

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Aspergillus spp* EN HECES DE PALOMAS (*Columba livia*), EN LA UAAAN UL

**POR
DALIA OLYMPIA MEDINA CRUZ
TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA; MEXICO

MARZO DE 2010

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Aspergillus spp* EN HECES DE PALOMAS (*Columba livia*), EN LA UAAAN UL

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

POR

DALIA OLYMPIA MEDINA CRUZ

ASESOR PRINCIPAL

MC. JOSÉ LUIS CORONA MEDINA

TORREÓN, COAHUILA; MEXICO

MARZO DE 2010

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

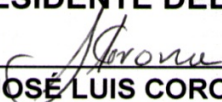


TESIS

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Aspergillus spp* EN HECES DE PALOMAS (*Columba livia*), EN LA UAAAN UL

Tesis Aprobada por el

PRESIDENTE DEL JURADO


MC. JOSÉ LUIS CORONA MEDINA

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL**


MC. JOSÉ LUIS FCO. SANDOVAL ELÍAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA



COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN
REGIONAL
CIENCIA ANIMAL

TORREÓN, COAHUILA; MEXICO

MARZO DE 2010

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TESIS

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Aspergillus*
spp EN HECES DE PALOMAS (*Columba livia*), EN
LA UAAAN UL**

TESIS APROBADA POR EL H. JURADO EXAMINADOR




MC. JOSÉ LUIS CORONA MEDINA
PRESIDENTE



MC. MARGARITA YOLANDA MENDOZA RAMOS
VOCAL



DR. RAFAEL RODRIGUEZ MARTÍNEZ
VOCAL



MC. RAMON ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ
VOCAL SUPLENTE

TORREÓN, COAHUILA; MEXICO

MARZO DE 2010

AGRADECIMIENTOS

A Dios:

Por concederme la gracia de vivir todo este tiempo, por la grandeza de la fe que me hace creer y por el lenguaje silencioso que usa para mostrarme el camino acertado.

Quiero agradecer inmensamente al MC. José Luis Corona Medina por el apoyo como asesor en mi trabajo de tesis.

Un agradecimiento especial para la MC. Margarita Y. Mendoza Ramos por ser la persona que es, que con su apoyo y palabras dieron ánimos de seguir adelante durante mi carrera.

Al MCV. Ramón A. Delgado González el cual ha demostrado que realmente posee la vocación para enseñar y hacer lo que un buen maestro hace, dar la milla extra. Por todo el apoyo durante mi carrera.

A la Dra. Marisela del Rocío González Martínez por su tiempo en instruir cada paso en el Laboratorio para llegar a concluir el proceso del experimento.

Agradezco considerablemente al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Coahuila por permitir realizar el trabajo de investigación.

Así mismo, a la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, Unidad Laguna; por haberme dado abrigo bajo su techo durante 5 largos años y haberme formado como profesional, un Médico Veterinario Zootecnista y así lograr mi sueño de terminar una carrera universitaria.

Gracias a mi Alma Terra Mater.

DEDICATORIA

A mis Padres:

Ing. Bonifacio Medina Martínez y Lic. Martha Alicia Cruz Rodríguez por darme la vida, su apoyo absoluto. Por enseñarme los valores que me formaron y me hacen ser la persona que soy, por impulsarme a seguir adelante con sus consejos cada vez que claudicaba, por ser mis amigos, por su amor y su tiempo.

Les Agradezco todo el esfuerzo que hacen por mí, tanto moral como económico, toda mi vida estaré agradecida... Los Amo.

A mi hermano:

Oscar Gilberto Medina Cruz que siempre ha estado cerca en mi vida para apoyarme, brindarme su amor y consejos, por defenderme contra quien sea en todo momento y por estar siempre conmigo en buenos y malos tiempos, por todo eso y más, te amo hermanito.

A mi Amiga:

MVZ. Ma. de la Luz Villa Martínez por ser mi amiga, pasar conmigo estos cinco largos años, brindándome tu amistad y apoyo. Gracias por tener lealtad y por levantar mi ánimo cuando caía. Por seguir pasando los momentos más tristes y agotadores pero también las mejores aventuras. Te quiero. Gracias Luz.

A mi novio:

MVZ. Juan Manuel Barco Rivera por darme la mano siempre que necesité apoyo, para prevenir, planear alguna cosa o concluir otra, incluso descubrir una tercera. Por tu amor y por cada uno de los momentos que estamos pasando juntos. Te amo. Gracias Barco.

INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	VI
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Historia	3
2.2 Etiología	3
2.3 Clasificación Taxonómica	4
2.4 Ciclo Biológico	5
2.5 Fuentes naturales.....	6
2.6 Distribución geográfica	7
2.7 Morfología.....	7
2.7.1 Características Macroscópicas	7
2.7.2 Características microscópicas	8
2.8 Epidemiología.....	10
2.9 Cuadro clínico.....	11
2.10 Estudios de Laboratorio	12
2.11 Tratamiento.....	13
HIPÓTESIS.....	14
OBJETIVO.....	14
III. Materiales y Métodos	15
3.1 Lugar de Estudio.....	15
3.2 Recolección de muestras.....	15
3.3 Material de Laboratorio	17
3.4 Procesamiento de las Muestras	17

3.5 Técnica.....	21
IV. RESULTADOS	23
V. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	25
GLOSARIO	27
REFERENCIAS.....	30

INDICE DE ILUSTRACIONES.

Figura 1 Ciclo de vida del <i>Aspergillus</i> spp. Tomado de: (Akar, et al., 2007).....	6
Figura 2 Conidióforos del <i>Aspergillus</i> Tomado de: (Ancasi, et al., 2006).....	8
Figura 3 Se muestran cada una de las partes del <i>Aspergillus</i> Tomado de: (Dunkin y Dunkin, 2003)	9
Figura 4 <i>Aspergillus fumigatus</i> . Conidióforo Tomado de: (Abarca, 2000)	9
Figura 5 <i>Aspergillus</i> spp., vista desde el microscopio. Tomado de: (McCauley, 2009).....	10
Figura 6 Localización de las áreas de donde se tomaron las muestras en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna.....	16
Figura 7 Frascos con muestras de heces selladas e identificadas.....	16
Figura 8 Administración de antibióticos a los frascos con solución salina al 0.9%	19
Figura 9 Hidratación de las heces para su cultivo.	19
Figura 10 Agitando la muestra en el Vortex.....	20
Figura 11 Extrayendo 0.5 ml de la mezcla para siembra en los medios de cultivo.....	21
Figura 12 Incubación de las muestras.	21
Figura 13 Identificación de la colonia y microscopía.	22
Figura 14 Porcentaje en las diferentes especies de <i>Aspergillus</i> spp.sobre las 54 muestras positivas.	24

RESUMEN

El fin del presente estudio fue determinar la presencia de *Aspergillus spp.* en las heces de palomas del género *Columba livia* en las instalaciones de la UAAAN-UL. Se analizaron muestras recolectadas de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” Unidad Laguna en distintos puntos donde se agrupan las palomas, de las cuales la mayoría lleva una vida silvestre. Dichas muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Coahuila; el proceso para el cultivo y crecimiento del hongo estuvo bajo condiciones de temperatura y humedad óptimas para el *Aspergillus spp.* de otros tipos de hongos, por medio de su morfología y la técnica de cinta adhesiva. No se pueden distinguir *Aspergillus spp.* a simple vista, para poder identificarlo hay que aislarlo resembrando en medio Agar Dextrosa Sabouraud y Agar Dextrosa Papa y teñirlos con azul de algodón vistos en un estereoscopio y microscopio. Posteriormente se hizo un conteo del total de las muestras positivas a éste tipo de hongo para identificarlas por especie.

Palabras clave: *Aspergillus spp.*, Agar Dextrosa Sabouraud, colonias, *Columba livia*.

I. INTRODUCCIÓN

La Aspergilosis es una infección micótica en la cual un hongo invade y destruye tejido. Este tipo de infección normalmente se presenta en individuos inmunocomprometidos (Tango, 2006) y puede afectar tanto a los seres humanos como a los animales con sistema inmune comprometido (García, *et al.*, 2004; Lo, *et al.*, 2003), lo cual la convierte en un problema de salud pública, porque las palomas se distribuyen en casi cualquier parte.

La Aspergilosis se encuentra entre unas de las enfermedades de mayor importancia zoonótica ya que puede ser transmitida a través del aire o de las excretas de la paloma. Dado que las zonas hospitalarias son las más susceptibles se encuentran ahí un gran número de estas aves. La problemática surge cuando se les alimenta en exceso, ya que pueden ingerir todo el alimento necesario (20 a 50 g.) en unos minutos, y el resto del día dedicándose a procrear. Es esta alimentación artificial y excesiva la que aumenta la población en forma exagerada, obligando a las palomas a malvivir en condiciones pésimas.

Las heces de las palomas en sí, no son perjudiciales por sí mismas, sino que aunadas con agua forman un caldo de cultivo óptimo para diversos hongos incluyendo *Aspergillus spp.* y por ser una zoonosis es de gran interés para la Medicina Veterinaria y Medicina Humana.

El polvo de las casas es un nicho ecológico muy adecuado para el *Aspergillus spp.* Este hongo produce un importante número de metabolitos con efectos antibióticos y tóxicos. Favorece a enfermedades de componente alérgico a través de los numerosos alérgenos que posee. El pequeño tamaño de sus conidias permite que sean aspiradas y que pueda causar infección en el pulmón y en los senos paranasales. Su capacidad de crecer a 37°C, es lo que le hace idóneo para afectar al humano. Además de su capacidad de adherencia a superficies epiteliales y su gran tendencia a invadir los vasos sanguíneos.

En éste estudio se tomaron muestras de heces de palomas para la identificación del hongo *Aspergillus spp.*, para resaltar la importancia de que mientras existan las palomas del género *Columba livia* va a ser propagada este tipo de micosis dañinas para el hombre y los animales.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Historia

El género *Aspergillus* fue descrito por primera vez en 1729 por el biólogo Italiano P. A. Micheli, quien comprobó que la cabeza conidial de éste hongo se parecía a un “aspergillum” (instrumento utilizado para dispersar agua bendita) (Alcalá, *et al.*).

La Aspergilosis Aviar fue descrita por primera vez antes del siglo XVIII, siendo el primer caso registrado en Inglaterra por Owen a comienzos de 1832, en un flamenco. En un periodo de 15 años en el zoológico Nandankanan 300 de 1500 aves, representativas de 11 especies fueron diagnosticadas con micosis en la necropsia (German, *et al.*).

El agente causal de la Aspergilosis aviar usualmente es *A. fresenius* con reportes ocasionales de *A. flavus* y *A. nidulans*; *A. terreus* se ha reportado en una paloma cautiva (German, *et al.*), aunque casos de Aspergilosis son raros en aves salvajes y la enfermedad se empezó a vincular en mayor parte en agua con malas condiciones y clima (German, *et al.*).

La Aspergilosis es una infección micótica en la cual un hongo invade y destruye el tejido. Este tipo de infección normalmente se presenta en individuos inmunocomprometidos (Tango, 2006).

2.2 Etiología

Las especies de *Aspergillus* están ampliamente distribuidas en la naturaleza donde actúan como saprófitos comunes en granos, hojas, suelo y desperdicios (Atherton, *et al.*; Koneman y Roberts, 2007; Soubani y Chandrasekar, 2002). Los conidios se dispersan rápidamente y el hombre más comúnmente se infecta por la inhalación de esporas transportadas por el aire (Koneman y Roberts, 2007). Los conidios nacen de una célula base del micelio, ensanchado al final de una vesícula amplia, coronada de esterigmas en

forma de redoma. Las colonias son de crecimiento rápido, planas, vellosas, compactas, de aspecto aterciopelado y consistente. Su crecimiento es más rápido a 37°C (Pontón, *et al.*, 2002).

El hongo *Aspergillus spp.* es productor de enfermedades de distribución universal que ocasionalmente pueden aparecer en forma de brotes hospitalarios tras obras de remodelación (Alcalá, *et al.*; Ronning, *et al.*, 2005).

Solo unas pocas especies, de las más de 500 que se incluyen en el género *Aspergillus spp.* se han descrito como causantes de patología en el hombre. *A. fumigatus* es la de mayor interés médico especialmente como causa de enfermedad invasiva en enfermos inmunodeprimidos (Torres, 2001).

Diversas formas de enfermedad pulmonar, incluyendo aspergiloma, infección broncopulmonar alérgica y neumonía invasiva son las manifestaciones más comunes (Koneman y Roberts, 2007).

2.3 Clasificación Taxonómica

Desde 1965, el texto por excelencia sobre el género ha sido “The genus *Aspergillus*” de Raper y Fennell. Este género incluye más de 180 especies distribuidas en 18 grupos. (Abarca, 2000), observándose en el cuadro 1 la clasificación taxonómica actual según (Pontón, *et al.*, 2002)

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Aspergillus spp.*

Clasificación Taxonómica	
Reino	<i>Fungi</i>
Phylum	<i>Ascomycota</i>
Clase	<i>Euscomycetes</i>
Orden	<i>Eurotiales</i>
Familia	<i>Trichocomaceae</i>
Genero	<i>Aspergillus</i>

2.4 Ciclo Biológico

El *Aspergillus* tiene un ciclo biológico simple y una de sus características principales es la alta capacidad de esporulación y como consecuencia, la generación de concentraciones altas de esporas en el aire (Torres, 2001)

El género *Aspergillus* posee conidiosporos que nacen en cadenas y que se originan en células especializadas llamadas *esterigmas* o *fiálides*, los conidioforos poseen una célula basal o célula pie bien diferenciadas; el órgano de reproducción asexual se asemeja a un hisopo o aspersorio de donde deriva la palabra *Aspergillus*. En el género *Aspergillus*, los esterigmas pueden presentarse en una o en dos filas, los esterigmas primarios y secundarios respectivamente; cuando hay dos filas, los esterigmas primarios sirven de sostén a los secundarios y a partir de éstos se originan los conidiosporos; en cambio si hay una sola fila de esterigmas de ella se originan los conidiosporos. Cada esterigma no es más que una célula con un núcleo que se divide en dos; el núcleo que queda hacia la parte externa se rodea de protoplasma y membrana transformándose en conidiosporo. El núcleo que queda en la parte basal del esterigma vuelve a dividirse para formar otro esporo y así sucesivamente mientras el medio sea favorable; por lo tanto las conidias más viejas y maduras de la cadena son las más externas o sea las más alejadas del esterigma que les dio origen (Raisman y Gonzalez, 2008).

Al germinar un conidiosporo de *Aspergillus* en un medio favorable produce un micelio vegetativo del cual nacen los conidióforos que terminan en una vesícula aspergilar; de ella se originan una o varias filas de esterigmas y a partir de éstos se forman los conidiosporos (esporos asexuados externos) y que al caer de nuevo al medio reinician el ciclo asexual (Raisman y Gonzalez, 2008). El ciclo completo del *Aspergillus* spp. se observa en la figura 1.

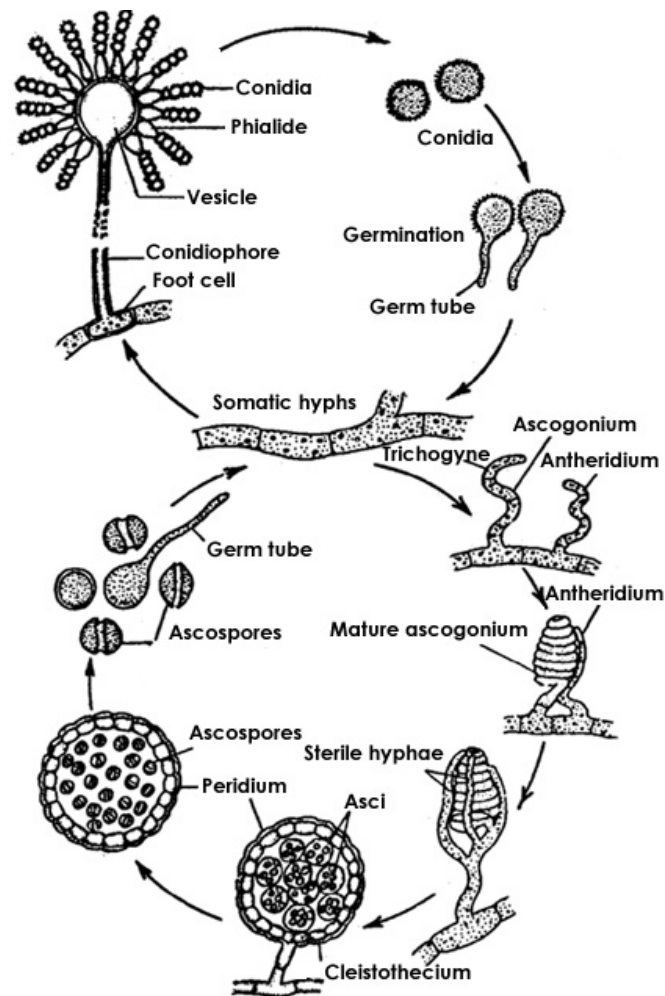


Figura 1 Ciclo de vida del *Aspergillus* spp. Tomado de: (Akar, et al., 2007)

2.5 Fuentes naturales

Su calificación de cosmopolita se debe a que es un saprobio (obtiene su energía de la materia orgánica en disolución de tejidos muertos o en descomposición) que se ha aislado prácticamente de todo tipo de sustrato. El polvo de las casas es un nicho ecológico muy adecuado. La especie es capaz de crecer entre los 12 y los 57 °C, lo que posibilita su desarrollo en restos orgánicos (estiércol, vegetación muerta) calentados por reacciones de fermentación bacteriana. Soporta una pasterización a 63 °C durante 25 min. Este hongo

produce un importante número de metabolitos con efectos antibióticos y tóxicos (Soubani y Chandrasekar, 2002; Teruel, 2008)

Aspergillus spp. se ha aislado en sistemas de ventilación, aire, agua, superficies, comida, plantas y a partir de polvo generado durante trabajos de construcción y renovación de edificios (Torres, 2001).

2.6 Distribución geográfica

Éste género es de distribución mundial, se ha presentado en casi todos los animales domésticos y pájaros así como en muchas especies salvajes (Atherton, *et al.*; Lair-Fuller, *et al.*, 2003), siendo el hongo patógeno más prevalente en el aire en los países desarrollados (Abarca, 2000; Latgé, 2001), aunque se han informado que abortos bovinos han sido por causa de hongos como el *Aspergillus* en América del Norte y Europa (Atherton, *et al.*) y, en el caso de la Aspergilosis Aviar las pérdidas económicas severas ocurren, principalmente en áreas de crianza intensiva (Atherton, *et al.*).

2.7 Morfología

2.7.1 Características Macroscópicas

El mejor método es en cajas de petri donde se colocan pequeñas piezas de las lesiones o tejidos afectados para hacer germinar en Agar Sabouraud ó Agar Glucosa que contengan antibióticos antibacterianos. El crecimiento micelial es usualmente visible dentro de las 24 horas a 37°C y las características de los conidióforos son producidos después, dentro de dos días (Atherton, *et al.*).

El color es la principal característica macroscópica para la identificación de los grupos de

Aspergilos. A simple vista las más grandes cabezas conidiales suelen parecer diminutos alfileres sobre el substrato (Ancasi, *et al.*, 2006)

Los *Aspergillus* en medios de cultivo forman colonias de crecimiento rápido, de textura variable (aterciopelada, granular, algodonosa) y con muy variadas coloraciones: blanco o verde-azulado (*A. Fumigatus*), verde-amarillento (*A. Flavus*), negro (*A. Niger*), marrón (*A. Terreus*) Esta coloración aparece casi siempre en todas las estructuras aéreas, tanto en el micelio como en las cabezas conidiales (Lorbé, 2008).

2.7.2 Características microscópicas

El estudio de la morfología microscópica sobre laminocultivo en medio de Czapek es el sistema indicado para identificación de las diversas especies de *Aspergillus* (Lorbé, 2008), las cabezas conidiales presentan bajo el microscopio cuatro formas básicas: globosa, radiada, columnar o claviforme (Ancasi, *et al.*, 2006), (Ver figura 2).

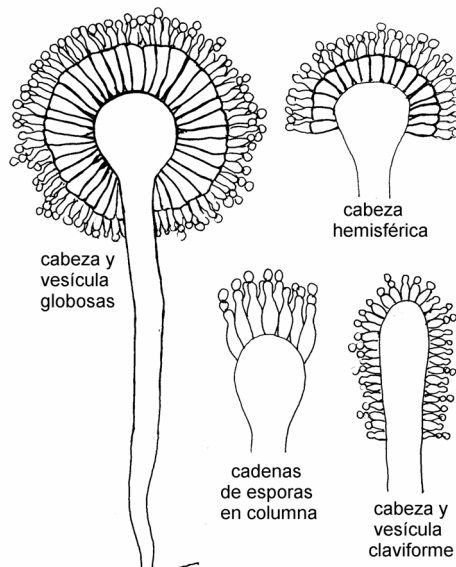


Figura 2 Conidióforos del *Aspergillus* Tomado de: (Ancasi, *et al.*, 2006)

En los aspergilos, los conidios constituyen cadenas que se originan en la célula conidiógena o fiálide. En algunos aspergilos hay células adyacentes a las fiálides denominadas métulas o células de soporte. Los *Aspergillus* poseen una o dos series de células sobre la vesícula, o bien presentan simultáneamente cabezas de ambos tipos (Ancasi, *et al.*, 2006). Es un hongo filamentoso con conidióforos cortos ($300 \times 3-8 \mu\text{m}$), incoloros o ligeramente verdosos, sin tabicar y sin ramificaciones (Soubani y Chandrasekar, 2002), cada una de las partes que conforman al *Aspergillus spp.* se muestran en la figura número 3. Figura 4, se muestra el *Aspergillus fumigatus*. Figura 5, vista desde el microscopio del *Aspergillus spp.*

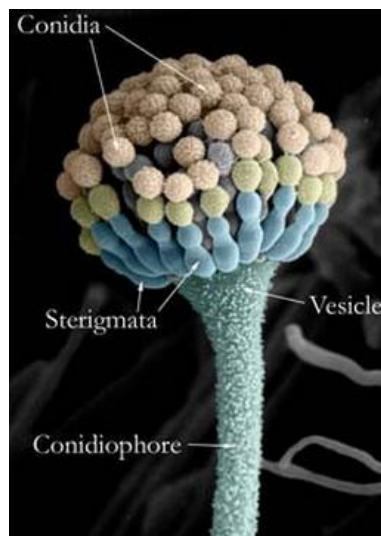


Figura 3 Se muestran cada una de las partes del *Aspergillus* Tomado de: (Dunkin y Dunkin, 2003)



Figura 4 *Aspergillus fumigatus*. Conidióforo Tomado de: (Abarca, 2000)

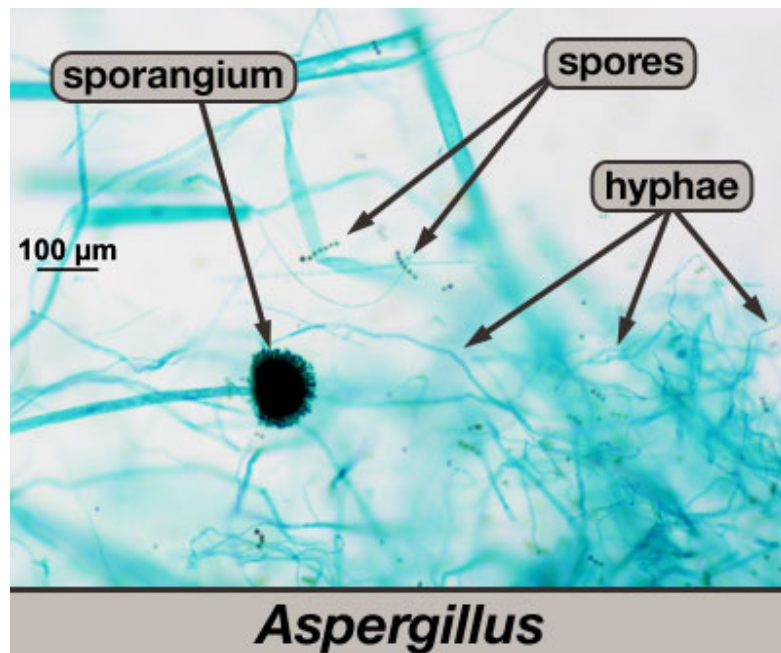


Figura 5 *Aspergillus spp.*, vista desde el microscopio. Tomado de: (McCauley, 2009)

2.8 Epidemiología

Una de las características principales del *Aspergillus* es la alta capacidad de esporulación y como consecuencia, la generación de concentraciones altas de esporas en el aire. Aunque humanos y animales inhalan continuamente esporas de *Aspergillus spp.* éstas son eliminadas eficientemente por el sistema inmune y raramente producen enfermedad. Pero en la actualidad, *A. fumigatus* es uno de los principales patógenos que causa enfermedad invasora, normalmente fatal, en pacientes inmunocomprometidos (Torres, 2001).

La colonización por *Aspergillus* se caracteriza por la formación de masas de hifas septadas (aspergilomas) en el interior de cavidades pulmonares preexistentes o en los senos paranasales (Gaztelu y Miner).

2.9 Cuadro clínico

La Aspergilosis comprende una variedad de manifestaciones de infección (Stevens, *et al.*, 2000), estos microorganismos producen diversos rangos de efectos en la salud que incluyen muchos signos y síntomas irritativos en el tracto respiratorio y ojos, alergias, asma e infecciones respiratorias (Nieminen, *et al.*, 2002). Bloquea, las cavidades naturales con libre circulación de aire, especialmente en los senos paranasales y bolsas guturales, produciendo lesiones ubicadas en la zona adyacente a la arteria carótida interna que pueden ser mortales (Teruel, 2008)

Enfermedades como la alveolitis alérgica (pulmón de granjero), el asma o la rinitis alérgica pueden desarrollarse después de la exposición a conidios de *Aspergillus*, como ocurre cuando se trabaja con heno mohoso (Pontón, *et al.*, 2002).

Es esencial reconocer que *Aspergillus* puede ser un colonizador, causar enfermedad alérgica, infección local o ser responsable de cuadros invasivos graves. En casos de Aspergilosis broncopulmonar alérgica los signos aparecen varias horas después de la exposición y consisten en tos seca, disnea y en ocasiones fiebre (Alcalá, *et al.*).

Por lo general, la infección se sitúa en la puerta de entrada y puede quedar localizada o diseminarse, bien por contigüidad, o bien por invasión vascular produciendo una enfermedad generalizada con afectación de más de un órgano (Lumbreras y Gavalda, 2003).

La aspergilosis invasiva (AI) es una de las principales causas de infección entre los pacientes sometidos a trasplante de células madre hematopoyéticas, el trasplante de órganos sólidos, hematológicos y de trato para neoplasias malignas. Aunque la incidencia de la IA difiere de un grupo de acogida a otro, la tasa de mortalidad por esta enfermedad es elevada y oscila entre 58 a 99% en pacientes inmunocomprometidos (Aguirre, *et al.*, 2004).

2.10 Estudios de Laboratorio

El diagnóstico de aspergilosis invasora debe ser establecido mediante la combinación de datos histológicos (visualización de hifas compatibles con las de *Aspergillus*) y microbiológicos (visualización de hifas en el examen en fresco y aislamiento de *Aspergillus* en cultivo), dado que ninguno de ellos puede, por sí sólo, asegurar el diagnóstico. Las tinciones histológicas más utilizadas son la tinción de metenamina de plata y la de hematoxilina-eosina, aunque esta última no es útil cuando los tejidos están necrosados. La visualización en histología debe ser confirmada con el aislamiento en cultivo. La centrifugación de la muestra y el examen en fresco del sedimento incrementa de forma importante la utilidad de este procedimiento. La visualización directa se realiza con KOH, con o sin componentes fluorescentes, como el blanco de calcoflúor (Alcalá, *et al.*).

La mayoría de las especies crecen sobre Czapek-Levadura; la temperatura de incubación corriente es de 25°C pero para algunos miembros de la sección *Fumigati* es conveniente a 37°C (Ancasi, *et al.*, 2006; Atherton, *et al.*).

La ornamentación de los conidios cambia con la edad y en unas dos semanas las esporas están totalmente maduras. Para el aislamiento se usan medios selectivos (Rosa de Bengala, Rosa de Bengala-Diclorán) con inhibidores de la proliferación bacteriana y del desarrollo exuberante de algunos mohos (Ancasi, *et al.*, 2006).

Las pruebas inmunológicas de detección de anticuerpos constituyen un método diagnóstico de gran utilidad en los aspergilomas, ya que aproximadamente el 90% de los pacientes poseen anticuerpos detectables. La técnica más utilizada es la de inmunodifusión, aunque se han desarrollado otras con mayor sensibilidad, como el enzimoimmunoensayo (ELISA, BALISA), radioinmunoensayo y métodos de inmunofluorescencia indirecta (Alcalá, *et al.*).

2.11 Tratamiento

El itraconazol es otro fármaco activo frente a *Aspergillus* que puede utilizarse bien como tratamiento de primera línea o como tratamiento de consolidación tras la administración inicial de anfotericina B, el voriconazol y caspofungina (Alcalá, *et al.*; Lewis, *et al.*, 2002; Torres, 2001).

Se han obtenido buenos resultados con este fármaco en afecciones pulmonares, óseas y pericárdicas, entre otras. En el caso de las onicomicosis, se utiliza la aplicación de sustancias queratolíticas como la urea o el tratamiento con antifúngicos como el itraconazol. Las otomicosis se tratan mediante la limpieza del conducto auditivo y con medidas correctoras de los factores locales predisponentes. Los aspergilomas son con frecuencia tratados quirúrgicamente, sobre todo cuando se acompañan de hemoptisis o invasión local o cuando está contraindicado el método quirúrgico puede tratarse con itraconazol que ha dado buenos resultados. La anfotericina B intravenosa, a dosis de 0,7-1,5 mg/Kg/día, ha sido tradicionalmente el tratamiento de elección para pacientes con aspergilosis invasiva. En una revisión reciente de 2.121 casos de aspergilosis hubo una respuesta favorable a la anfotericina B en el 55% de los pacientes (Alcalá, *et al.*).

El tratamiento de la aspergilosis broncopulmonar alérgica se basa en la administración de glucocorticoides. Los broncodilatadores pueden ayudar a prevenir las impactaciones mucosas (Torres, 2001).

HIPÓTESIS

El hongo *Aspergillus* spp. se encuentra en las heces de las palomas del genero *Columba livia* recuperadas en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna.

OBJETIVO

Determinar la presencia del hongo *Aspergillus* spp. en las excretas de palomas del género *Columba livia* en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna.

III. Materiales y Métodos

3.1 Lugar de Estudio

Las muestras recolectadas para la presente investigación fueron tomadas dentro de el área de Biblioteca, Comedor, Laboratorio de Anatomía y en el Centro de Investigación de la Reproducción Caprina (CIRCA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna en Torreón Coahuila, México (con una Latitud de 25° 32' 40'', longitud 103° 26' 30'', altitud 1 120 m), presenta un clima semidesértico con una precipitación anual promedio de 230 mm y una temperatura anual que oscila dentro de los 27°C.

La identificación y cultivo del *Aspergillus* fue realizado en las instalaciones de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Coahuila dentro del Laboratorio de Microbiología.

3.2 Recolección de muestras

Se recolectaron 80 muestras de heces de palomas silvestres, tomadas de los techos y aparatos de aire de las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro - Unidad Laguna, como La Biblioteca, el Laboratorio de Anatomía, comedor y CIRCA. (Ver la figura 6).

Por cada punto establecido se obtenían 2 muestras, de las cuales fueron depositadas 5 gramos de materia fecal en frascos de vidrio medianos, selladas e identificadas con el lugar de donde se obtuvo para luego comprobar la existencia del hongo *Aspergillus spp.* (Ver la figura 7).

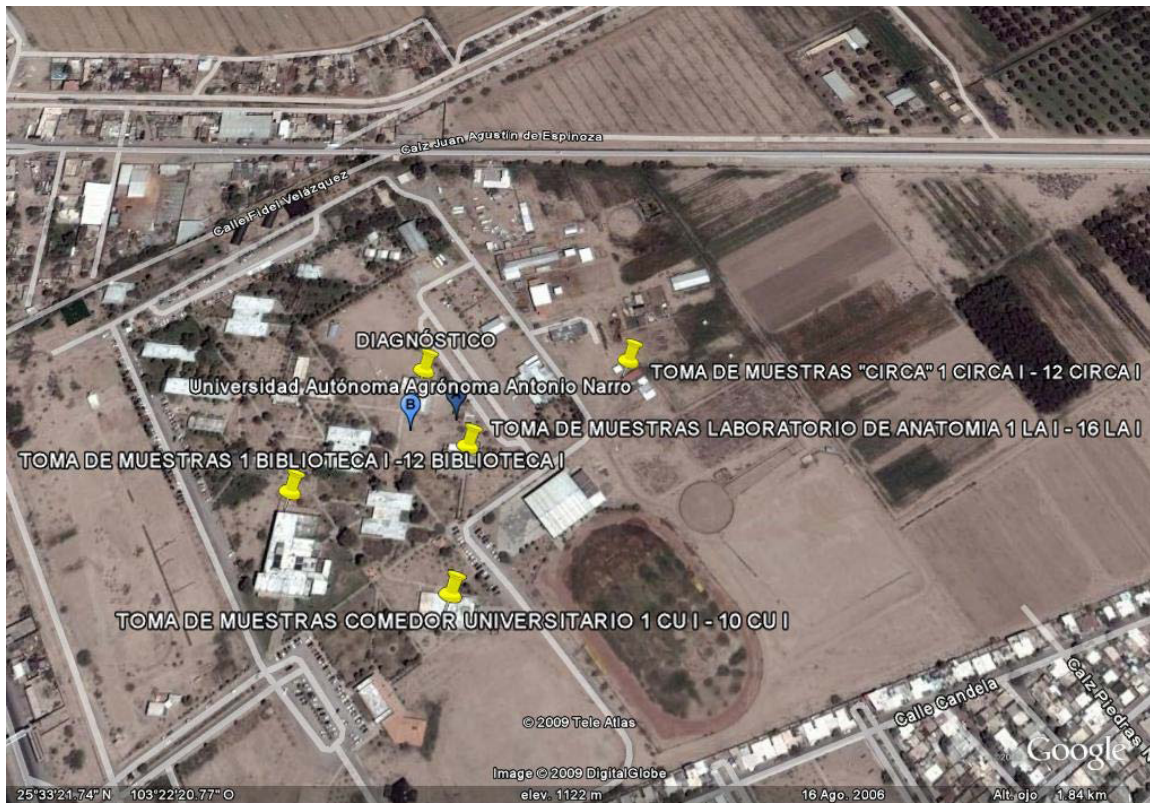


Figura 6 Localización de las áreas de donde se tomaron las muestras en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna.



Figura 7 Frascos con muestras de heces selladas e identificadas.

3.3 Material de Laboratorio

Para la toma de muestras se utilizaron frascos transparentes estériles para la recolección de las muestras, abatelenguas, bolsas estériles para transportar los frascos.

Para el procesamiento de las muestras se usaron frascos transparentes estériles, cinta masking tape, marcador permanente, guantes, cubrebocas, lentes protectores, bata, báscula, matraces Erlenmeyer de 250 ml de vidrio con tapón de algodón. Cajas de Petri de 20 x 100 mm, pipeta graduada, pipetas de 5ml y 2ml, asa de alambre, portaobjetos, cubreobjetos, mecheros de Bunsen, frascos estériles, cucharas, incubadora, cinta scotch, solución salina al 0.9% (cloruro de sodio), olla express, autoclave, vortex (mezclador), además de Antibióticos: Cloranfenicol (succinato de cloranfenicol), Estreptomina (sulfato de estreptomina) para inhibición de bacterias.

Medios para cultivo: Agar Dextrosa Papa, Agar D. Sabouraud.

Colorante Azul de lactofenol.

3.4 Procesamiento de las Muestras

En primer lugar se procedió a tener listas las cajas de petri ya estériles y preparar los medios para los cultivos. Tanto el medio Agar Dextrosa de Sabouraud como el medio Agar Dextrosa Papa se prepararon según las instrucciones del fabricante. Se utilizaron frascos de vidrio medianos donde se colocaron 20 ml de solución salina al 0.9% que se esterilizaron para diluir las heces. Posteriormente se adicionaron 0.25 ml de cloranfenicol y 0.2 ml de estreptomina con el fin de impedir el crecimiento de bacterias.

Para la identificación de *Aspergillus spp.* se eligieron 5 muestras por día para procesarlas e identificar cada frasco estéril con la muestra correspondiente; se agregaron con una cuchara desechable heces secas para hidratarlas. Las heces fueron mezcladas con la solución salina y los antibióticos, para posteriormente tomar 0.5 ml de la muestra y

dispersarlas dentro de cada una de las cajas de petri. Algunos ejemplos del procedimiento en las figuras 8 al 12.

Procedimiento:

1. Hidratar una cucharada de heces en 20 ml de solución salina al 0.9% con previos antibióticos.
2. Agitar con vortex
3. Vaciar 0.5 ml de heces hidratadas sobre las cajas de petri con medios agar Sabouraud, Dextrosa Papa, Urea.
4. Realizar por duplicado.
5. Incubar a 32°C
6. Observar el crecimiento de colonias por caja de petri cada 3 a 5 días.
7. Observar e identificar las colonias que cumplan con las características mencionadas anteriormente.



Figura 8 Administración de antibióticos a los frascos con solución salina al 0.9%



Figura 9 Hidratación de las heces para su cultivo.



Figura 10 Agitando la muestra en el Vortex.



Figura 11 Extrayendo 0.5 ml de la mezcla para siembra en los medios de cultivo.



Figura 12 Incubación de las muestras.

3.5 Técnica

Técnica con Cinta Adhesiva. Es aconsejable utilizar cinta adhesiva porque es altamente transparente.

Se corta una tira de aproximadamente 1 cm, tomada con una asa de alambre, con el lado adhesivo se presiona contra la superficie de la colonia para identificar *Aspergillus spp.*, el micelio aéreo se adhiere a la superficie adhesiva y se separa del resto. El trozo de cinta adhesiva se coloca con una gotita de base de azul de algodón en un porta objetos, luego se coloca una gota de azul sobre la cinta y sobre ella un cubreobjetos. Se observa al microscopio con el objetivo número 40x, después con objetivo 100x. Se identifica como lo vemos en la figura 13.



Figura 13 Identificación de la colonia y microscopía.

IV. RESULTADOS

Se trabajaron un total de 80 muestras tomadas en diferentes áreas de la UAAAN-UL como se muestra en el cuadro 2, de las cuales se obtenían de cada una 2 siembras en las cajas de petri con los Agar dextrosa Sabouraud y Agar Dextrosa Papa donde crecieron propiciamente, de las que se hicieron un total de 258 siembras de las muestras recolectadas.

Cuadro 2. Total de muestras en las áreas.

Sitio	Muestras	
	Numero	
Biblioteca	42	
Comedor	10	
Laboratorio de Anatomía	16	
CIRCA	12	

Posteriormente se hizo un conteo de las muestras positivas al hongo *Aspergillus spp.* de las diferentes áreas de la UAAAN-UL y luego se procedió a identificar cada una de ellas por especie del hongo *Aspergillus spp.*

Cuadro 3. Muestras positivas a *Aspergillus spp.* en diferentes áreas.

Sitio	Hongo			
	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. terreus</i>	<i>A. flavus</i>
Biblioteca	X	X		
Comedor	X	X	X	X
Laboratorio de Anatomía	X	X	X	X
CIRCA	X	X		X

De un total de 80 muestras se obtuvieron 54 positivas a *Aspergillus spp.*, se identificaron por especie como se muestran en el cuadro 4. (Ver figura 14 para información en porcentaje).

Cuadro 4. Identificación del hongo *Aspergillus spp.*

<i>Especie</i>	<i>Total positivos</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	38
<i>Aspergillus niger</i>	40
<i>Aspergillus terreus</i>	6
<i>Aspergillus flavus</i>	14

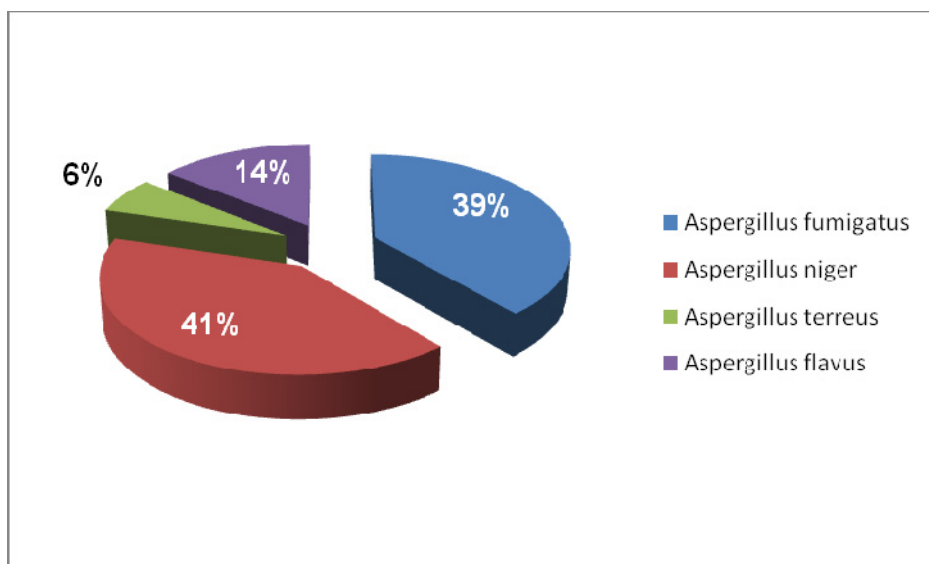


Figura 14 Porcentaje en las diferentes especies de *Aspergillus spp.* sobre las 54 muestras positivas.

V. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Las heces de las palomas del género *Columba livia* son portadoras del hongo *Aspergillus* spp. encontrándose en ellas *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* y *Aspergillus flavus*.

Se realiza esta investigación por que se cree que las heces de las palomas del género *Columba livia* son fuente de enfermedades causadas por el hongo *Aspergillus* spp. tanto para los seres humanos como para los animales.

El 67.5% de las muestras tomadas en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro fueron positivas a el hongo *Aspergillus* spp. Por lo cual se tiene que tener especial atención a éste problema dado que las palomas resultan ser un foco de infección de éste tipo de hongo que resulta ser un patógeno oportunista.

En la identificación se encontraron bacterias, dicho asi, que son resistentes al Coranfenicol y Estreptomicina lo cual fue problema ya que cada cultivo donde hubiera crecimiento bacteriano se eliminaba. Crecieron hongos que no se diferenció la especie.

Debido a los resultados obtenidos se debe considerar evitar el contacto con éste tipo de animales sobre todo en lugares públicos y no tener contacto directo con las heces. Se debe considerar a éste tipo de aves como una plaga perjudicial, recomendándose mayor cuidado principalmente en todas las áreas de hospitales porque aquí se encuentran las personas inmunocomprometidas las cuales son más susceptibles de ser infectadas por éste tipo de hongo. La presencia de palomas conlleva la posibilidad de la presencia de éste y otros hongos los cuales pueden ser dañinos para la salud tanto humana como animal.

Se recomienda pues, llevar a cabo un control de limpieza y desinfección de los lugares frecuentados por parvadas de palomas y tratar de erradicarlas de la Universidad.

Aunque teniendo más investigación en este caso, podríamos recolectar heces de estas palomas en diferentes puntos de la Comarca Lagunera, para confirmar una vez más la existencia de éste hongo causante de muchas enfermedades las cuales llegan a ser letales. Así se da a conocer a otros investigadores y todos los interesados en este estudio el porqué es importante tomar medidas para controlar la presencia de las plagas de paloma.

GLOSARIO

ALVEOLITIS ALÉRGICA EXTRÍNSECA: Es una enfermedad del pulmón resultado de la inhalación repetida del polvo orgánico.

ASCOSPORAS: (fruto de la reproducción sexual) genera un micelio “n” que genera a su vez un conidio fruto de la reproducción asexual y que también genera micelio n.

ASPERGILLUS: Género de hongos que es un frecuente contaminante de laboratorio y produce infecciones nosocomiales.

ASPERGILOMA: Colonización saprofítica de las cavidades parenquimatosas pulmonares por el *Aspergillus*. Se produce por la colonización saprofita de una cavidad, en la que se forma una masa deformada por hifas, moco, detritus celulares y células inflamatorias, en un huésped que generalmente es inmunocompetente.

CLEISTOTECIO: Cuerpo fructífero completamente cerrado de algunas clases de *Ascomycetes*, generalmente de forma globosa, de crecimiento superficial, enterrado o semienterrado, constituido por una capa (peridio) más o menos coloreada y lisa o verrugosa, que reviste la carne interior (gleba). Las esporas generalmente son dispersadas por moscas atraídas por el olor que emana el hongo.

COLONIAS: Conjunto de microorganismos en un cultivo que proceden de una sola célula. Las colonias, según su configuración, pueden ser lisas, rugosas o enanas.

CONIDIO: Esporas especializadas mediante las cuales se reproducen asexualmente la mayoría de los *Ascomycetes*.

CONIDIÓFOROS: Hifa sobre la cual se desarrollan uno o varios conidios.

COSMOPÓLITA: Organismos que se distribuyen ampliamente en las diferentes regiones del planeta.

ESPORULACIÓN: La esporulación es tanto un tipo de reproducción mediante esporas, como el término inutilizado para designar la mala formación (esporogénesis) y liberación de esporas.

ESTERIGMA: Apéndice de los basidios en forma de cuerno o dedo, en cuyo ápice se forma la espora.

GLUCOCORTICOIDE: Hormona esteroidea adrenocortical que afecta a un gran número de funciones orgánicas y potente efecto antiinflamatorio.

HEMOPTISIS: Expulsión de sangre o flemas con sangre por la boca, desde la laringe, tráquea, bronquios o pulmones.

HIFA: Estructura filiforme del micelio de un hongo.

IMPACTACIÓN: Objeto atrapado en un tubo del cuerpo, como los cálculos en el conducto biliar o las heces duras en el colon.

INMUNOCOMPROMETIDO: Condición anormal en la cual la capacidad del organismo para combatir infecciones se encuentra reducida.

ITRACONAZOL: También conocido como oriconazol, es un derivado imidazólico de última generación utilizado en medicina por sus propiedades antifúngicas. Químicamente es un derivado triazólico, al igual que el fluconazol o el voriconazol, de fórmula $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$ y que se comporta como una base débil.

MICELIO: Está constituido por una masa de hifas y constituye el cuerpo vegetativo de un hongo

NOSOCOMIAL: El término "nosocomiales" proviene de dos palabras griegas: "la enfermedad de sentido nosus " '+' que significa komeion 'para cuidar de". Por lo tanto,

"nosocomiales" debe aplicarse a toda enfermedad contraída por un paciente mientras está bajo cuidado médico. Sin embargo, "nosocomiales" se ha ido diluyendo a lo largo de los años y ahora sólo se refiere a los hospitales - que es ahora sinónimo de adquiridas en el hospital.

ONICOMICOSIS: O tiña de las uñas es una infección superficial en las uñas de manos o pies causadas por hongos dermatofitos.

REDOMA: Vasija de vidrio que se angosta hacia la boca

SAPROBIO: Organismo que se desarrolla y alimenta de otro ser orgánico muerto o sobre sustancias orgánicas.

UBICUO: Que se encuentra en cualquier parte del espacio.

ZOONOSIS: Enfermedad o infección que se da en los animales y que es transmisible al hombre en condiciones naturales.

REFERENCIAS

- Abarca, M. L. (2000). Taxonomía e Identificación de especies implicadas en la Aspergilosis Nosocomial. *Rev Iberoam Micol.* Bellaterra Barcelona, Spain. **17**: S79-S84.
- Aguirre, L. d., S. F. Hurst, J. S. Choi, J. H. Shin, H. P. Hinrikson y C. J. Morrison. (2004). "Rapid Differentiation of Aspergillus Species from Other Medically Important Opportunistic Molds and Yeasts by PCR-Enzyme Immunoassay." *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY* **42**: 3495–3504.
- Akar, T., M. Avci y F. Dusunceli. (2007). "Barley: Post-Harvest Operations."
- Alcalá, L., P. Muñoz, T. Peláez y E. Bouza. "Aspergillus y Aspergilosis." *Control Calidad SEIMC*.
- Ancasi, E., L. Carrillo y M. Ahrendts. (2006). "Mohos y levaduras en agua envasada y bebidas sin alcohol." *Revista Argentina de Microbiología* **38**: 93-96.
- Atherton, G., J. Bartolomé y P. Giles. "Aspergillus/Aspergilosis Website."
- Dunkin, D. y C. Dunkin. (2003). "Mold."
- García, a. E., C. Duran, M. Cruzado, M. Andrino y J. L. Blanco. (2004). "Evaluation of molecular and immunological techniques for the diagnosis of mammary aspergillosis in ewes." *Veterinary Microbiology* **98**: 17 - 21.
- Gaztelu, M. y J. J. Miner. Aspergilosis.
<<http://www.elmedicointeractivo.com/farmacia/temas/tema15-16/tratamiento3.htm>>
- German, A., BVSc, MSc y MRCVS. "Avian Aspergilosis."
- Koneman, E. W. y G. Roberts (2007). *Micología: Prácticas de Laboratorio*. Buenos Aires.
- Lair-Fulleringer, S., J. Guillot, C. Desterke, D. Seguin, S. Warin, A. Bezille, R. Chermette y S. Bretagne. (2003). "Differentiation between Isolates of Aspergillus fumigatus from Breeding Turkeys and Their Environment by Genotyping with Microsatellite Markers." *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY* **41**: 1798–1800.
- Latgé, J.-P. (2001). "The pathobiology of Aspergillus fumigatus." *TRENDS in Microbiology* **9**: 382 - 389.
- Lewis, R. E., R. A. Prince, J. Chi y D. P. Kontoyiannis. (2002). "Itraconazole Preexposure Attenuates the Efficacy of Subsequent Amphotericin B Therapy in a Murine Model of Acute Invasive Pulmonary Aspergillosis." *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY* **46**: 3208–3214.
- Lo, W.-L., R. C.-S. Chang, A.-H. Yang y S.-Y. Kao. (2003). "Aspergillosis of the temporomandibular joint following irradiation of the parotid region: A case report." *Int. J. Oral Maxillofac. Surg* **32**: 560–562.
- Lorbé, D. Aspergillus spp. <http://danival.org/fungi/sp/aspergillus/aspergillus_intro.html>
- Lumbreras, C. y J. Gavalda. (2003). "Invasive aspergillosis: clinical manifestations and treatment." *Rev Iberoam Micol* **20**: 79-89.
- McCauley, B. (2009). Aspergillus. *Biology* 6A.

- Nieminen, S. M., R. Kārki, S. Auriola, M. Toivola, H. Laatsch, R. Laatikainen, A. Hyvārinen y A. v. Wright. (2002). "Isolation and Identification of *Aspergillus fumigatus* Mycotoxins on Growth Medium and Some Building Materials." *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* **68**: 4871–4875.
- Pontón, J., M. D. Moragues, J. Gené, J. Guarro y G. Quindós (2002). Hongos y Actinomicetos Alergícos. *Rev Iberoam Micol.* Bilbao, País Vasco, España.
- Raisman, D. J. S. y D. A. M. Gonzalez. REPRODUCCION EN LOS EUASCOMYCETES. <http://www.biologia.edu.ar/micologia/10_micologia.htm>
- Ronning, C. M., N. D. Fedorova, P. Bowyer, R. Coulson, G. Goldman, H. S. Kim, G. Turner, J. R. Wortman, J. Yu, M. J. Anderson, D. W. Denning y W. C. Nierman (2005). Genomics of *Aspergillus fumigatus*. *Rev Iberoam Micol.*
- Soubani, A. O. y P. H. Chandrasekar. (2002). "The Clinical Spectrum of Pulmonary Aspergillosis." *Chest Journal* **121**: 1988-1999.
- Stevens, D. A., V. L. Kan, M. A. Judson, V. A. Morrison, S. Dummer, D. W. Denning, J. E. Bennett, T. J. Walsh, T. F. Patterson y G. A. Pankey. (2000). "Practice Guidelines for Diseases Caused by *Aspergillus*." *Clinical Infectious Diseases* **30**: 696–709.
- Tango, D. Aspergilosis. <<http://www.clinicadam.com/salud/6/2330.html>>
- Teruel, J. A. L. (2008). La Vida Sexual de un Asesino. *Ciencia y Salud.* Murcia, SPAIN, 06/12/2008.
- Torres, V. M. (2001) Preexposicion a Itraconazol atenuando la eficacia de posteriores terapias de la anfotericina B en un modelo murino de aguda Aspergilosis pulmonar invasiva. [Doctoral]. Barcelona, Spain: Universitat Autonoma de Barcelona
- Facultat de Medicina.