se han aislado de tejidos de monos ardilla (*Saimiri sciureus*) y murciélagos frugívoros (*Artibeus lituratus*). El armadillo (*Dasypus novemcinctus*) suele estar infectado, pero no manifiesta los signos de la enfermedad. Otros animales en los que se ha identificado la presencia del hongo, por medio de técnicas moleculares, son: cuis (*Cavia aperea*), puerco espín (*Spiggurus spinosus*), mapache (*Procyon cancrivorus*), grisón (*Galictis vittata*) y armadillo (*Dasypus novemcinctus*) [3, 8].

También existen algunas evidencias de que los perros pueden ser infectados naturalmente por *Paracoccidioides* spp., en las zonas endémicas de la paracoccidioidomicosis [17], de allí la importancia de que las excretas de estas aves migratorias sean recogidas por el riesgo de infección de otros mamíferos (perros, gatos) que pudieran frecuentar los sitios donde permanecen.

El género *Aspergillus* fue el hongo más frecuentemente aislado. Se ha señalado que la inhalación de conidios de *Aspergillus* spp. por el ser humano no suele producir manifestaciones clínicas pero, en determinados pacientes, puede asociarse con una amplia variedad de presentaciones clínicas que van desde el aspergiloma a la aspergilosis invasiva y varios tipos de cuadros alérgicos [24].

En estudios previos también se ha aislado *Candida albicans* del tracto digestivo y en excretas de aves acuáticas migratorias [9] y en *Hirundo rustica* [21], a diferencia de esta investigación donde no se aisló *C. albicans* sino otras especies no *albicans*. Otras especies de *Candida*, *Rhodotorula rubra*, *Cryptococcus albidus* y *Trichosporon cutaneum* han sido identificadas en aves migratorias [33] e incluso se ha encontrado resistencia a múltiples antimicóticos [32], a diferencia del presente estudio, donde todas las levaduras no *albicans* aisladas como *Candida tropicalis* y *C. famata*, fueron sensibles a fluconazol y voriconazol.

CONCLUSIONES

Se demostró la presencia de bacterias patógenas: *Shigella sonnei* y *Escherichia coli*, una elevada presencia de parásitos *Cystoisospora*, *Cyclospora*, *Endolimax* spp. y *Blastocystis* spp., y hongos patógenos como el Complejo *Paracoccidioides* así como hongos oportunistas: *Aspergillus* spp., y *Cryptococcus laurentii*, en las excretas de las golondrinas migratorias *Tyrannus savana* y *Progne tapera fusca*, que pernotan en la Plaza de las Ciencias del Sur, en Puerto Ordaz.

Es recomendable tomar todas medidas que eviten la acumulación de las excretas de aves migratorias. Es deseable que los resultados de este estudio puedan apoyar los programas de vigilancia epidemiológica y contribuir con el control y prevención de las infecciones transmitidas por aves.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses y son los únicos responsables del contenido y la redacción del trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AJELLO, L. Occurrence of *Cryptococcus neoformans* in soil. **Am. J. Hyg.** 67(1): 72-7. 1958.
- [2] AJELLO, L.K.; KAPLAN, W.; KAUFMAN, L. **Laboratory Manual for Medical Mycology**. No. 994. Public Health Service Publication, Washington DC. 24 pp. 1963.
- [3] ARANTES, T.D.; THEODORO, R.C.; DA GRACA-MACORIS, S.A.; BAGAGLI, E. Detection of *Paracoccidioides* spp. in environmental aerosol samples. **Med. Mycol.** 51: 8392. 2013.
- [4] BENNET, J.; KWON-CHUNG, K.; HOWARD, D. Epidemiologic differences among serotypes of *Cryptococcus neoformans*. **Am. J. Epidemiol.** 105: 582-586. 1977.
- [5] BERTHOLD, P. **Bird Migration: A General Survey**. 2da Ed. Oxford University Press, England. 266 pp. 2001.
- [6] BOTERO, D.; RESTREPO, M. **Parasitosis Humanas**. 4ta Ed. Editorial Corporación para Investigaciones Biológicas, Colombia. 506 pp. 2003.
- [7] BOTTI, V.; NAVILLOD, F.V.; DOMENIS, L.; ORUSA, R.; PEPE, E.; ROBERTO, S.; GUIDETTI, C. *Salmonella* spp. and antibiotic-resistant strains in wild mammals and birds in north-western Italy from 2002 to 2010. **Vet. Ital.** 49(2): 195-202. 2013.
- [8] BRUMMER, E.; CASTANEDA, E.; RESTREPO, A. Paracoccidioidomycosis: an update. **Clinic. Microbiol. Rev.** 6:89117. 1993.
- [9] BUCK, J.D. Isolation of *Candida albicans* and halophilic *Vibrio* spp. from aquatic birds in Connecticut and Florida. **Appl. Environ. Microbiol.** 56: 826-828. 1990.
- [10] CARVAJAL, H.; SÁNCHEZ, A. Coccidias en algunas aves marinas migratorias y residentes de punta soldado, Bahía de Buenaventura. **Actual. Biol.** 13:47. 1982.
- [11] CASADEVALL, A.; PERFECT, J. Ecology of *Cryptococcus neoformans*. In: **Cryptococcus neoformans**. Hardcover, AMS Press. Washington, DC, Pp. 41-70. 1998.
- [12] CERMEÑO, J.R.; HERNÁNDEZ, I.; CABELLO, I.; ORELLÁN, Y.; CERMEÑO, J.J.; ALBORNOZ, R.; PADRÓN, E.; GODOY, G. *Cryptococcus neoformans* and *Histoplasma capsulatum* in dove's (*Columbia livia*) excreta in Bolívar state, Venezuela. **Rev. Latinoam. Microbiol.** 48(1): 6-9. 2006.
- [13] CHESSER, T. Migration in South America: an overview of the austral system. **Bird Conserv. Intern.** 4(2-3): 91-107. 1994.
- [14] CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; Approved Guideline. 2nd. Ed. CLSI document M44-A2. Wayne, Pa. 23 pp. 2009.
- [15] CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. CLSI/NCCLS. Document M100-S23. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Third Informational Supplement. Wayne, Pa. 199 pp. 2013.
- [16] DICKINSON, E.; ECK, S.; MILENSKY, C.M. «Systematic notes on Asian birds. Eastern races of the barn swallow *Hirundo rustica* Linnaeus, 1758». **Zool. Verh. Leiden.** 340: 201-203. 2002.
- [17] FONTANA, F.F.; DOS SANTOS, C.T.; ESTEVES, F.M.; ROCHA, A.; FERNANDES, G.F.; DO AMARAL, C.C.; DOMINGUES, M.A.; DE CAMARGO, Z.P.; SILVA-VERGARA, M.L. Seroepidemiological survey of paracoccidioidomycosis infection among urban and rural dogs from Uberaba, Minas Gerais, Brazil. **Mycopathol.** 169(3): 159-165. 2010.
- [18] FOTI, M.; RINALDO, D.; GUERCIO, A.; GIACOPELLO, C.; ALEO, A.; DE LEO, F.; FISICHELLA, V.; MAMMINA, C. Pathogenic microorganisms carried by migratory birds passing through the territory of the island of Ustica, Sicily (Italy). **Pathol. Aviar.** 40(4): 405-409. 2011.
- [19] FRENCH, N.P.; MIDWINTER, A.; HOLLAND, B.; COLLINS-EMERSON, J.; PATTISON, R.; COLLES, F.; CARTER, P. Molecular epidemiology of *Campylobacter jejuni* isolates from wild-bird fecal material in children's playgrounds. **Appl. Environ. Microbiol.** 75(3): 779-783. 2009.
- [20] GARCIA, N.M.; DEL NEGRO, G.M.; HEINS-VACCARI, E.M.; DE MELO, N.T.; DE ASSIS, C.M.; LACAZ, S. *Paracoccidioides brasiliensis*, a new sample isolated from feces of a penguin (*Pygoscelis adeliae*). **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.** 35(3): 227-235. 1993.
- [21] HEDAYATI, M.T.; MAYAHI, S.; FAKHAR, M.; SHOKOHI, T.; MAJIDI, M. *Cryptococcus neoformans* isolation from swallow (*Hirundo rustica*) excreta in Iran. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.** 53(3): 125-127. 2011.
- [22] HOOG, G.; GUARRO, J.; GENE, J.; FIGUERAS, M. **Atlas of clinical fungi**. 2da Ed. Universitat Rovira. Barcelona, España. 1126 pp. 2000.
- [23] KITADAI, N.; OBI, T.; YAMASHITA, S.; MURASE, T.; TAKASE, K. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from feces of wild cranes migrating to Kagoshima, Japan. **J. Vet. Med. Sci.** 74(3): 395-397. 2012.
- [24] KOLTSIDA, G.; ZAOUTIS, T. Fungal lung disease. **Paediatr. Respir. Rev.** 37: 99-104. 2021.

- [25] KWON-CHUNG, K.; POLACHEK, I.; BENNETT, J. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (Serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (Serotypes B and C). **J. Clin. Microbiol.** 15: 535-537. 1981.
- [26] KWON-CHUNG, K.J.; BENNETT, J.E. Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. **Am. J. Epidemiol.** 120(1): 123-130. 1984.
- [27] KWONG-CHUNG, K.; BENNETT, J. **Medical Mycology**. Lea and Febiger. Philadelphia. 102 pp. 1992.
- [28] LARONE, D. **Medicaly important fungi. A guide to identification**. 3ra Ed. ASM Press, Washington DC, 274 pp. 1995.
- [29] LEE, H.Y.; STEPHEN, A.; SUSHELA, D.; MALA, M. Detection of protozoan and bacterial pathogens of public health importance in faeces of *Corvus* spp. (large-billed crow). **Trop. Biomed.** 25(2): 134-139. 2008.
- [30] LENTINO, M.; SALCEDO, M.; MALAVÉ, V. Aves del Escudo Guayanés de Venezuela. En: Lasso, C.A.; Señaris, J.C. (Eds.), Volumen VI. **Fauna Silvestre del Escudo Guayanés (Colombia-Venezuela)**. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Serie Editorial Fauna Silvestre Neotropical: Bogotá, DC. Colombia. 2018.
- [31] LEÓN, J. Golondrinas Migratorias Australes en Ciudad Guayana. 2012. En línea: <https://bit.ly/3GRMw2d>. 03.01.2014.
- [32] LORD, A.T.; MOHANDAS, K.; SOMANATH, S.; AMBU, S. Multidrug resistant yeasts in synanthropic wild birds. **Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.** 23: 9-11. 2010.
- [33] MANCIANTI, F.; NARDONI, S.; CECCHERELLI, R. Occurrence of yeasts in psittacines droppings from captive birds in Italy. **Mycopathol.** 153(3): 121-124. 2002.
- [34] MARTÍNEZ, D.; HERNÁNDEZ, R.; ALVARADO, P.; MENDOZA, M. Mycoses in Venezuela: Working Groups in Mycology reported cases (1984-2010). **Rev. Iberoam. Micol.** 30(1): 39-46. 2013.
- [35] MENDES, J.F.; ALBANO, A.P.; COIMBRA, M.A.; FERREIRA, G.F.; GONÇALVES, C.L.; NASCENTE, S.; BRAGA DE M., J.R. Fungi isolated from the excreta of wild birds in screening centers in Pelotas, RS, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.** 56(6): 525-528. 2014.
- [36] NARANJO, L.G.; AMAYA, J.D.; USSE-GONZÁLEZ, D.; CIFUENTES-SARMIENTO, Y. Colibríes, Chupalines, Tominejas, Quinches, Tucositos. En: **Guía de las Especies Migratorias de la Biodiversidad en Colombia - Aves**. Volumen 1. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. Colombia, Pp 345-611. 2012.
- [37] RAHUMA, N.; GHENGESH, K.S.; BENAÏSSA, R.; ELAMAARI, A. Carriage by the housefly (*Musca domestica*) of multiple-antibiotic-resistant bacteria that are potentially pathogenic to humans, in hospital and other urban environments in Misurata, Libya. **Ann. Trop. Med. Parasitol.** 99(8): 795-802. 2005.
- [38] REED, K.D.; MEECE, J.K.; HENKEL, J.S.; SHUKLA, S.K. Birds, migration and emerging zoonoses: West Nile virus, Lyme disease, influenza A and enteropathogens. **Clin. Med. Res.** 1: 5-12. 2003.
- [39] REFSUM, T.; HANDELAND, K.; BAGGESEN, D.L.; HOLSTAD, G.; KAPPERUD, G. *Salmonella* in avian wildlife in Norway from 1969 to 2000. **Appl. Environ. Microbiol.** 68:5595-5599. 2002
- [40] ROSARIO, I.; ACOSTA, B.; COLOM, F. La paloma y otras aves como reservorio de *Cryptococcus* spp. **Rev. Iberoam. Micol.** 25(1): S13-S18. 2008.
- [41] RYU, H.; GROND, K.; VERHEIJEN, B.; ELK, M.; BUEHLER, D.M.; SANTO DOMINGO, J.W. Intestinal microbiota and species diversity of *Campylobacter* and *Helicobacter* spp. in migrating shore birds in Delaware Bay. **Appl. Environ. Microbiol.** 80(6): 1838-1847. 2014
- [42] SANTACRUZ-BURBANO, P.; ORJUELA-ACOSTA, D.; BENAVIDES-MONTAÑO, J.; MARTÍNEZ, K. Parásitos gastrointestinales en las aves de la familia Psittacidae en la Fundación Zoológica de Cali (Cali, Valle del Cauca, Colombia). **Med. Vet.** 20(6): 67-72. 2003.
- [43] SHIELDS, A.B.; AJELLO, L. Medium for selective isolation of *Cryptococcus neoformans*. **Sci.** 151(3707): 208-209. 1966.
- [44] TAY, S.T.; CHAI, H.C.; NA, S.L.; HAMIMAH, H.; ROHANI, M.Y.; SOO-HOO, T.S. The isolation, characterization and antifungal susceptibilities of *Cryptococcus neoformans* from bird excreta in Klang Valley, Malaysia. **Mycopathol.** 159(4): 509-513. 2005.
- [45] WANG, C.G.; LV, J.C.; ZHANG, T. Detection of resistance phenotype and genotype of avian *Escherichia coli* in Hebei Province. **Poult. Sci.** 92(9): 2326-2332. 2013.
- [46] WINN, W.; ALLEN, S.; JANDA, W.; KONEMAN, E.; PROCOP, G.; SCHERECKENBERGER, P.; WOOD, G.L. **Koneman Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas en color**. 6ta Ed. Médica Panamericana. SA, Buenos Aires. 1691 pp. 2008.