

**Universidad Nacional
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Medicina Veterinaria**

Identificación de agentes micóticos en animales silvestres en Costa Rica: estudio preliminar

Modalidad: Proyecto de Graduación

Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado Académico de Licenciatura en Medicina Veterinaria

Alejandra María Calderón Hernández

**Campus Pbro. Benjamín Núñez
2010**

TRIBUNAL EXAMINADOR

Dr. Jorge Quirós Arce

Decano Facultad de Ciencias de la Salud

Dra. Laura Castro Ramírez

Directora Escuela de Medicina Veterinaria

Dra. Andrea Urbina Villalobos

Tutora

Dr. Mauricio Jiménez Soto

Lector

Dra. Ingrid Salas Campos

Lectora

Fecha: _____

DEDICATORIA

A Dios el creador de todos los animales.

A mi mamá y mi hermano por su apoyo incondicional y ser ejemplos a seguir.

A mi abuelito que en paz descanse, por cuidarme y enseñarme el valor de un libro.

A Jorge Prendas “Pin” por toda una vida servicio a los demás, por su gran apoyo y gran amor por los hongos.

A los perros de mi vida: Braco, Garabito y Rym que me inspiraron cada día para estudiar esta magnífica carrera.

A todas las personas que trabajan en pro del bienestar y conservación de los animales.

AGRADECIMIENTOS

Primero que todo quiero agradecer a Dios. A la vez, no puedo dejar de lado a mi madre que siempre ha luchado porque mi hermano y yo tuviéramos una carrera y que nada nos hiciera falta y su apoyo incondicional. También quisiera agradecer a mi hermano, por inspirarme a conseguir las metas aún cuando sean muy difíciles. A mi abuelita, tías, tíos, primos y primas por su cariño y preocupación.

Quiero demostrar mi gratitud a la Dra. Andrea Urbina por mostrarme el maravilloso mundo de los hongos, proponer este tema y confiar en mí para realizarlo, además por su gran apoyo durante estos años que hemos estado trabajando juntas. A la vez agradecer a Sergio, Xindy, Heriberto, Sue Hellen, Marlen y Ana Laura por su ayuda en la preparación de medios, giras y apoyo moral. También a Claudia, Cristina y Gerardo.

Aunque no se encuentre ya con nosotros, quisiera recordar a Pin como una persona que me enseñó sin egoísmo y me ayudó siempre aunque no tuviera tiempo, él mismo que dejó unos zapatos muy grandes que llenar, no sólo por la calidad de trabajador que fue sino también por su calidad de ser humano, así que Pin, ¡muchas gracias!

También al Dr. Mauricio Jiménez, que además de ser lector de este trabajo y me ayudó con casos clínicos y giras. Pero también el resto de personal y estudiantes del Hospital de Especies Menores y Silvestres, por ayudarme cuando llegaban animales silvestres.

Esta tesis no hubiera sido posible sin la preparación que me otorgó desinteresadamente el personal del Laboratorio de Micología de la Universidad de Costa Rica quienes me recibieron como una alumna y siempre estuvieron dispuestos a ayudar con la identificación de cepas, gracias: Dr. Pedro Carillo, Dra. Norma Gross, Sr. Juan Diego Castro y en especial a la Dra. Ingrid Salas que también leyó mi tesis.

Al Dr. Juan Alberto Morales, que con muy buena disposición, me brindó su apoyo, conocimientos y remitió casos muy importantes y a la Lic. Laura Alvarado y Sr. Bernal Valerio, por recibirme y apoyarme.

Al Prof. Peter Valentine, Prof. Ralph Göethe y Dr. Andreas Mietze del Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Medicina Veterinaria de Hannover, por recibirme durante mi pasantía y permitirme recopilar artículos científicos.

A Jorgito Hernández y Dra. Jackeline de Oliveira, por las identificaciones de parásitos y su amistad. A la Lic. Adriana Blanco, Tec. Laura Orozco y Dr. Elías Barquero por su colaboración con medios especiales e interpretación de los mismos.

A la Dra. Gaby Dolz, Dra. Andrea Urbina, Dr. Jorge Chacón, Dr. Carlos Morales, Dr. Carlos Jiménez, Dra. Caterina Guzmán, Dr. Esteban Chaves, Dr. Elías Barquero, Dr. Juan A. Morales y Dra. Ana Meneses por su apoyo económico para la pasantía.

A la Bach. Francina Thomas y Lic. Carlina Rojas por siempre estar anuentes a facilitarme información bibliográfica y atenderme con amabilidad.

A la Dra. Carolina Solís, Bach. Natalia Corrales y Lic. Juan Rojas del PMP, Bach. Aarón Gómez, Bach. Fabián Bonilla y Sr. Danilo Chacón del ICP y Dr. Olman Solano de la ECAG por atenderme y colaborar con la toma de muestras.

A Sergio Cuadra, Patri, Carlos, Jorgito, Monte, Rey, Charly, Castillo, Roberto, Fabián, Gerardo, Rosi, Dr. Baldi, Dr. Quirós, Dra. Bouza, don Olman, demás funcionarios y académicos por su ayuda. Y por supuesto a mis amigos y compañeros, en especial a: Naty, Cruz, Luis, Perla, Rocío, Ricardo, Pía, Daniel, Álvaro, Leo, Mabel, Ernesto, Esteban, Rándall, Adri, los hijos de doña Flor y Felipe. A todo el grupo de trabajo del congreso ALEEMVET por su gran dedicación.

INDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
INDICE DE CONTENIDOS	v
INDICE DE CUADROS	ix
ABREVIATURAS	xi
GLOSARIO	xii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
1. INTRODUCCION	1
1.1. Antecedentes	1
1.2. Justificación	9
1.3. Objetivos	12
1.3.1. Objetivo general	12
1.3.2. Objetivos específicos	12
2. MATERIALES Y METODOS	13
2.1. Selección de la muestra	13
2.1.1. Procedencia de las muestras	13
2.1.2. Animales muestreados	13
2.1.3 Examen clínico	14
2.2. Registro de los datos	14
2.3. Tipos de muestra	15

2.4. Toma de muestra	15
2.4.1. Animales sin lesiones	15
2.4.2. Animales con lesiones	15
2.5. Envío y rotulación de muestras	17
2.6. Análisis de laboratorio	17
2.6.1. Cultivos (Agar Sabouraud, Mycosel)	19
2.6.2. Identificación de agentes mediante morfología macro y microscópica	19
2.7. Registro, análisis e interpretación de la información	20
3. RESULTADOS	21
3.1. Total de las muestras recolectadas y analizadas	21
3.1.1. Exámenes directos	21
3.1.2. Aislamientos	22
3.1.3. Aislamientos e identificación	24
3.1.4. Concordancia de resultados micológicos en animales con lesión	30
3.1.5. Otros hallazgos microbiológicos en los animales muestreados	33
3.2. Tortugas	33
3.3. Perezosos	36
3.4. Serpientes	38
3.5. Monos	40
3.6. Aves	42
3.7. Iguanas	44
3.8. Otros	46
4. DISCUSION	49

5. CONCLUSIONES.....	66
6. RECOMENDACIONES.....	68
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	69
8. ANEXOS.....	81
Anexo 1. Hoja de datos.....	81
Anexo 2. <i>Prototheca</i> spp.....	82
Anexo 3. <i>Chaetomium</i> spp.....	82
Anexo 4. <i>Fusarium</i> spp. muestra de caparazón.....	83
Anexo 5. Mono con <i>Candida</i> spp.....	84
Anexo 6. <i>Fusarium</i> spp. de lesión de perezoso.....	84
Anexo 7. Hongo hialino de pulmón de caimán.....	85
Anexo 8. Inconsistencia entre examen directo y cultivo en perezoso.....	86
Anexo 9. Algas en caparazón de tortugas.....	87
Anexo 10. Acaros en piel de perezosos.....	87
Anexo 11. Características generales de 40 tortugas de cautiverio muestreadas para estudio micológico.....	88
Anexo 12. Resultados de exámenes directos y cultivos de muestras de 40 tortugas.....	91
Anexo 13. Hongo hialino.....	98
Anexo 14. Características generales de los 19 perezosos muestreados para estudio micológico.....	99
Anexo 15. Resultados de exámenes directos y cultivos de muestras de 19 perezosos.....	101
Anexo 16. Características generales de 14 serpientes adultas muestreadas para estudio micológico.....	104

Anexo 17. Tipos de muestra y resultados de los exámenes directos y cultivos de muestras de 14 serpientes.....	105
Anexo 18. <i>Verticillium</i> spp. aislado de una serpiente.....	107
Anexo 19. Características generales de 12 monos muestreados para estudio micológico.....	108
Anexo 20. Tipos de muestras y resultados micológicos e 12 monos.....	109
Anexo 21. Características generales de 12 aves adultas para estudio micológico.....	110
Anexo 22. Tipos de muestras y resultados de estudio micológico en 12 aves silvestres adultas.....	111
Anexo 23. Características generales de las iguanas verdes (<i>Iguana iguana</i>) cautivas muestreadas para estudio micológico.....	113
Anexo 24. Resultados de los exámenes directos y cultivos de raspado de escamas e hisopados de mucosas de iguanas verdes cautivas.....	114
Anexo 25. Características generales de otros 12 animales muestreados para estudio micológico.....	115
Anexo 26. Tipos de muestra y resultados de estudio micológico en otros 12 animales silvestres.....	116

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Porcentaje de animales positivos por estructuras fúngicas en el examen directo (AM y KOH).....	21
Cuadro 2. Porcentaje de hongos aislados en Agar Sabouraud según tipo de animal silvestre.....	22
Cuadro 3. Porcentaje de hongos aislados en Agar Mycosel según tipo de animal silvestre.....	23
Cuadro 4. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de animales.....	23
Cuadro 5. Grupos de agentes micóticos identificados según grupo de animal silvestre...	25
Cuadro 6. Porcentaje de animales con hongos no identificados.....	26
Cuadro 7. Grupos de agentes micóticos identificados según tipo de muestra clínica.....	27
Cuadro 8. Grupos de agentes micóticos no identificados según tipo de muestra clínica.....	28
Cuadro 9. Géneros de hongos identificados en lesiones de animales silvestres según tipo de muestra clínica.....	29
Cuadro 10. Hongos no identificados en lesiones de animales silvestres según tipo de muestra.....	30
Cuadro 11. Concordancia de resultados micológicos en animales con lesión.....	31
Cuadro 12. Animales asintomáticos con resultados micológicos positivos.....	32
Cuadro 13. Porcentaje de exámenes directos positivos en muestras de tortugas.....	34
Cuadro 14. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en tortugas.....	34
Cuadro 15. Porcentaje de hongos aislados a partir de muestras de lesiones superficiales y de órganos internos de tortugas.....	35
Cuadro 16. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de tortugas.....	35

Cuadro 17. Porcentaje de exámenes directos positivos en muestras de perezosos.....	36
Cuadro 18. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en perezosos.....	37
Cuadro 19. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de perezosos.....	37
Cuadro 20. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en serpientes.....	39
Cuadro 21. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de serpientes.....	39
Cuadro 22. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en monos.....	41
Cuadro 23. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de monos.....	41
Cuadro 24. Porcentaje de exámenes directos positivos en muestras de aves.....	42
Cuadro 25. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en aves.....	43
Cuadro 26. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de aves.....	44
Cuadro 27. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en iguanas.....	45
Cuadro 28. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de iguanas.....	45
Cuadro 29. Porcentaje de exámenes directos positivos en muestras de otros animales silvestres.....	47
Cuadro 30. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en otros animales silvestres.....	47
Cuadro 31. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de otros animales silvestres.....	48

ABREVIATURAS

AM: Azul de metileno

AR: Ardilla

CA: Caimán

CANV: *Chryso sporium* en estado anamorfo de *Nanniziopsis vriesii*

DE: Delfín

ECAG: Escuela Centroamericana de Ganadería

EMV-UNA: Escuela de Medicina Veterinaria - Universidad Nacional

FE: Felino silvestre

ID: Identificación

ICP: Instituto Clodomiro Picado

IG: Iguana

HEMS: Hospital de Especies Menores y Silvestres

KOH: Hidróxido de potasio

LM: Laboratorio de Micología

LPN: Laboratorio de Patología y Necropsias

MA: Mapache

MO: Mono

Myc: Agar Mycosel

PE: Perezoso

PI: Pizote

PMP: Parque Marino de Puntarenas

SDA: Agar Sabouraud, por sus siglas en inglés: Sabouraud Dextrose Agar

SE: Serpiente

SSO: Santuario Silvestre de Osa

TO: Tortuga

ufc: Unidades formadoras de colonia

ZO: Zorro

GLOSARIO

Adaptación parasitaria: serie de condiciones (mayor temperatura, ambiente tisular reducido, respuestas inmunológicas del huésped) que el hongo debe afrontar para sobrevivir en un huésped vivo. Las adaptaciones parasitarias que pueden verse en cortes histológicos o exámenes directos son: talo en forma de grano, esfélulas, células fumagoides, estado levaduriforme, micelio septado y micelio espaciadamente septado.

Anamorfo / teleomorfo: estado imperfecto de un hongo que se reproduce de forma asexual. Teleomorfo, se refiere al estado perfecto de un hongo con reproducción sexual.

Animal silvestre: “todo animal que pertenece a las especies nativas, migratorias o de cualquier otro tipo, acuáticas o terrestres, cuya vida, o parte de ella, ocurra naturalmente dentro de los límites del territorio nacional y en sus aguas jurisdiccionales” (Neo, 2010).

Dimorfismo: fenómeno presentado por algunos hongos particularmente patógenos primarios, en el cuál ocurren cambios de la morfología filamentosa, metabolismo, componentes de pared celular y forma de reproducción del estado saprofitico a para adaptase a la vida parasitaria en forma de levaduras.

Examen directo: examen al fresco de una muestra clínica procesada con azul de metileno o hidróxido de potasio.

Factores de virulencia: son los mecanismos propios del agente infeccioso utilizados para causar enfermedad.

Flora normal: mohos y levaduras saprofiticos en el pelaje, tegumento, mucosas y órganos de los seres vivos.

Hongo: organismo vivo (levadura, filamento o micelio levaduriforme) clasificado dentro del reino Fungi.

Hialino: que no presenta pigmento, color blanco.

Hifa: unidad morfológica básica de los hongos filamentosos.

Levadura: hongo unicelular que se reproduce por gemación.

Micosis: infección causada por hongos filamentosos, levaduriformes o micelio levaduriformes.

Patógeno (primario, oportunista): se refiere a organismos parásitos o saprófitos que causan enfermedad. Es primario cuando no requiere de factores predisponentes para causar enfermedad y oportunista cuando es un organismo saprófito que se aprovecha de factores que comprometen la inmunidad del hospedero para causar infección.

Pigmentado: sinónimos dematiáceo, fuliginoso, negro. Hongo filamentoso oscuro.

Saprófito: organismo que se alimenta de materia orgánica en descomposición.

Septado: hongo filamentoso dividido por paredes transversales.

Unidad formadora de colonia: unidad básica necesaria para iniciar una colonia (levaduriforme o filamentosa).

RESUMEN

Se analizaron 320 muestras obtenidas de 117 animales silvestres a saber reptiles 63, mamíferos 44 y aves 12 de cautiverio y vida libre, de ellos 52 aparentemente sanos y 65 con lesiones diversas, con el fin de identificar agentes micóticos en superficies corporales (caparazón, plastron, cloaca, mucosa oral, piel, oídos, pelaje, otros), órganos y cavidades internas. De los 277 exámenes directos realizados con azul de metileno e hidróxido de potasio, 50 (18%) resultaron positivos a estructuras fúngicas (levaduras y filamentos) y de los 428 cultivos realizados con Agar Sabouraud y Agar Mycosel, en 242 (56,5%) se identificó al menos un agente micótico. De los 320 aislamientos, 25 grupos de hongos se identificaron siendo los más frecuentes *Penicillium* spp. (24,7%), *Aspergillus* spp. (19,3%), *Fusarium* spp. (12,3%) y *Cladosporium* spp. (11,8%). Con respecto a las muestras de lesiones u órganos con alteraciones se logró aislar hongos en 112 cultivos, de los cuáles los más frecuentes fueron *Penicillium* spp. (21,7%), *Fusarium* spp. (13%) y *Cladosporium* spp. (7,2%). En tres animales se pudo confirmar la etiología fúngica de las lesiones por medio de histopatología y cultivo. Todos los hongos identificados tienen importancia en salud pública, pues han sido reportados como causantes de enfermedades o potencialmente patógenos en humanos y animales. Este es el primer estudio realizado en Costa Rica para la identificación de hongos presentes en superficies y órganos de tortugas, iguanas, serpientes, perezosos, aves, pizotes, mapaches, zorros, cauceles, delfines y ardillas y el segundo realizado en monos. Se reporta por primera vez fusariosis interdigital en perezosos (*Choloepus hoffmanni*). Se discute el posible papel de siete agentes en la etiología de lesiones, así como el potencial patógeno de los mismos. Se recomienda un protocolo para la adecuada toma y transporte de muestras.

ABSTRACT

A study to identify fungal agents on body surfaces, organs and internal cavities of animals was performed. A total of 320 samples were examined, obtained from 117 animals, both in captivity and in the wild, 52 of which were apparently healthy and 65 injured. The test subjects were 63 reptiles, 44 mammals, and 12 birds. A series of 277 direct examinations with methylene blue and potassium hydroxide were conducted. Fungal structures (yeast and filaments) were positively tested on 50 examinations (18%). In 428 cultures treated with Mycosel Agar and Sabouraud Agar, at least one colony of fungal growth was observed in 242 cases (56.5%). A total of 25 fungal groups were identified in 320 isolates. The most frequently found were *Penicillium* spp. (24.7%), *Aspergillus* spp. (19.3%), *Fusarium* spp. (12.3%), and *Cladosporium* spp. (11.8%). With respect to samples that contained lesions or altered organs, fungi were isolated in 101 cases, being *Penicillium* spp. (21.7%), *Fusarium* spp. (13%), and *Cladosporium* spp. (7.2%) the most frequently found. Fungal etiology was confirmed in three animals by means of histopathologic analysis. All identified fungi have been reported as potentially pathogenic in humans and animals, and are therefore of relevance for public health. This is the first study conducted in Costa Rica for the identification of fungi present on body surfaces and in organs of turtles, iguanas, snakes, sloths, birds, raccoons, white-nosed coati, foxes, wild cats, dolphins, and squirrels, and it is the second conducted on monkeys. *Fusarium* spp. fungal dermatitis on sloths (*Choloepus hoffmanni*) is being reported for the first time. The role of seven agents in the etiology of injuries and their pathogenic potential is also discussed. A procedure is recommended to properly collect and transport samples.

1. INTRODUCCION

1.1. Antecedentes

Debido a la extinción de varias especies de animales silvestres, los gobiernos mundiales y organizaciones no gubernamentales, se han dado a la tarea de incentivar la investigación sobre enfermedades tanto infecciosas como no infecciosas y posibles agentes causales que puedan comprometer la salud de estos animales y la conservación de su especie (Fowler y Cubas, 2001). En animales silvestres se han identificado enfermedades de etiología infecciosa, metabólica, autoinmune y toxicológica (Fowler y Cubas, 2001; Harrison y Ligthfoot, 2006a; Mader, 2006; Jacobson, 2007); sin embargo, las causas infecciosas son tomadas más en consideración por ser de importancia para la salud pública y veterinaria (Chomel et al., 2007). Dentro de las enfermedades infecciosas, las de mayor relevancia por presentar mayor morbilidad y mortalidad, corresponden a las de etiología viral, seguida de las bacterianas y luego las parasitarias y las causadas por hongos (Harrison y Ligthfoot, 2006a; Mader, 2006; Jacobson, 2007).

Las infecciones micóticas en animales silvestres, a pesar de que han sido a menudo reportadas en casos individuales o hallazgos fortuitos, han cobrado mayor atención en años recientes luego de que se le atribuyera a *Batrachochytrium dendrobatidis* la debacle de anfibios a nivel mundial (Daszak et al., 2003; Retallick et al., 2004; Bosch & Martinez-Solano, 2006; Mendelson III et al., 2006) y a *Geomyces destructans* la muerte de gran cantidad de murciélagos en Estados Unidos (Buckles y Berh, 2009).

Con respecto a las micosis, factores ambientales, del huésped o del hongo (factores de virulencia), favorecen la presentación y evolución de las mismas. De esta manera condiciones

climáticas adversas, inmunosupresión, fallos en el manejo se mencionan como factores predisponentes a la enfermedad micótica (Rodríguez, 1998; Quinn et al., 1999; Harrison y Lightfoot, 2006; Jacobson, 2007).

Los hongos son organismos eucariotas, con morfología filamentosa, levaduriforme o micelio levaduriforme, no fotosintéticos, pertenecientes al reino Fungi, que se alimentan de materia orgánica y viven en el suelo o como comensales en el hombre y los animales. La temperatura óptima de crecimiento comprende un rango entre 20 y 30 grados Celsius, sin embargo los hongos patógenos que causan enfermedades sistémicas, pueden tolerar de 37 a 40 grados Celsius (Rodríguez, 1998; Quinn et al., 1999). De más de 100 000 especies de hongos que existen, 200 son potencialmente patógenas y 50 de ellas son patógenas primarias (Rodríguez, 1998, Arenas, 2003; Songer y Post, 2005).

Las enfermedades causadas por hongos se presentan tanto en personas como en animales; el primer caso reportado en animales afectó a gusanos de seda y fue causado por *Beauveria bassiana* (Songer & Post, 2005).

Las infecciones causadas por estos agentes se pueden dividir en micosis superficiales, subcutáneas, profundas y micosis por agentes oportunistas. Las micosis superficiales se denominan también dermatomicosis porque afectan piel, anexos y mucosas y se producen por contacto directo con el patógeno o fomite y este grupo incluye las dermatofitosis, una de las patologías fúngicas de carácter zoonótico más importantes (Rodríguez, 1998; Quinn et al., 1999; Arenas, 2003).

Las infecciones subcutáneas se inician *in situ* por el ingreso del hongo vía traumática y permanecen a nivel subcutáneo o diseminan vía linfática (Rodríguez, 1998; Hirsh y Chung-Zee, 1999; Burek, 2001).

Las infecciones profundas o sistémicas, son causadas por hongos de mayor patogenicidad, los cuales ingresan vía aerógena al organismo, se instauran en los pulmones, diseminan vía sanguínea (Rodríguez, 1998; Burek, 2001) e involucran principalmente a hongos dimórficos (Rodríguez, 1998; Arenas, 2003).

Por último se encuentran las infecciones causadas por hongos oportunistas que afectan el organismo cuando el sistema inmunológico está comprometido (Rodríguez, 1998; Burek, 2001).

Para el diagnóstico de las enfermedades causadas por hongos se recomienda primeramente la evaluación clínica para determinar si la lesión es compatible con un agente infeccioso. Seguidamente, se toma la muestra y se realiza un examen directo del material clínico o biopsia, en busca de estructuras compatibles con hongos. La histopatología se recomienda para demostrar la invasión del agente micótico en el tejido. Luego, se procede a hacer un cultivo para aislar el o los agentes que están implicados en dicha patología y por último, realizar pruebas específicas para determinar la especie de los agentes involucrados (Hirsh y Chung-Zee, 1999; Quinn et al., 1999; Songer & Post, 2005).

Las técnicas usadas para recolección de muestras micológicas en animales silvestres han sido tomadas y modificadas de aquellas aplicadas en humanos y animales domésticos. De esta forma se pueden realizar raspados de piel, hisopados de cavidades, improntas, barridos de piel con moqueta o cepillo, biopsias, aspirados con aguja fina de nódulos y líquidos contenidos en cavidades (Cooper, 2000a; Cooper, 2000b; Mullineaux et al., 2003; Girling y Raiti, 2004; Harrison y Ligthfoot, 2006a; Mader, 2006; Jacobson, 2007).

Los agentes implicados y la presentación de las micosis varían mucho entre los anfibios, peces, reptiles, aves y mamíferos. En anfibios se ha observado que están propensos a

sufrir infecciones de origen fúngico al vivir en ambientes húmedos que favorecen el crecimiento de hongos potencialmente patógenos (Taylor et al., 1999c). Tal es el caso de *Batrachochytrium dendrobatidis*, *Mucor amphibiorum* y *Basidiobolus ranarum* (Speare et al., 1994; Taylor et al., 1999a; Taylor et al., 1999b; Taylor et al., 1999c; Nelson et al., 2002).

Los anfibios acuáticos comparten infecciones fúngicas con los peces (University of Illinois, 2006). Por ejemplo *Saprolegnia* spp. causa la muerte de los huevos de anfibios y úlceras en la piel de los anuros adultos (Daszak et al., 2003; University of Illinois, 2006).

A pesar de que no son hongos, sino cromistas, los agentes de la familia Saprolegniaceae, han sido reconocidos por ser los que con más frecuencia se aíslan de infecciones en peces. De esta familia, se pueden citar géneros como *Saprolegnia*, *Achyla*, *Dictyuchus*, *Aphanomyces* y *Branchiomyces*, los cuales son agentes causales de patologías tegumentarias, muchas veces secundarias a lesiones o enfermedades subyacentes. Otros géneros que causan patologías sistémicas en peces de agua dulce son *Ichthyophonus* (Olson, 1986), *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhizomucor* (Khoo, 2000; Ferguson, 2006) y *Fusarium oxysporum* (Hatai y Kubota, 1986). En peces de agua salada, *Fusarium solani* ha sido reportado como agente etiológico de dermatitis fúngica en tiburones martillo (Crow et al., 1995).

Los reptiles tienen gran variedad de flora normal compuesta por hongos que bajo ciertas condiciones puede causar infecciones de carácter oportunista. Las enfermedades de origen fúngico han sido reportadas en todos los reptiles (Mader, 2006; Jacobson, 2007) con excepción de las tuátaras (*Sphenodon punctatus* y *S. guntheri*). En serpientes se han descrito hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Geotrichum*, los cuales causan infecciones cutáneas y sistémicas oportunistas. Sin embargo, el principal agente patógeno de

las serpientes es el *Chrysosporium* en el estado anamorfo de *Nannizziopsis vriesii* (CANV), causante de lesiones cutáneas primarias que pueden profundizar a la dermis, músculo, hueso y hasta causar la muerte (University of Illinois, 2006; Mader, 2006; Jacobson, 2007).

En las tortugas, son más comunes las infecciones fúngicas en animales de vida acuática, no obstante, la mayoría de los reportes (tanto en animales terrestres como acuáticos) han sido de infecciones oportunistas, con la excepción de *Fusarium incarnatum*. Este hongo es considerado patógeno primario y es el agente etiológico de la enfermedad necrotizante del caparazón en tortugas de Texas (Rose et al., 2001). Los hongos pueden afectar también los huevos, causando muerte del embrión por disminución de calcio en la cáscara, como es el caso de *Fusarium* spp., *F. oxysporum* y *F. solani* (Phillot et al., 2006a; Phillot et al., 2006b).

Las micosis en cocodrilos están asociadas con errores en el manejo, particularmente se desarrollan por hipotermia. Se ha reportado pododermatitis y enfermedades cutáneas causadas principalmente por CANV (Mader, 2006; y Jacobson, 2007).

Con respecto a los saurios, se presentan con más frecuencia las dermatomicosis que las infecciones sistémicas, en especial dermatomicosis causadas por CANV y otros hongos hialinos (Mader, 2006; Jacobson, 2007).

Las aves silvestres en cautiverio sufren infecciones micóticas adquiridas por la inhalación de agentes tales como *Aspergillus* spp. provenientes de fuentes exógenas (Adrian, 1978; Jones & Orosz, 2000; Harrison y Lightfoot, 2006a, Harrison y Lightfoot, 2006b), o bien a partir de fuentes endógenas por proliferación de hongos propios de su organismo como *Candida* spp. (Hubbard et al., 1985; Curtis, 2000; Harrison y Lightfoot, 2006a).

Las aspergilosis son la causa más frecuente de enfermedad respiratoria en aves de compañía y la entidad no traumática que causa más condiciones clínicas en aves de rapiña de

vida libre (Harrison y Lightfoot, 2006b). Las especies del género *Aspergillus* como *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, entre otras, también causan granulomas a nivel de tráquea, queratitis y dermatitis, encefalitis y meningoencefalitis diseminada (Harrison y Lightfoot, 2006b) y se han reportado en gran cantidad de aves, incluyendo pingüinos (Obendorf y McColl, 1980).

Por otro lado, la candidiasis es una entidad clínica casi exclusiva del tracto gastrointestinal causada principalmente por *Candida albicans*. Es más común en psitácidas y cokatiles neonatos que se infectan por la ingestión de levaduras durante la alimentación por regurgitación de sus madres. Los cuadros clínicos más frecuentes son regurgitación, inapetencia y retraso en la evacuación de excretas (Harrison y Lightfoot, 2006b).

Recientemente *Macrorhabdus ornithogaster* se ha reclasificado como una levadura, (antes considerado como “megabacteria”) y aunque aún está en discusión si es patógeno o comensal, se ha asociado con condiciones clínicas como regurgitación, diarrea con o sin melena y dilatación del proventrículo en pericos y otras aves ornamentales (Songer y Post, 2005; Harrison y Lightfoot, 2006b). Así mismo, agentes como *Malassezia* spp., *Microsporium gallinae*, *Aspergillus* spp. y *C. albicans* se han relacionado con pérdida de plumas y dermatitis (Harrison y Lightfoot, 2006a). Se han reportado también infecciones mixtas en piel causadas por hongos de los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Exophiala* y *Trichophyton* (Davidson et al., 1989).

Cryptococcus neoformans, se ha reportado causando patología en palomas a pesar de que son consideradas portadoras asintomáticas (Griner y Walch, 1978).

Con respecto a los mamíferos, las micosis superficiales como las dermatofitosis son las más frecuentemente reportadas. Las infecciones sistémicas letales suceden solo en individuos

con lesiones graves, cuyo sistema inmune esté severamente comprometido por diferentes causas incluyendo el estrés (Burek, 2001). Por otro lado, algunos animales son considerados portadores de hongos, como es el caso de *Cryptococcus gatti* aislado de dos ardillas en Canadá (Duncan et al., 2006).

Los dermatofitos se han descrito ya sea causando patología o como flora transitoria en varios animales silvestres, como los erizos que se ha aislado *Trichophyton erinacei* (Mullineaux et al., 2003, Riley y Chomel, 2005), en murciélagos *T. persicolor*, *T. mentagrophytes* y *Microsporum canis* (Mullineaux et al., 2003), en roedores *T. mentagrophytes* (Mullineaux et al., 2003), en jabalíes *T. mentagrophytes* y *T. terrestre* (Mancianti et al., 1997) y en felinos silvestres *Microsporum gypseum* (Levy et al, 2006).

Las excretas de algunos mamíferos silvestres son reservorio de hongos dimórficos patógenos primarios, como *Histoplasma capsulatum* en las excretas de los murciélagos (Hoff y Bigler, 1981) y *Paracoccidioides brasiliensis* en armadillos (Corredor et al., 1999). Pero, estos y otros hongos dimórficos también causan patología en mamíferos silvestres, tales como coccidioomicosis en pecarí de collar y puma (Lochmiller et al., 1985; Adaska, 1999); blastomicosis en lobos (Thiel et al., 1987), así como adiaspiromicosis en mofetas, ardillas y castor (Leighton y Wobeser, 1978; Albassam et al., 1986; Mörner et al., 1999; Mullineaux et al., 2003;). Además, se ha reportado esporotricosis en mamíferos silvestres en cautiverio y vida libre (Burek, 2001).

En cérvidos, se han documentado aspergilosis y nefritis por oxalatos (metabolitos secundarios del hongo) (Wyand et al., 1971), aspergilosis pulmonar y encefalitis por *Mucor* spp (Fletch y Anderson, 1969), infección pulmonar por *Mucor* spp (Davidson et al., 1985) y micosis subcutánea por *Alternaria alternata* (Salkin & Stone, 1974). Por otro lado, en erizos

se ha encontrado, candidiasis intestinal (Riley y Chomel, 2005) y dermatitis por *Neosartorya hyratzuka* (Han y Na, 2008). En otros animales han sido reportadas otras infecciones como micosis diseminadas y fatales por *Mucor amphibiorum* en ornitorrincos (Obendorf et al., 1993), neumonía y meningoencefalitis por *Aspergillus terreus* en un leopardo de nieve (Peden et al., 1985), zigomicosis nasal y aspergilosis pulmonar en un bisón (Espinosa de los Monteros et al., 1999) y varios casos de neumocistosis en pequeños mamíferos en California (Lakkonen et al., 2001), así como un perezoso de Panamá (Yonushonis et al., 1986).

Los mamíferos marinos no escapan de padecer infecciones micóticas tal es el caso de coccidiomicosis en un león marino (Reed et al., 1976) y en delfín nariz de botella (Reidarson et al., 1998), criptococosis en un delfín rayado (Gales et al., 1985), lobomicosis en delfines (Rotstein et al., 2009) y micosis diseminada por *Rhizopus* spp en marsopa marina (Wünschmann et al., 1999).

También se han reportado candidiasis en marsupiales (canguros) (Obendorf, 1980) e histoplasmosis en una zarigüeya (Silva-Vergara et al., 2001).

1.2. Justificación

Los seres humanos tienen el deber de proteger y preservar la vida de las demás especies con las cuales comparten el planeta. Es fundamental mantener los ecosistemas naturales y mejorar las condiciones de vida de la fauna silvestre en libertad y la que se encuentra en cautiverio asegurando su bienestar. Un mayor conocimiento sobre su flora normal, de las enfermedades que los aquejan y potenciales patógenos será un gran aporte para su conservación (Chomel et al., 2007; Jacobson, 2007).

Al conocer más sobre la interacción de los agentes micóticos en la fauna silvestre se favorecerá un mejor diagnóstico y al incluir muestras de rutina adecuadas para estudio micológico, se podrá aumentar la detección de infecciones asociadas con hongos, recomendar la instauración del tratamiento oportuno y también las medidas de control y prevención pertinentes (Jacobson, 2007; Harrison y Lightfoot, 2006b).

Sumado a lo anterior, se conoce que de 1407 especies de patógenos humanos, 177 corresponden a agentes de zoonosis emergentes y reemergentes y 22 son agentes fúngicos (Woolhouse y Gowtage-Sequeira, 2005). La aparición de estas enfermedades ha sido atribuida a una mayor interacción del ser humano con la vida silvestre, producto del agresivo desarrollo agrícola, la desmedida urbanización y un interés especial del hombre por conocer la forma de vida de estos animales, tanto desde el punto de vista científico como desde el punto de vista ecoturístico (Chomel et al., 2007).

El tráfico internacional de fauna silvestre también juega un papel importante en la emergencia y re-emergencia de enfermedades zoonóticas, puesto que se estima que 40 000 primates no humanos, 4 millones de aves, 64 000 reptiles y 350 millones de peces tropicales,

son retirados al año de sus ecosistemas para ser introducidos en otros ambientes, la mayoría de las veces muy diferentes a los que están acostumbrados (Chomel et al., 2007). Otros factores que han contribuido al incremento de las enfermedades zoonóticas son la introducción de carnes de animales exóticos en la cultura culinaria de diferentes poblaciones y mercados donde se ofrecen los animales vivos para consumo así como también la tenencia de mascotas exóticas y los zoológicos, circos u otros lugares donde se permite interactuar con los animales (Chomel et al., 2007).

Por otra parte, en Costa Rica, existen escasos estudios dedicados a la identificación de agentes micóticos en animales silvestres. El primero, corresponde a una tesis para detectar la presencia del hongo *Batrachochytrium dendrobatidis* en anuros en Costa Rica (Pushendorf, 2004), el segundo corresponde al aislamiento de levaduras de monos en los que se detectó la presencia de levaduras en piel, cavidad oral y vagina de estos primates en distintas regiones geográficas de Costa Rica (Gross et al., en prensa). Otro corresponde a aislamientos fúngicos de las heces de lagartijas domésticas (Sanabria-Romero y Espinosa-Romero, 2000) y otros dos en los cuales se realizó aislamientos de hongos en huevos de tortuga (Mo et al., 1990; Acuña-Mesén, 1992). Actualmente, el país depende en gran medida de la industria ecoturística (Lizano, 2001) y cuenta con una gran diversidad de fauna silvestre atrayente de turistas (www.inbio.ac.cr). Dada la creciente importancia mundial de las infecciones micóticas en animales silvestres; es necesario más investigación en el área. Sin embargo, el aporte de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional en el área de Micología Médica Veterinaria ha sido deficiente, pues esta área ha sido desatendida durante muchos años, muestra de ello es que desde 1985 no se realizan publicaciones (Mendoza y Alfaro, 1985) y no se han realizado trabajos finales de graduación en esta área. Hasta el momento existen pocos

trabajos enfocados en la medicina de especies silvestres y de los existentes, solo en uno se hace una breve mención sobre neumonías de origen micótico en serpientes (Quesada, 2005).

Sumado a esto, la inexistencia de un protocolo en el que se describa la forma correcta de recopilación de historia y hallazgos clínicos, toma y transporte de muestras bajo las medidas de bioseguridad pertinentes, inciden negativamente en el adecuado diagnóstico, la investigación en el área y por consiguiente la información disponible. Además al no confirmarse el diagnóstico clínico presuntivo mediante exámenes de laboratorio, se reduce de manera considerable el éxito del tratamiento y se dificulta la prevención de una eventual enfermedad.

Este estudio surge a partir de la necesidad de información sobre agentes fúngicos saprófitos o patógenos de la fauna silvestre en Costa Rica. Así mismo, persigue orientar sobre la forma correcta para toma y transporte de muestras e información pertinente, en pro de aumentar la detección de patologías causadas por hongos, sentar las bases para la posterior instauración del tratamiento oportuno y la instauración de las medidas de control y prevención pertinentes. A la vez, pretende enfatizar la importancia de considerar los agentes micóticos en el diagnóstico diferencial de enfermedades tanto infecciosas como no infecciosas que cursan con síntomas indiferenciables por el clínico, al igual que persigue aportar conocimiento sobre los hongos que podrían estar en diferentes huéspedes y su posible potencial infeccioso o patógeno.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Determinar los agentes micóticos que se encuentran en superficies corporales y aquellos asociados con lesiones en piel y órganos internos en animales silvestres de vida libre y de cautiverio en nuestro país.

1.3.2. Objetivos específicos

- Aislar e identificar los géneros y especies de hongos presentes en superficies corporales y órganos internos de animales silvestres con y sin lesiones aparentes.
- Identificar y describir las presentaciones clínicas y patológicas de lesiones superficiales y profundas asociadas con los hongos aislados de animales silvestres.
- Implementar un protocolo para el registro de información, toma y envío de muestras para análisis micológico de animales silvestres.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Selección de la muestra

2.1.1. Procedencia de las muestras

El estudio se realizó de mayo de 2007 a diciembre de 2009, en el cuál, se tomaron en cuenta todas las muestras sospechosas de etiología micótica remitidas al Laboratorio de Micología (LM) de la Universidad Nacional por médicos veterinarios (Dra. María Pía Martín, Dra. Karolina Rodríguez, Dra. Karolina Solís, Dr. Leonardo Murillo y Dr. Roberto Araya), así como también el material recolectado en forma activa de animales mantenidos en cautiverio (Instituto Clodomiro Picado, Escuela Centroamericana de Ganadería, Santuario Silvestre de Osa y Parque Marino de Puntarenas) o en vida libre (Proyecto HEMS), necropsias realizadas en el Laboratorio de Patología (LPN) y animales que ingresaron al Hospital de Especies Menores y Silvestres de la Universidad Nacional (HEMS), pero que no necesariamente se sospechara de infección micótica.

2.1.2. Animales muestreados

Un total de 117 animales fueron muestreados, entre ellos tortugas (n=40), perezosos (n=19), serpientes (n=14), aves (n=12), monos (n=12), iguanas (n=8) y otros animales (n=12), provenientes de Heredia, Alajuela, San José y Puntarenas, tanto de vida libre como de cautiverio, sin importar edad o sexo.

Siempre que estuvo disponible, se registró la información sobre el sexo, grado de madurez sexual, condición de cautiverio o vida libre y provincia de procedencia.

2.1.3. Examen clínico

Previo al envío o toma de muestras, los animales fueron valorados clínicamente por el o la médico veterinario regente de los lugares donde se mantenían en cautiverio: Dr. Olman Solano, Dra. Karolina Solís, Dra. María Pía Martín, Dra. Karolina Rodríguez, Dr. Leonardo Murillo y Dr. Roberto Araya. Con respecto a los animales procesados para necropsia, el diagnóstico patológico fue realizado por el Dr. Juan Alberto Morales, Dra. Rocío González y Dr. Ricardo García. Los casos que llegaron al HEMS fueron evaluados por el Dr. Mauricio Jiménez y Dr. José Solano.

2.2. Registro de los datos

Se anotó la fecha y hora de la toma de muestra, así como el lugar donde se encontró el animal. Se diseñó un formulario donde se anotó la información relevante (Anexo 1): el nombre común del animal, así como el género y la especie, el sexo y el grado de madurez sexual (adulto o juvenil). Para efectos de identificación del sujeto en estudio, se indicó si era de vida libre o de cautiverio. En el caso de animales de vida libre que estaban bajo un sistema de monitorización, se anotó el número de radiocollar y/o microchip; de lo contrario se le adjudicó solo la identificación de caso de laboratorio y de consecutivo. Para los animales en cautiverio, se anotó el número de registro del lugar de procedencia. Se llevó una identificación del paciente para control interno e identificación de las muestras, el cuál se conformó por las dos primeras letras del nombre común del animal, seguido del consecutivo de toma de muestra. Por ejemplo, perezoso número uno, se identificó como PE-01.

2.3. Tipos de muestra

Se tomaron muestras de superficies corporales de individuos sanos (barridos de piel, pelo, escamas o plumas, hisopados de canal auditivo externo, cloaca, boca y raspados de caparazón). De animales enfermos o con lesión, se incluyeron muestras de raspados y en algunos biopsias de lesiones superficiales y subcutáneas u órganos de necropsia con el fin de detectar la presencia de agentes fúngicos.

2.4. Toma de muestra

2.4.1. Animales sin lesiones

Mamíferos: se les tomó hisopados de oídos, boca y un barrido de piel con una moqueta.

Aves: hisopados de cloaca, boca y barrido de plumas con moqueta.

Tortugas: se les tomó hisopados de boca y cloaca, raspado de caparazón

Otros reptiles: hisopados de cloaca y boca.

2.4.2. Animales con lesiones

En aquellos animales que presentaban lesiones se tomó una muestra de la región afectada de la siguiente manera: para todas las lesiones observadas en piel, se emplearon guantes y se desinfectó el área con alcohol gel, con el fin de reducir los contaminantes que pudieran interferir con el diagnóstico del agente etiológico que se buscaba (Cork & Halliwell, 2002). A continuación se describe el método utilizado para cada tipo de muestra:

Lesiones planas de piel: se tomó un raspado con filo de bisturí número 10 o 20, de la periferia de la lesión, puesto que los hongos crecen de manera apical (Cork & Halliwell, 2002;

Mullineaux et al., 2003; Girling y Raiti, 2004).

Lesiones nodulares: se realizaron biopsias con bisturí y previamente se aplicó anestesia local con un bloqueo en anillo con 5ml de lidocaína al 2% (Cork & Halliwell, 2002; Girling y Raiti, 2004).

Escamas: se utilizó una hoja de bisturí, con la cual se raspó la periferia de la superficie afectada. La hoja de bisturí con todo y material se depositó en un recipiente estéril (Drouhet et al., 1977; Cork & Halliwell, 2002; Mullineaux et al., 2003; Girling y Raiti, 2004).

Pelos: empleando pinzas, se arrancaron los pelos que tuvieran signos de infección, pues al estar el agente etiológico en la raíz, se debilita el folículo piloso y se aumenta la probabilidad de éxito de encontrar al agente etiológico (Drouhet et al., 1977; Cork & Halliwell, 2002; Mullineaux et al., 2003).

Costras: se removió parte de la costra cerca de la piel sana con una hoja de bisturí estéril (Cork & Halliwell, 2002).

Hisopados de cavidades: se realizaron con un hisopo estéril, en forma circular, rozando las paredes de las superficies corporales (mucosas, cavidades y canal auditivo externo) (Quinn et al., 1999; Cooper, 2000a; Cooper, 2000b; Mullineaux et al., 2003; Girling y Raiti, 2004).

Barridos de la superficie del animal: este procedimiento se realizó en los mamíferos y aves para detectar hongos, en especial dermatofitos, que son portados en el pelaje del animal. Utilizando una moqueta estéril, se pasó varias veces sobre el dorso del animal y se volvió a colocar dentro del sobre estéril para transportarla al laboratorio (Mariat y Adam-Campos, 1967).

Exudados de mucosas, pus y líquidos patológicos: se colectaron mediante un aspirado con aguja y jeringa estéril (Drouhet et al., 1977; Girling y Raiti, 2004). Si la cantidad era muy poca o la viscosidad del material no permitía tomar la muestra mediante esta técnica, se procedía a tomarla

mediante un hisopo estéril.

Biopsia: se realizó tipo excisional (con un bisturí número 10 o 20) de las lesiones nodulares de mamíferos, reptiles y aves; se tomó la mitad para su posterior evaluación histopatológica y la otra mitad para ser evaluada en el laboratorio de micología (Drouhet et al., 1977; Mullineaux et al., 2003; Girling y Raiti, 2004; Mader 2006; Pérez y Carrasco, 2000; Jacobson 2007).

2.5. Envío y rotulación de las muestras

El material fue remitido en los recipientes donde fue depositada la muestra (platos de Petri, tubos de ensayo, bolsa ziploc, etc) y fue debidamente identificado con un número de control interno y sitio anatómico de procedencia; adjuntándose la hoja de datos.

En el caso de las biopsias, éstas se depositaron en recipientes con formalina al 10%, en una proporción de diez partes de formalina por una parte de muestra, para aquellas muestras destinadas a histopatología y para las muestras de micología se transportaron en recipientes estériles sin ningún medio si la muestra era procesada en las dos horas siguientes, de lo contrario se le adicionaba salina estéril y se mantenía a 4°C (Quinn et al., 1999; Pérez y Carrasco, 2000).

2.6. Análisis de laboratorio

Procesamiento de las muestras: todas las muestras se enviaron el mismo día de la toma, sólo en casos excepcionales se refrigeraron. Las mismas, fueron procesadas y analizadas en un período no mayor a 48 horas en el LM. Las biopsias y necropsias fueron procesadas y analizadas en el Laboratorio de Patología de la Universidad Nacional.

Exámenes directos: se realizaron exámenes microscópicos directos con hidróxido de potasio (KOH) al 10 o 20% a las muestras de raspados y biopsias. Las muestras de aspirados e hisopados

fueron procesadas con azul de metileno. Se observaron con microscopio de luz bajo los objetivos 10x, 20x, 40x las muestras realizadas con KOH, los directos en azul de metileno se visualizaron en 40x y 100x (Quinn et al., 1999; Scott et al., 2002).

Cultivos: simultaneamente, y si hubo material suficiente, las muestras se cultivaron en Agar Glucosado de Sabouraud (SDA) y/o Agar Mycosel (Myc), según tipo de muestra y disponibilidad de medios, de la siguiente manera:

- Hisopados: se realizaron exámenes directos teñidos con azul de metileno y se cultivaron en Myc y en SDA a 25°C (Quinn et al., 1999). Las colonias que crecieron sobre la superficie rayada fueron las que se tomaron en cuenta.
- Moquetas: se cultivaron mediante presión sobre la superficie del agar Myc y por un período de al menos 15 días incubados a 25°C (Mariat y Adam-Campos, 1967).
- Raspados: se realizaron exámenes directos con KOH al 10 o 20% y se cultivaron en SDA y/o Myc a 25°C. Al revisar los cultivos se consideraron significativas aquellas colonias que crecieran sobre el material implantado y con una velocidad de crecimiento igual a lo reportado para la especie (Cork & Halliwell, 2002; Quinn et al., 1999; Scott et al., 2002).
- Biopsias: fueron procesadas y analizadas en el laboratorio de Patología las muestras que se transportaron en formalina al 10% y las partes correspondientes a micología se procesaron igual que los raspados.

2.6.1. Cultivos (Agar Sabouraud, Mycosel)

Los medios que se utilizaron en este estudio fueron el Agar Glucosado de Sabouraud (SDA), porque en él crecen todo tipo de hongos, a excepción de los hongos dimórficos en fase levaduriforme a 25°C (Quinn et al., 1999) y el Agar Glucosado de Sabouraud más Cloramfenicol y Cicloheximida (Mycosel), porque se inhibe el crecimiento bacteriano y de hongos saprófitos contaminantes (Quinn et al., 1999; Cork & Halliwell, 2002).

2.6.2. Identificación de agentes mediante morfología macro y microscópica

Se identificaron los hongos que crecieron en los cultivos con base en sus características macroscópicas y microscópicas con claves establecidas en libros y sitios de internet de universidades (Larone, 2002, www.doctorfungus.org, www.mycology.adelaide.edu.au, www.aspergillus.org.uk). Para la visualización microscópica del agente, se realizó un montaje en lactofenol si el hongo era fuliginoso al reverso o en lactofenol azul si el hongo era hialino al reverso y posteriormente se observó con microscopio de luz con los objetivos 10, 20 y 40x. Las levaduras no fueron identificadas, con excepción de las cepas de *Candida albicans* que se identificaron mediante la clamidosporación terminal en Agar Harina de Maíz adicionado con Tween 80 y prueba de tubo germinativo (Larone, 2002).

Las colonias filamentosas que carecían de estructuras características, en la medida de lo posible, se sometieron a cultivos especiales para la producción de esporas en agar papa glucosa y cultivo en lámina para su adecuada identificación (Quinn et al., 1999; Larone, 2002).

2.7. Registro, análisis e interpretación de la información

Los datos se registraron en las fichas clínicas de cada animal y luego fueron ingresadas en hojas de Excel 97® (Microsoft Company). Se tomaron fotografías sobre el procedimiento de toma de muestras y lesiones de los animales. Así mismo, se fotografiaron los hongos aislados, morfología al examen directo, pruebas especiales realizadas y las características macroscópicas y microscópicas. Las cepas de hongos aislados fueron preservadas (siempre que fue posible) en una colección de tubos con medio Sabouraud, Mycosel o Czapeck Dox, o bien se guardaron los cultivos en lámina para su posterior análisis.

Para el análisis de los datos, se utilizó una estadística descriptiva de acuerdo con lo descrito por Aviva y Watson (1999) y la interpretación de resultados se realizó con la ayuda de la Dra. Andrea Urbina, Dra. Norma Gross y Dra. Ingrid Salas (estas últimas con la identificación de una cepa de *Verticillium* spp), experiencia adquirida en los cursos de Micología General y Micología Médica (Facultad de Microbiología de la Universidad de Costa Rica), Patobiología I, II y III, Medicina y Manejo de Vida Silvestre y Medicina Interna de Especies Menores (EMV-UNA), pasantía al Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Medicina Veterinaria de Hannover (Alemania), revisión de libros sobre micología, microbiología y animales silvestres, y recopilación de artículos científicos relacionados con micosis en especies silvestres y técnicas micológicas.

3. RESULTADOS

3.1. Total de muestras recolectadas y analizadas

3.1.1 Exámenes directos

De los 117 animales silvestres se obtuvieron en general un total de 320 muestras. De ellas, se realizaron 277 exámenes directos, de los cuales, 161 se realizaron con azul de metileno (AM) y de ellos 19.9% resultaron positivos por hifas o levaduras. De 116 exámenes directos realizados con hidróxido de potasio (KOH), 15.5% resultaron positivos por estructuras fúngicas. El mayor porcentaje de animales positivos corresponde al grupo de las iguanas (45,4%), seguido de los perezosos (27,7%) y las aves (26,9%) (cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de animales positivos por estructuras fúngicas en el examen directo (AM y KOH)

Animal	Positivos/Total (%)
Iguanas	5/11 (45,4)
Perezosos	15/54 (27,7)
Aves	7/26 (26,9)
Monos	3/16 (18,7)
Serpientes	3/24 (12,5)
Tortugas	11/94 (11,7)
Otros	6/52 (11,5)
Total	50/277 (18,0)

3.1.2. Aislamientos

Se realizaron 428 cultivos de las diferentes muestras, de los cuales se cultivaron 254 en Agar Sabouraud y 174 en Agar Mycosel.

A) *Agar Sabouraud (SDA)*

Se pudo observar crecimiento fúngico en un 55,5% de los cultivos realizados con SDA. El grupo de las muestras de monos fue en el que se registraron más aislamientos (100% de los cultivos) y en un segundo lugar las tortugas (85,4% de los cultivos) (cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de hongos aislados en Agar Sabouraud según tipo de animal silvestre

Animal	Positivo/ Total (%)
Monos	5 / 5 (100)
Tortugas	82 / 96 (85,4)
Iguanas	5 / 9 (55,5)
Aves	13 / 26 (50)
Otros	16 / 37 (43,2)
Serpientes	11 / 30 (36,6)
Perezosos	9 / 51 (17,6)
Total	141 / 254 (55,5)

B) *Agar Mycosel (Myc)*

De los 174 cultivos realizados con Myc, 58% presentaron crecimiento positivo por hongos. El mayor porcentaje de aislamientos con este medio se obtuvo del grupo de los perezosos (72,7%), seguido por otros animales silvestres (70,8%) (cuadro 3).

Cuadro 3. Porcentaje de hongos aislados en Agar Mycosel según tipo de animal silvestre

Animal	Positivo/Total (%)
Perezosos	16 / 22 (72,7)
Otros	17 / 24 (70,8)
Aves	7 / 10 (70)
Tortugas	37 / 60 (61,6)
Monos	9 / 17 (52,9)
Iguanas	3 / 8 (37,5)
Serpientes	12 / 33 (36,3)
Total	101 / 174 (58)

C) Concordancia de exámenes directos y cultivos

De 321 cultivos, 8,6% de los resultados fueron positivos tanto en los exámenes directos como en los cultivos y 39,2% fueron negativos en ambas pruebas. 44,8% resultaron negativos al examen directo pero positivos en el cultivo (cuadro 4).

Cuadro 4. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de animales

	Examen directo		Cultivo	
		+	-	
+		n/ Total (%)	n/Total (%)	
	+	34/321 (8,6)	29/321 (7,4)	
	-	176/321 (44,8)	154/321 (39,2)	

3.1.3. Aislamientos e identificación

En el 85.4% (n=100) de los animales muestreados se observaron estructuras fúngicas, ya sea mediante examen directo, histopatología y/o cultivo. De esos animales, se lograron obtener 320 aislamientos, identificados en 25 grupos de hongos (58,1%). En 4 grupos la identificación no pudo ser concretada (41,9%). Los hongos filamentosos se aislaron la mayoría de las veces, de los cuáles, *Penicillium* spp. fue el más frecuente (24,7%) y fue el que se encontró con más frecuencia en las muestras de perezosos, aves y monos. Por otra parte, los agentes del género *Aspergillus* fueron los segundos que más se aislaron de las muestras de animales silvestres (19,3%), encontrándose mayormente en tortugas, monos y otros animales. El género *Cladosporium* representó un 12,3% de los hongos identificados, aislándose principalmente en serpientes y perezosos. *Fusarium* spp. representó el 11,8% de los aislamientos que en su gran mayoría provenían de muestras de tortugas. Las levaduras se identificaron en un menor porcentaje, siendo *Candida* spp. la que más se aisló (cuadro 5).

Cuadro 5. Grupos de agentes micóticos identificados según grupo de animal silvestre

Agente	Tortugas	Serpientes	Iguanas	Perezosos	Monos	Aves	Otros ^Ψ	Total	%
<i>Penicillium</i> spp.	10	6	2	10	5	9	4	46	24,7
<i>Aspergillus</i> spp.†	22	1	0	0	6	2	5	36	19,3
<i>Cladosporium</i> spp.	1	7	1	7	3	3	1	23	12,3
<i>Fusarium</i> spp.	19	0	0	2	0	0	1	22	11,8
<i>Candida</i> spp. ‡	5	0	0	0	2	0	5	12	6,4
<i>Trichosporon</i> spp.	5	0	0	0	0	0	1	6	3,3
<i>Rhizopus</i> spp.	6	0	0	0	0	0	0	6	3,3
<i>Curvularia</i> spp.	4	0	1	0	0	0	0	5	2,7
<i>Paecilomyces lilacinus</i> .	5	0	0	0	0	0	0	5	2,7
<i>Verticillium</i> spp.	1	3	0	0	0	0	0	4	2,2
<i>Geotrichum</i> spp.	4	0	0	0	0	0	0	4	2,2
<i>Mucor</i> spp.	1	2	0	0	1	0	0	4	2,2
<i>Malassezia pachydermatis</i>	0	0	0	0	0	0	3	3	1,6
<i>Rhodotorula</i> spp.	1	0	1	0	0	1	0	3	1,6
<i>Mycrosporium gypseum</i>	0	0	0	1	0	0	1	2	1,1
<i>Prototheca</i> spp.	2	0	0	0	0	0	0	2	1,1
<i>Alternaria</i> spp.	1	0	0	0	0	0	0	1	0,5
<i>Rhizomucor</i> spp.	1	0	0	0	0	0	0	1	0,5
<i>Chaetomium</i> spp.	0	0	0	0	0	0	1	1	0,5
Total	88	19	5	20	17	15	22	186	100
%	47,3	10,2	2,7	10,7	9,1	8,1	11,8	100	

† Incluye *A. niger* (n=10), *A. terreus* (n=7), *A. clavatus* (n=1) y *A. flavus* (n=1)

‡ Incluye *Candida albicans* (n=2)

Ψ Pizote, mapache, causel, delfin, caimán

Los hongos hialinos y pigmentados fueron los que se aislaron con mayor frecuencia (39,5 y 24,6% respectivamente), principalmente de muestras de tortugas. Los grupos de levaduras y zigomicetes se encontraron en porcentajes menores (cuadro 6).

Cuadro 6. Porcentaje de animales con hongos no identificados

Agente	Tortugas	Serpientes	Iguanas	Perezosos	Monos	Aves	Otros ^Ψ	Total	%
Hongo hialino	39	4	0	4	0	1	5	53	39,5
Hongo pigmentado	30	2	1	1	2	2	2	40	29,9
Levaduras	7	0	0	3	0	8	3	21	15,7
Zygomycetes	4	1	4	0	4	4	3	20	14,9
TOTAL	80	7	5	8	6	14	13	134	100
%	59,7	5,2	3,7	5,9	4,5	10,4	9,7	100	

Ψ Pizote, mapache, delfín, caimán

Según el tipo de muestra analizada, se encontró que la moqueta generó mayor porcentaje de aislamientos (21%), seguido de los hisopados de cloaca (18,3%). Muestras biológicas que incluyeron biopsias diversas, aspirados y otros, también generaron aislamientos (19,3%) (cuadro 7).

Los hongos filamentosos de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Fusarium*, fueron los más frecuentes y *Candida* spp. fue la levadura que más se aisló.

Cuadro 7. Grupos de agentes micóticos identificados según tipo de muestra clínica

Agente	Raspado Hisopado Hisopado Hisopado								Total	%
	Caparazón	Plastron	de piel	de boca	de cloaca	de oídos	Moqueta	Otras ^Ψ		
<i>Penicillium</i> spp.	3	4	8	1	6	2	18	4	46	24,7
<i>Aspergillus</i> spp.†	5	2	1	1	15	1	6	5	36	19,3
<i>Cladosporium</i> spp.	0	0	4	2	0	0	13	4	23	12,3
<i>Fusarium</i> spp.	9	3	1	1	0	0	0	8	22	11,8
<i>Candida</i> spp.‡	1	1	2	1	2	2	0	3	12	6,4
<i>Trichosporon</i> spp.	0	1	0	0	1	0	0	4	6	3,3
<i>Rhizopus</i> spp.	3	2	0	0	1	0	0	0	6	3,3
<i>Curvularia</i> spp.	2	1	1	0	1	0	0	0	5	2,7
<i>Paecilomyces</i>										
<i>lilacinus</i>	0	1	0	0	4	0	0	0	5	2,7
<i>Verticillium</i> spp.	1	0	0	0	0	0	0	3	4	2,2
<i>Geotrichum</i> spp.	0	0	1	1	0	0	0	2	4	2,2
<i>Mucor</i> spp.	1	0	1	0	0	0	1	1	4	2,2
<i>Rhodotorula</i> spp.	0	0	0	0	3	0	0	0	3	1,6
<i>Penicillium</i> spp.	3	4	8	1	6	2	18	4	46	24,7
<i>Microsporum</i>										
<i>gypseum</i>	0	0	1	0	0	0	1	0	2	1,1
<i>Prototheca</i> spp.	0	0	0	0	1	0	0	1	2	1,1
<i>Alternaria</i> spp.	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0,5
<i>Rhizomucor</i> spp.	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,5
<i>Chaetomium</i> spp.	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0,5
TOTAL	25	16	21	8	34	7	39	36	186	100
%	13,4	8,6	11,3	4,3	18,3	3,7	21	19,3	100	

† Incluye *A. niger* (n=10), *A. terreus* (n=7), *A. clavatus* (n=1) y *A. flavus* (n=1)

‡ Incluye *Candida albicans* (n=2)

Ψ Biopsias (esófago, lengua, pulmones, corazón, hígado, folículo, riñón, cerebro, intestino, huevo), material de estomatitis, absceso ocular, aspirados (buche, líquido de cavidad celómica) hisopados y raspado de foseta loreal, hisopado de espiráculo.

Del caparazón se aislaron principalmente hongos hialinos y pigmentados. En “otras muestras” se aislaron la mayor cantidad de levaduras y de la muestra de moqueta se obtuvieron la mayoría de los Zigomicetes (cuadro 8).

Cuadro 8. Grupos de agentes micóticos no identificados según tipo de muestra clínica

Agente	Caparazón	Raspado Plastron de piel	Hisopado de boca	Hisopado de cloaca	Hisopado de oídos	Moqueta	Otros ^Ψ	Total	%	
Hongo hialino	22	8	1	3	5	4	3	7	53	39,5
Hongo pigmentado	20	3	2	0	7	1	5	2	40	29,9
Levaduras	0	1	1	4	1	1	1	12	21	15,7
Zigomicetes	2	0	6	1	2	0	7	2	20	14,9
TOTAL	44	12	11	8	15	6	16	23	134	100
%	32,8	8,8	8,1	5,8	11,2	4,4	11,9	17	100	

Ψ Biopsias (cerebro, esófago, pulmón, hígado, riñón, folículo), hisopados (foseta loreal, esófago y cavidad celómica), material de vejiga, tráquea, absceso ocular, aspirado cavidad celómica.

Se lograron obtener 112 aislamientos de lesiones diversas, de los cuales 69 géneros (61,6% de los agentes) fueron identificados. La mayoría se aislaron de muestras de raspados de piel (34,8%) y plastron (27,5%), siendo *Penicillium* (%) y *Fusarium* los géneros más aislados (cuadro 9).

Los hongos hialinos fueron los que mayormente se aislaron de las muestras de lesiones de piel y plastron, por otro lado, las levaduras se lograron aislar de otras muestras (cuadro 10).

Cuadro 9. Géneros de hongos identificados en lesiones de animales silvestres según tipo de muestra clínica

Agente	Raspado de				Total	%
	Caparazón	Plastron	piel	Otros órganos ^Ψ		
<i>Penicillium</i> spp.	2	4	8	1	15	21,7
<i>Fusarium</i> spp.	3	3	1	2	9	13,1
<i>Cladosporium</i> spp.	0	0	4	1	5	7,2
<i>Candida</i> spp. †	0	1	2	0	3	4,3
<i>Rhizopus</i> spp.	1	2	0	0	3	4,3
<i>Curvularia</i> spp.	1	1	1	0	3	4,3
<i>Verticillium</i> spp.	0	0	0	3	3	4,3
<i>Aspergillus</i> spp. †	1	2	0	0	3	4,3
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	0	1	0	1	2	2,9
<i>Trichosporon</i> spp.	0	1	0	1	2	2,9
<i>Geotrichum</i> spp.	0	0	2	0	2	2,9
<i>Rhizomucor</i> spp.	0	1	0	0	1	1,4
<i>Prototheca</i> spp.*	0	0	0	1	1	1,4
<i>Alternaria</i> spp.	0	0	0	1	1	1,4
<i>Microsporium gypseum</i>	0	0	1	0	1	1,4
<i>Chaetomium</i> spp.**	0	0	1	0	1	1,4
TOTAL	9	19	24	17	69	100
%	13,1	27,5	34,8	24,6	100	

Ψ Pulmón, hígado, riñón, esófago, lengua, material de estomatitis, absceso ocular, aspirado de líquido cavitadcelómica, hisopado de foseta loreal,

† Incluye *Candida albicans* (n=2)

† Incluye *A. niger* (n=1)

* Anexo 2

** Anexo 3

Cuadro 10. Hongos no identificados en lesiones de animales silvestres según tipo de muestra

Agente	Caparazón	Plastron	Piel	Otros órganos ^Ψ	Total	%
Hongo hialino	5	8	2	3	18	41,8
Levaduras	0	1	2	7	10	23,2
Zygomycetes	1	0	6	1	8	18,6
Hongo negro	2	3	2	0	7	16,3
TOTAL (%)	8	12	12	11	43	100
%	18,6	27,9	27,9	25,6	100	

Ψ Pulmón, esófago, hígado, riñón, material de vejiga, tráquea, absceso ocular, líquido cavidad celómica

3.1.4. Concordancia de resultados de los exámenes micológicos e histopatológicos positivos

De los 117 animales muestreados, 65 (55,5%) presentaban lesiones diversas. En estos animales se logró demostrar mediante el examen directo (18,4%) o histopatología (4,6%) y cultivo (78,4%), la presencia de hongos en el material clínico. Hubo una concordancia de los hallazgos positivos de esos exámenes en 11 (16,9%) animales (cuadro 11).

Cuadro 11. Concordancia de resultados micológicos en animales con lesión.

ID Lab	Tipo de Muestra	Examen directo/ histopatología	Cultivo
TO-03	Raspado lesión caparazón	Hifas hialinas septadas	Hongo hialino
TO-06	Raspado lesión de piel	Hifas hialinas septadas	<i>Geotrichum</i> spp.
TO-07	Material de estomatitis Hisopado de boca Absceso ocular	Hifas septadas hialinas Levaduras Hifas hialinas y levaduras	SDA: <i>Fusarium</i> spp. Myc: <i>Paecilomyces lilacinus</i> <i>Geotrichum</i> spp. SDA: <i>Fusarium</i> spp. y levaduras Myc: Hongo hialino
	Material de vejiga	Levaduras del género <i>Candida</i>	Levaduras
TO-08	Raspado lesión de caparazón (Anexo 4)	Hifas septadas hialinas	<i>Verticillium</i> spp., <i>Fusarium</i> spp.
TO-09	Raspado lesión de caparazón	Hifas septadas fuliginosas	<i>Curvularia</i> spp.
MO-01	Biopsia de lengua	Levaduras del género <i>Candida</i>	<i>Candida albicans</i>
MO-01	Biopsia de esófago (Anexo 5)	Levaduras del género <i>Candida</i>	<i>Candida albicans</i>
IG-02	Raspado lesión de piel	Macroconidias pigmentadas	<i>Curvularia</i> spp.
IG-04	Raspado lesión de piel	Hifas septadas fuliginoso	<i>Cladosporium</i> spp.
PE-18	Biopsia lesión de piel (Anexo 6)	Hifas septadas hialinas y macroconidia compatible con <i>Fusarium</i> spp	<i>Fusarium</i> spp.
	Biopsia de lengua	Levaduras del género <i>Candida</i> spp	<i>Fusarium</i> spp. y levaduras
CA-01	Biopsia de pulmón (Anexo 7)	Hongo hialino artrosporado	Hongo hialino

Entre los 52 (44,4%) animales que no presentaban lesiones o enfermedad aparente, se visualizaron estructuras fúngicas en 44 (84,6%) de ellos por medio de examen directo (29,5%) y cultivo (70,4%) de diversas muestras. De estos animales, en 6 (11,5%) se observaron concordancias entre los resultados positivos de examen directo y cultivo, tales como hifas septadas en examen directo y aislamiento de un hongo septado en el cultivo (cuadro 12).

Cuadro 12. Animales asintomáticos con resultados micológicos positivos

ID Lab	Tipo de Muestra	Examen directo	Cultivo
PE-08	Hisopado oído izquierdo	Levaduras	Levaduras
TO-07	Hisopado de cloaca	Levaduras	<i>Trichosporon</i> spp
	Biopsia folículo	Levaduras	Levaduras y <i>Trichosporon</i> spp
PI-01	Hisopado de oído derecho	<i>Malassezia pachydermatis</i>	<i>Malassezia pachydermatis</i>
	Hisopado de oído izquierdo	<i>Malassezia pachydermatis</i>	<i>Malassezia pachydermatis</i>
AVE-06	Hisopado de cloaca	Hifa septada	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Penicillium</i> spp, <i>Cladosporium</i> spp
AVE-07	Hisopado de cloaca	Hifa septada	<i>Penicillium</i> spp
AVE-08	Hisopado de cloaca	Hifa septada	<i>Penicillium</i> spp

Solamente en 5 animales (PI-01, AVE-12, IG-01, PE-19 y TO-14) no hubo consistencia entre las estructuras observadas al microscopio y el hongo aislado (anexo 8).

3.1.5. Otros hallazgos microbiológicos en los animales muestreados

Otros hallazgos corresponden a estructuras compatibles con algas en el caparazón de tortugas (anexo 9), el ácaro *Lobalges trouessarti* (anexo 10) encontrado en las muestras de lesión de piel de dos perezosos de tres dedos (*Bradypus variegatus*) de vida libre y dos garrapatas *Amblyoma* spp recolectadas de la piel de una iguana verde (*Iguana iguana*) cautiva. Los parásitos fueron identificados por la Dra. Jackeline de Oliveira del Laboratorio de Parasitología EMV-UNA.

3.2. Tortugas

Se muestrearon 40 tortugas de cautiverio distribuidas en 7 especies terrestres y 1 marina. Los quelonios terrestres pertenecían a las especies: *Trachemys scripta Venusta* (cachetes amarillos), *Trachemys scripta Elegant* (cachetes rojos), *Rhinoclemmys pulcherrima* (roja), *Rhinoclemmys funerea* (negra), *Kinosternon scorpiodes* (candado), *Cyclemys dentata* (hoja) y *Geochelone sulcata* (tortuga de espolones), mientras que la especie marina muestreada fue *Lpydochelys kempfi* (lora) (anexo 11). Los animales provenían en su mayoría del Parque Marino de Puntarenas (82%), pero también de Heredia, Alajuela y San José; no estaba determinado el sexo en 77% de los quelonios, ni la madurez sexual en 65%. Dentro de los principales hallazgos clínicos figuraban las lesiones de plastron (45%) y caparazón (20%).

Se tomaron 94 muestras (anexo 12), de las cuales 11,7% resultaron positivas por hongos (principalmente filamentosos) en el examen directo, principalmente en las muestras de caparazón y otros órganos (cuadro 13).

Cuadro 13. Porcentaje de exámenes directos positivos en muestras de tortugas

Área anatómica muestreada	Positivo / Total (%)
Caparazón (sano y lesión)	5/37 (13,51)
Plastron (lesión)	0/18 (0)
Cloaca	1/19 (5,2)
Otro*	5/20 (25)
TOTAL	11/ 94 (11,7)

* Huevo, material de estomatitis, vejiga y tráquea, absceso ocular, biopsias de hígado, riñón, pulmón, folículo, intestino, aspirado de líquido en cavidad celómica.

Se realizaron 156 cultivos de diversas muestras en los cuales se observó mayor crecimiento fúngico en el medio SDA con respecto al medio Myc. En las muestras de cloaca y “otras” fueron en las que se obtuvieron más aislamientos (cuadro 14). Los hongos *Aspergillus* spp, *Fusarium* spp, hongos hialinos compatibles con CANV (anexo 13) y pigmentados, fueron los principales agentes que se aislaron de estos animales.

Cuadro 14. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en tortugas

Tipo de muestra	SDA	Myc
	Positivos / Total (%)	Positivos / Total (%)
Cloaca	19 / 19 (100)	No realizado
Caparazón	34 / 38 (89,5)	20 / 31 (64,5)
Plastron	14 / 19 (73,7)	9 / 19 (47,4)
Otras*	15 / 20 (75)	8 / 10 (80)
TOTAL	82 / 96 (85,4)	37 / 60 (61,6)

* Huevo, material de estomatitis, vejiga y tráquea, absceso ocular, biopsias de hígado, riñón, pulmón, folículo, intestino, aspirado de líquido en cavidad celómica.

Se aislaron 168 agentes micóticos a partir de 156 cultivos, 77 cultivos fueron de muestras de lesiones, de los cuales 53 fueron positivos a hongos. De las muestras de lesiones en el caparazón todas resultaron positivas a agentes micóticos (cuadro 15).

Cuadro 15. Porcentaje de hongos aislados a partir de muestras de lesiones superficiales y de órganos internos de tortugas

Área anatómica	Positivos / Total (%)
Caparazón	9 / 9 (100)
Plastron	28 / 38 (73,7)
Piel	3 / 5 (60)
Otro*	13 / 25 (52)
TOTAL	53 / 77 (68,8)

* Material de estomatitis, vejiga, tráquea, absceso ocular, biopsias de hígado, riñón, pulmón, aspirado de líquido cavidad celómica.

De 154 cultivos, 11,7% de los resultados fueron positivos tanto en los exámenes directos como en los cultivos y 22,7% fueron negativos en ambas pruebas (cuadro 16).

Cuadro 16. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de tortugas

Examen directo	Cultivos	
	+	-
	n/Total (%)	n/Total (%)
+	18 / 154 (11,7)	0 / 154 (0)
-	101 / 154 (65,6)	35 / 154 (22,7)

3.3. Perezosos

Se muestrearon un total de 19 perezosos (anexo 14), 58% *Bradypus variegatus* (tres dedos) y 42% *Choloepus hoffmanni* (dos dedos), en su mayoría de vida libre (84%), adultos (89%), hembras (69%), sin lesiones o enfermedad aparente (63,1%), provenientes de Alajuela (84%) y Puntarenas.

Se tomaron 70 muestras (anexo 15), de las cuales resultaron positivas por hongos (filamentosos y levaduriformes) el 89,4% mediante el examen directo o cultivo. Se realizaron 54 exámenes directos y 73 cultivos. Con respecto a los exámenes directos, en 27,7% se lograron visualizar hongos, principalmente de las muestras de hisopados de oídos (37,5%), seguido de piel y mucosa oral (cuadro 17).

Cuadro 17. Porcentaje de exámenes directos positivos en muestras de perezosos

Área muestreada	Positivos / Total (%)
Hisopado de oídos	12 / 32 (37,5)
Hisopado de boca	2 / 16 (12,5)
Raspado de piel	1 / 6 (16,6)
TOTAL	15 / 54 (27,7)

Los resultados positivos en el medio SDA fueron el 17,6% y en el medio Myc 72,7%, siendo el raspado de piel y la moqueta las muestras en las que más se aislaron hongos respectivamente (cuadro 18). *Penicillium* spp y hongos hialinos fueron los más comúnmente aislados en muestras de perezosos.

Cuadro 18. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en perezosos

Tipo de muestra	SDA	Myc
	Positivos / Total (%)	Positivos / Total (%)
Raspado de piel	2 / 3 (66,6)	1 / 6 (16,6)
Moqueta	No realizado	15 / 16 (93,7)
Hisopado de oídos	5 / 32 (15,6)	No realizado
Hisopado de boca	2 / 16 (12,5)	No realizado
TOTAL	9 / 51 (17,6)	16 / 22 (72,7)

Con respecto a las muestras de lesiones de piel, *Penicillium* spp se aisló de 2 muestras, mientras que en una ocasión se pudo observar un crecimiento positivo de *Fusarium* spp.

Hubo una concordancia del 7% en los cultivos y exámenes directos positivos y del 61,4% en los resultados negativos de ambas pruebas. En un 10,5% de los cultivos se detectaron agentes micóticos que no fueron vistos en el examen directo y en un 21,1% se visualizaron estructuras fúngicas en el examen directo que no crecieron en el cultivo (cuadro 19).

Cuadro 19. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de perezosos

Examen directo	Cultivos	
	+	-
	n/Total (%)	n/Total (%)
+	4 / 57 (7,0)	12 / 57 (21,1)
-	6 / 57 (10,5)	35 / 57 (61,4)

3.4. Serpientes

Se muestrearon un total de 14 serpientes adultas (anexo 16) de las especies *Atropoides mexicanus* (mano de piedra), *Bothrops asper* (terciopelo), *Crotalus durissus* (cascabel), *Boa constrictor* (boa) y *Python molurus Bivittatus* (pitón), en su gran mayoría de cautiverio (93%), machos (57%), provenientes de San José (64%), Heredia y Alajuela; cuyo principal hallazgo clínico fueron las lesiones de piel (35,7%).

Un total de 35 muestras fueron tomadas (anexo 17), de éstas, en el 78,5% se logró observar estructuras fúngicas por medio de examen directo y/o cultivo; 33 exámenes directos y 63 cultivos fueron realizados. De los exámenes directos practicados, se observaron hifas en 3 de las 33 muestras (9%) (hisopado de foseta loreal, boca y cloaca), las mismas fueron procesadas con azul de metileno.

Con respecto a los aislamientos, un 36,6% correspondieron al medio SDA, mientras que 36,3% al medio Myc; las muestras de raspado de escamas fueron de las que más se aislaron hongos en los dos medios utilizados (cuadro 20). *Cladosporium* spp y *Penicillium* spp fueron los dos agentes micóticos que se encontraron con mayor frecuencia. *Verticillium* spp se aisló en 3 cultivos puros (anexo 18).

Cuadro 20. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en serpientes

Tipo de muestra	SDA	Myc
	Positivos / Total (%)	Positivos / Total (%)
Raspado de escamas	6 / 9 (66,6)	5 / 9 (55,5)
Hisopado foseta loreal	1 / 2 (50)	1 / 3 (33,3)
Hisopado de boca	1 / 5 (20)	2 / 6 (33,3)
Hisopado de cloaca	0 / 3 (0)	1 / 3 (33,3)
Otra*	3 / 11 (27,3)	3 / 12 (25)
TOTAL	11 / 30 (36,6)	12 / 33 (36,3)

* Biopsias de intestino, pulmón, páncreas, hígado, testículo, riñón

De las 16 muestras con lesión, (78,5%) de los hongos fueron aislados de las escamas y 21,4% de la foseta loreal.

De 63 muestras con examen directo y cultivo resultaron negativas en ambas pruebas el 52,4%, 38,1% de los cultivos detectaron hongos que no se visualizaron en examen directo, mientras que en un 9,5% de los exámenes directos se observaron filamentos o levaduras que no crecieron en el cultivo (cuadro 21).

Cuadro 21. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de serpientes

Examen directo	Cultivos	
	+	-
	n/Total (%)	n/Total (%)
+	0 / 63 (0)	6 / 63 (9,5)
-	24 / 63 (38,1)	33 / 63 (52,4)

3.5. Monos

Se muestrearon 12 monos (anexo 19): cinco *Alouatta palliata* (congo), dos *Ateles geoffroyi* (araña), tres *Cebus capuchinus* (carablanca), un *Saimiri oersterdii* (tití) y un *Callitrix jacchus* (marmoseta), en su mayoría hembras (58%), adultos (67%), de cautiverio (58%), provenientes de Puntarenas, Alajuela y Heredia. Los principales hallazgos clínicos o de la historia eran baja condición corporal, lesiones de piel y diarrea.

Se recolectaron 24 muestras (anexo 20), de las cuales a un 66,6 % se les practicó examen directo y se realizaron 22 cultivos. Por medio de estos exámenes se pudieron visualizar agentes micóticos en el 83,3% de los animales muestreados.

Un total de 12 exámenes directos fueron realizados con AM y en ninguno de ellos se observaron estructuras fúngicas; de los 4 exámenes realizados con KOH, el 75% resultaron positivos (raspado de piel, biopsia de esófago y lengua).

Por otro lado, todos los cultivos realizados en SDA (n=5) resultaron positivos por hongos y el 52,9% de los cultivados en Myc también mostraron crecimiento fúngico; los aislamientos obtenidos en su mayoría lo fueron de las muestras de moqueta (cuadro 22). Hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, fueron los que se encontraron en la mayoría de las muestras de monos.

Cuadro 22. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en monos

Tipo de muestra	SDA	Myc
	Positivos /Total (%)	Positivos /Total (%)
Hisopado de oídos	2 / 2 (100)	1 / 6 (16,6)
Hisopado de boca	1 / 1 (100)	0 / 2 (0)
Moqueta	No realizado	7 / 7 (100)
Raspado de piel	No realizado	0 / 1 (0)
Otro*	2 / 2 (100)	1 / 1 (100)
TOTAL	5 / 5 (100)	9 / 17 (52,9)

* Biopsia de lengua, esófago y falange 4 del miembro anterior derecho

Con respecto a los aislamientos de lesiones, se obtuvo *Candida albicans* de una biopsia de lengua y de un hisopado de esófago de MO-01 y además un *Penicillium* spp. de una biopsia de falange de MO-05.

El porcentaje de coincidencia de los exámenes directos con respecto a los cultivos fue de un 14,3% en resultados positivos y un 50% coincidían en que ambos eran negativos (cuadro 23).

Cuadro 23. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de monos

Examen directo	Cultivos	
	+	-
	n/Total (%)	n/Total (%)
+	2 / 14 (14,3)	0 / 14 (0)
-	5 / 14 (35,7)	7 / 14 (50)

3.6. Aves

Un total de 12 aves adultas fueron incluidas en este estudio (anexo 21), de las cuales 92% eran de cautiverio, 17% eran machos, 8% hembras y 75% no habían sido sexadas. Las especies con las que se trabajó fueron *Amazona auropalliata* (copete amarillo), *Amazona autumnalis* (copete rojo), *Amazona farinosa* (copete negro), *Bubo virginianus* (lechuza), *Ara macao* (lapa roja) y *Ara ambigua* (lapa verde), provenientes la mitad de Alajuela y el resto de Puntarenas y San José. El hallazgo clínico más común fueron signos respiratorios (33,3%).

Se tomaron 34 muestras (anexo 22) a las cuales se les realizaron 26 exámenes directos y 36 cultivos, de esta manera se logró aislar o visualizar hongos en el examen directo en el 75% de las aves.

Con respecto a los exámenes directos con AM el 26,1% resultaron positivos y 33,3% de los exámenes procesados con el medio KOH dieron positivos. En el 50% de las muestras de lavados de sacos aéreos se encontraron estructuras fúngicas y 42,8% de otras muestras resultaron positivas por hongos (cuadro 24).

Cuadro 24. Porcentaje de exámenes directos positivos en muestras de aves

Tipo de muestra	Positivos / Total (%)
Lavado sacos aéreos	1 / 2 (50)
Otro*	3 / 7 (42,8)
Hisopado de cloaca	3 / 8 (37,5)
Hisopado de boca	0 / 9 (0)
TOTAL	7 / 26 (26,9)

* Aspirado de buche, hisopados de esófago, cavidad torácica, biopsias de hígado, pulmón y riñón

Con respecto a los aislamientos, la mayoría crecieron en las muestras de moqueta e hisopado de cloaca con un 87,5% en ambas muestras. En la mitad de los cultivos realizados con SDA se observó crecimiento fúngico, esta cifra fue superada por el Agar Myc donde se obtuvieron aislamientos en el 70% de los cultivos (cuadro 25). *Penicillium* spp y levaduras fueron los grupos de hongos que con mayor frecuencia se aislaron de muestras de aves.

Cuadro 25. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en aves

Tipo de muestra	SDA	Myc
	Positivos /Total (%)	Positivos /Total (%)
Lavado sacos aéreos	0 / 2 (0)	0 / 2 (0)
Hisopado de boca	1 / 9 (11,1)	No realizado
Hisopado de cloaca	7 / 8 (87,5)	No realizado
Moqueta	No realizado	7 / 8 (87,5)
Otro*	5 / 7 (71,4)	No realizado
TOTAL	13 / 26 (50)	7 / 10 (70)

* Aspirado de buche, hisopados de esófago, cavidad torácica, biopsias de hígado, pulmón y riñón

Se obtuvieron levaduras no identificadas de las muestras de pulmón, hígado y riñón con alteraciones del ave 12.

Se registró un total de 14,3% de concordancia entre los exámenes directos y cultivos positivos, mientras que un 42,8% de ambos resultados negativos (cuadro 26).

Cuadro 26. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de aves

	Examen directo		Cultivos	
	+	-	+	-
	n/Total (%)		n/Total (%)	
+	4 / 28 (14,3)	3 / 28 (10,7)		
-	9 / 28 (32,1)	12 / 28 (42,8)		

3.7. Iguanas

A 8 iguanas verdes (*Iguana iguana*) de cautiverio se les tomó muestras para estudio micológico (anexo 23), 3 hembras, 3 machos y 2 no sexadas, 75% eran adultas, 75% provenían de Alajuela y el 25% restante de Heredia; las lesiones en piel fueron los principales hallazgos clínicos (62,5%).

Un total de 11 muestras fueron tomadas a estos animales (anexo 24), a las que se les realizaron 9 exámenes directos y 17 cultivos, el 87,5% de las iguanas resultaron positivas por 1 o más estructuras fúngicas en el examen directo y/o cultivo.

De los exámenes directos, 1 hisopado de boca (33,3%) fue positivo y 4 raspados de piel (66,6%) también lo fueron.

Los cultivos mostraron crecimiento fúngico en 5 (55,5%) en el medio SDA y en 3 (37,5%) de los realizados en Myc. Las muestras de hisopado de boca y cloaca y raspados de piel fueron en las que más se aislaron hongos (cuadro 27). Los zigomicetes fueron los hongos que se aislaron en la mayoría de las muestras de iguanas.

Cuadro 27. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en iguanas

Tipo de muestra	SDA	Myc
	Positivos /Total (%)	Positivos /Total (%)
Raspado de piel	5 / 6 (83,3)	1 / 6 (16,6)
Hisopado de boca	0 / 2 (0)	1 / 1 (100)
Hisopado de cloaca	0 / 1 (0)	1 / 1 (100)
TOTAL	5 / 9 (55,5)	3 / 8 (37,5)

Los resultados positivos y negativos en los exámenes directos y cultivos, concordaron el 17,6% de las veces (cuadro 28).

Cuadro 28. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de iguanas

Examen directo	Cultivo	
	+	-
	n/Total (%)	n/Total (%)
+	3 / 17 (17,6)	6 / 17 (35,4)
-	5 / 17 (29,4)	3 / 17 (17,6)

De las muestras de lesión de piel y escamas se encontraron Zigomicetes en 4 cultivos, y un aislamiento de cada uno de los siguientes géneros: *Curvularia*, *Geotrichum*, *Cladosporium* y un hongo pigmentado cuya identificación no fue determinada.

3.8. Otros

Debido a la escasa cantidad de muestras individuales de otros animales silvestres, estos fueron analizados como un grupo para mayor facilidad (anexo 25). De esta manera, se tomaron en cuenta para este estudio 12 animales distribuidos en: 11 machos (92%), 10 adultos (83%), 10 animales de vida libre (83%), provenientes de Heredia, Puntarenas y San José. Las especies con las que se trabajó fueron: *Nasua narica* (pizote), *Procyon lotor* (mapache), *Urocyon cinereoargenteus* (zorro plateado), *Didelphis marsupialis* (zarigüeya), *Leopardus pardalis* (manigordo), *Leopardus wiedii* (causel), *Stenella coeruleoalba* (delfín rayado), *Stenella attenuata* (delfín manchado), *Caiman crocodilus* (caimán) y *Scirius variegatoides* (ardilla). 41,6% de los animales muestreados estaban muertos.

Se procesaron 55 muestras (anexo 26) a las que se les practicó examen directo (n=52) y se realizaron 61 cultivos, 66,6% de los animales muestreados resultaron positivos por estructuras fúngicas ya sea en el examen directo y/o cultivo.

De los exámenes directos realizados con AM (hisopados de boca y oídos principalmente), 16,6% resultaron positivos y 4,5% de las muestras analizadas con el reactivo KOH (raspados de piel en su mayoría) resultaron positivas (cuadro 29).

Cuadro 29. Porcentaje de exámenes directos positivos en muestras de otros animales silvestres

Tipo de muestra	Positivos / Total (%)
Hisopado de boca	2 / 9 (22,2)
Hisopado de oídos	3 / 16 (18,7)
Raspado de piel	1 / 6 (16,6)
Otro*	0 / 21 (0)
TOTAL	6 / 52 (11,5)

* Raspado lesión bucal, biopsias de pulmón, cerebro, esófago, hisopado de espiráculo y ano.

Con respecto a los cultivos, de los realizados en Agar Sabouraud, 16 (43,2%) mostraron crecimiento fúngico y 17 (70,8%) de los realizados en Agar Mycosel también fueron positivos. La mayoría (n=11) provenía de otros órganos, seguido de las muestras de piel (n=7) (cuadro 30). *Candida* spp, *Aspergillus* spp y hongos hialinos, fueron los agentes más frecuentemente aislados de otros animales silvestres.

Se logró aislar hongos a partir de todas muestras de lesiones de piel (n=6) y boca (n=2).

Cuadro 30. Porcentajes de aislamientos en SDA y Myc según área anatómica muestreada en otros animales silvestres

Tipo de muestra	SDA	Myc
	Positivos /Total (%)	Positivos /Total (%)
Hisopado de oídos	4 / 10 (40)	6 / 6 (100)
Hisopado de boca	4 / 7 (57,1)	1 / 2 (50)
Moqueta	No realizado	2 / 3 (66,6)
Raspado de piel	1 / 1 (100)	5 / 6 (83,3)
Otro*	7 / 19 (36,8)	3 / 7 (42,9)
TOTAL	16 / 37 (43,2)	17 / 24 (70,8)

*Raspado lesión bucal, biopsias de pulmón, cerebro, esófago, hisopado de espiráculo y ano.

Comparando los resultados de los exámenes directos y sus cultivos respectivos, se puede apreciar que en el 12% de los casos, ambos fueron positivos y en el 87,9% ambos fueron negativos (cuadro 31).

Cuadro 31. Comparación de los resultados de exámenes directos y cultivos de las muestras de otros animales silvestres

Examen directo	Cultivos	
	+	-
	n/Total (%)	n/Total (%)
+	3 / 58 (5,2)	4 / 58 (6,9)
-	22 / 58 (37,9)	29 / 58 (50)

4. DISCUSION

Los animales silvestres juegan un papel importante en la transmisión de enfermedades hacia otros animales (silvestres y domésticos) y al ser humano. Conocer las infecciones que se presentan en ellos es de gran importancia para tomar medidas de prevención, control, diagnóstico y tratamiento (Hubálek, 2004). Las investigaciones de laboratorio contribuyen de gran manera para establecer ese diagnóstico y tratamiento adecuado en animales enfermos, conocer el estatus de salud previo a la liberación o introducción de un espécimen y postmortem ayudan a dilucidar si la causa de muerte se debió a una etiología infecciosa (Mullineaux et al., 2003).

Los hongos, con frecuencia no se relacionan con altas morbilidades o mortalidades, sin embargo, los hallazgos individuales contribuyen a crear un panorama epidemiológico de estas infecciones. La toma de muestras en animales aparentemente sanos también es importante pues, según Tristán “son la piedra angular de la medicina preventiva y la detección temprana de enfermedades subclínicas” (Tristán, 2008).

En este estudio, se demostró la presencia de hongos en muestras clínicas por medio de los exámenes directos y cultivos, sin embargo, los segundos mostraron ser la mejor técnica para detectar agentes micóticos. Con respecto al medio de cultivo, en Agar Mycosel se obtuvieron más aislamientos fúngicos que en Agar Sabouraud, sin embargo, la mayoría de los cultivos positivos en Agar Mycosel fueron aislamientos de las muestras de barridos de pelaje (zonas en contacto continuo con esporas fúngicas), los cuales no fueron cultivados en Sabouraud. En las muestras en las que se realizó cultivo simultáneo con los dos medios, se observaron menos aislamientos con el Agar Mycosel, lo que es esperable pues, al ser un medio

selectivo inhibe el crecimiento bacteriano y de algunos hongos (Quinn et al., 1999; Cork y Halliwell, 2002).

Al carecer este trabajo de relevancia estadística, no se realizan distribuciones por sexo, grado de madurez sexual, condición de vida libre o cautiverio y provincia de procedencia. Sin embargo, la mayor cantidad de muestras de tortugas y perezosos se debió a que se realizaron giras programadas de los proyectos “Prevalencia y prevención de enfermedades en animales silvestres de vida libre y cautiverio” (HEMS) y “Diagnóstico de agentes micóticos en animales domésticos y de vida silvestre” (LM) a lugares donde se mantenían estos animales. Además, la manipulación más sencilla de estos animales permitió la obtención de un mayor número de muestras comparado con otros animales. Un mayor número de animales de Puntarenas y Alajuela se produjo porque la mayoría fueron buscados activamente en zoológicos, parques o centros de investigación donde se permitió ingresar y realizar las pruebas. A los perezosos de vida libre no les fue realizado examen físico debido a que las muestras se tomaron en giras programadas de un proyecto interdisciplinario para el cuál se necesitaba recolectar muestras para varios fines en el menor tiempo posible. Todos los hongos aislados e identificados de las muestras de animales muestreados tanto sanos como con lesiones, han sido reportados como causantes de infecciones micóticas varias en humanos y animales (Rodríguez, 1998; Hirsh y Chung-Zee, 1999; Quinn et al., 1999; Arenas, 2003; Burek, 2001; Larone, 2002; Scott et al., 2002; Songer y Post, 2005; Mader, 2006; Jacobson, 2007). Conocer cuáles de estos agentes pueden ser contagiosos es de importancia en salud pública, pues estos animales podrían ser fuente de infección de potenciales patógenos para los humanos y fauna doméstica o silvestre (Lewis et al., 1975; Mancianti et al., 1997; Hubálek, 2004; Araújo-Xavier et al., 2008).

Los aislamientos fúngicos en animales sin lesión, pero con examen directo y cultivo positivo pueden ser tomados en consideración como comensales, los cuales, permanecen en las superficies de los animales pero no necesariamente causando patología. Esto debido a que no hubo evidencia de signos clínicos asociados a infección como secreciones, eritema, dolor o mal olor en los oídos (Cafarchia et al., 2005) y cloacas (Harrison y Lightfoot, 2006a) o anomalías en la morfología del folículo (McArthur et al., 2004). Según Scott y colaboradores (2002), “un hongo aislado de un sitio estéril en condiciones normales, como una biopsia, se debe considerar más patógeno que si el mismo hongo se aislara de una superficie cutánea, dónde podría ser un contaminante transportado por el aire” (Scott et al., 2002). Esto concuerda con los aislamientos en estos animales, de los cuales se obtuvo hongos considerados como saprófitos (Larone, 2002) y residentes de mucosas y superficies de estos animales (Cafarchia et al., 2005; Harrison y Lightfoot, 2006a; Jacobson, 2007).

En 5 muestras de distintos animales con y sin lesión, se observaron estructuras fúngicas en el examen directo, sin embargo, se obtuvo un crecimiento de diferente morfología en el cultivo. Esto puede deberse a que se confundieran artefactos como mosaicos fúngicos o tricofíticos, pliegues de las escamas y fibras que simulan filamentos fúngicos o depósitos de grasa que semejan levaduras (Arenas, 2003). También porque la carga de levaduras o los filamentos no eran suficientes para crecer en cultivo, mientras que los hongos patógenos se ven escasos en el directo y crecen bien en el cultivo pero los oportunistas son muy abundantes en el directo (Arenas, 2003), y esas estructuras podían ser hongos saprófitos presentes de manera transitoria (Arenas, 2003). El crecimiento de unos hongos puede ser inhibido por otros hongos ambientales o contaminado por los mismos (Scott et al., 2002; Arenas, 2003).

Los hallazgos de agentes micóticos en muestras de reptiles tanto sanos como con lesiones de este estudio, concuerdan con aislamientos de animales aparentemente sanos realizados en otros países, de esta manera, la literatura reporta a *Penicillium* spp. y *Aspergillus* spp. como los hongos más frecuentemente aislados en el sistema tegumentario, además *Paecilomyces lilacinus*, Zigomicetes, *Cladosporium* spp. y *Fusarium* spp. (Mader, 2006; Jacobson, 2007). *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Candida*, *Geotrichum*, *Rhizopus*, *Trichosporon*, *Paecilomyces*, *Cladosporium* y *Rhodotorula*, son otros aislamientos que concuerdan con lo encontrado en el presente trabajo, realizados en distintos órganos y sistemas (sistema respiratorio, intestinos, piel, tejidos subcutáneos y otras vísceras, cavidad oral, cloaca y heces) de reptiles sanos (McArthur et al., 2004; Mader, 2006; Jacobson, 2007).

En varias muestras de reptiles, se observaron consistencias entre los hallazgos del examen directo con los aislamientos obtenidos en los cultivos. De esta forma, al analizar los resultados de las muestras de raspados de lesiones de piel de una iguana y caparazón de una tortuga, se observaron macroconidias pigmentadas e hifas fuliginosas septadas respectivamente y en ambos cultivos aislamientos puros de *Curvularia* spp.; a pesar de que estas estructuras son compatibles entre sí, no se puede atribuir la etiología a este agente sin antes realizar un estudio histopatológico que demuestre el compromiso tisular (Pérez y Carrasco, 2000; Jacobson, 2007). Lo anterior se debe a que: 1) las macroconidias pigmentadas se han descrito como hallazgos comunes de los exámenes directos de personas sin que signifique causa de infección (Arenas, 2003), entonces, al ser este hongo un reconocido contaminante ambiental (Larone, 2003), puede ser encontrado en mayor cantidad en reptiles por estar en contacto continuo con materia orgánica (Jacobson, 2007). 2) La forma parasitaria descrita en lesiones de reptiles infectados con *Curvularia* spp. corresponde a gran cantidad de

hifas septadas fuliginosas, tal es el caso de queratitis micótica en una tortuga (Myers et al., 2009) y varias lesiones dérmicas con estomatitis en cocodrilos (Jacobson et al., 2000) donde se visualizaron estas estructuras en cortes histológicos de las lesiones.

Cladosporium spp. se aisló de una muestra de lesión de piel de una iguana, en la que se evidenciaron hifas septadas fuliginosas en el examen directo; sin embargo, la demostración del agente en el tejido (mediante histopatología) es necesaria para realizar el diagnóstico de micosis superficial, pues este hongo aunque ha sido aislado de reptiles sanos (Jacobson, 2007) y está ampliamente distribuido en el ambiente (Larone, 2002), también se sabe que ha causado dermatitis fúngica en una tortuga rusa y en gekos de cautiverio en Nueva Zelanda con lesiones pigmentadas multifocales (Mader, 2006).

El caso costarricense donde se aisló *Fusarium* spp. de una lesión hialina tipo descamativa en el caparazón de una tortuga, es altamente sugestivo de la enfermedad necrotizante de las escamas, descrita en tortugas de Texas de vida libre, en el cuál se determinó a *Fusarium incarnatum* (antes *F. semitectum*) como patógeno primario (Rose et al., 2001), sin embargo, para demostrarlo se deben realizar aislamientos seriados, identificar la especie implicada y demostrar el cumplimiento de los principios de Koch (Mader, 2006).

Sobre el caso de un aislamiento de un hongo hialino a partir de un pulmón de caimán que murió súbitamente y cuya causa de muerte fue neumonía micótica, se debe considerar que: 1) los síntomas en los reptiles son muy sutiles o aparecen solo cuando el animal esta severamente enfermo y por lo tanto, las enfermedades pueden pasar desapercibidas por los propietarios o personas que los cuidan. Algunas condiciones crónicas pueden aparentar muerte súbita, como septicemia, desnutrición, fallo renal, neoplasias u obstrucciones intestinales pueden aparentar muerte súbita (Mader, 2006). 2) La eficacia del sistema inmune de los

reptiles está influenciada por la combinación de factores que incluyen la salud y el estado nutricional, temperatura ambiental, hibernación, cambios de estación, edad y estrés. Esto concuerda con los casos individuales o grupales de micosis descritos en la literatura, en los cuales, siempre figuran estos problemas como factores predisponentes a la aparición de infecciones micóticas (Mader, 2006). 3) El deceso de este animal, no se pudo vincular con ningún factor ambiental, nutricional o de manejo pues tenía varios años de vivir cautivo con otros caimanes y fue el único individuo que murió. 4) Las neumonías en reptiles son de carácter infeccioso (virales, bacterianas, fúngicas, parasitarias o por micoplasma) (Mader, 2006). 5) En la histopatología del parénquima pulmonar se evidenciaron hifas septadas hialinas y además el padecimiento de gota. 6) Aislamiento puro de dos colonias de un hongo hialino en el reverso y verde pulverulento en el anverso, el cual a pesar de realizarse cultivo en lámina no pudo ser identificado. Por estas razones, este agente debe ser sometido a identificación de género y especie en un laboratorio familiarizado con muestras de reptiles y posteriormente demostrar los postulados de Koch para corroborar que se trate de un patógeno primario (Mader., 2006).

Otros hallazgos de interés fueron los aislamientos de *Fusarium* spp., *Geotrichum* spp., *Paecilomyces lilacinus* y *Verticillium* spp. a partir de raspados de lesiones en piel y órganos de tortugas y una serpiente, pues *Fusarium* spp. y *Paecilomyces lilacinus* han sido involucrados con dermatitis y neumonía fúngica en varios reptiles (Cabañes et al., 1997; Cheatwood et al., 2003; Mader, 2006; Jacobson., 2007), *Geotrichum* spp. fue aislado a partir de muestras de dermatitis en iguanas verdes y serpientes (Mckenzie y Green, 1976; Jacobson et al., 2000; Cheatwood et al., 2003; Jacobson, 2007) y *Verticillium* spp. de lesiones dérmicas en una anaconda (Miller et al., 2004). En los casos estudiados en esta investigación, hubo

concordancia con los exámenes directos (hifas hialinas septadas) y además, existen reportes de patologías asociadas con estos agentes, sin embargo, al ser microorganismos saprófitos (Larone, 2002) y parte de la flora normal (excepto *Verticillium* spp.) de los reptiles (Jacobson, 2007), debe tenerse cautela en la atribución de patología en los casos presentados.

Las alteraciones y lesiones en caparazón, presentadas por las tortugas muestreadas pudieron haber sucedido por las siguientes causas: 1) la excesiva muda de las escamas ha sido relacionada con: problemas nutricionales (hipovitaminosis A), infecciones (dentro de ellas por agentes fúngicos), quemaduras tanto por calor como por frío, fallas en el manejo e higiene y miasis (McArthur et al., 2004; Mader, 2006). En tortugas acuáticas, es común que se desprendan “hojuelas” de escamas mientras su caparazón se seca cuando permanecen fuera del agua y que se desprendan grandes porciones es algo normal del crecimiento (Mader, 2006). 2) La condición de ablandamiento del caparazón está relacionada con factores nutricionales y metabólicos, hiperparatiroidismo secundario, crecimiento acelerado o excesivo, trauma calórico e infecciones locales (Girling y Raiti, 2004; McArthur et al., 2004; Mader, 2006). Sin embargo esta condición es normal en animales jóvenes (primer año de vida) y en algunas especies aún cuando son adultas (Mader, 2006). 3) Despigmentación de la piel, caparazón o plastron puede ser un signo de septicemia, trauma o exceso de aplicación de aceites (McArthur et al., 2004). 4) La presencia de áreas blancas, puede deberse a condiciones fisiológicas (en juveniles que crecen muy rápido se pueden observar estas áreas blancas entre las escamas), a la cicatrización de lesiones, depósitos minerales o infección en curso (enfermedad necrotizante de las escamas) (Mader, 2006).

Las lesiones de plastron presentadas en los quelonios estudiados pueden ser causadas por septicemia, traumas térmicos, problemas de manejo e infecciones necrotizantes (McArthur et al., 2004).

Las causas más comunes de lesiones de piel en reptiles corresponden a problemas nutricionales, obesidad, infecciones (bacterianas, fúngicas o virales), traumas, ectoparásitos, quemaduras (térmicas o químicas), problemas de manejo y problemas metabólicos (Girling y Raiti, 2004; McArthur et al., 2004). Las dermatitis fúngicas son las micosis más comunes en serpientes y la presentación clínica más común corresponde a lesiones en las escamas ventrales las cuales se observan arrugadas, levantadas y descoloridas (Heard et al., 2002).

En el caso de las tortugas semiacuáticas muestreadas, el estanque donde permanecen pudo haber influido en que se aislaran tantas especies de hongos, pues según Johnson (2004) “mantener un estanque limpio es difícil, debido que en ocasiones los animales no ingieren la totalidad de los alimentos y estos restos funcionan como materia orgánica que contribuye a la proliferación de organismos y así disminuye la calidad del agua” (Johnson, 2004).

En una tortuga candado cuya necropsia evidenció hipovitaminosis A, deterioro generalizado de los órganos, absceso ocular y acumulación de material caseoso en boca, cavidad celómica y vejiga, se encontraron estructuras fúngicas en el examen directo y cultivo en varios de estos órganos y mucosas afectadas. Sin embargo, en el estudio histopatológico no se visualizaron hifas o levaduras, sino una severa necrosis y cúmulos de material amorfo, que no corrobora ni descarta el compromiso fúngico hasta no ser sometido a tinciones especiales. La literatura menciona que la hipovitaminosis A es un padecimiento relativamente común en quelonios herbívoros cuya suplementación es deficiente o luego de la estivación y/o hibernación. Además, por ser esta vitamina la responsable de dar mantenimiento a los

epitelios, los signos clínicos de la deficiencia están asociados con blefaritis, conjuntivitis, rinitis, infecciones del tracto respiratorio bajo y anormalidades cutáneas. Estas condiciones pueden predisponer a la colonización de agentes oportunistas de origen bacteriano o fúngico (McArthur et al., 2004; Mader, 2006). Por otro lado, las infecciones oculares son comunes en tortugas y lagartos (Girling y Raiti, 2004). Existen varias causas, sin embargo, las bacterianas, fúngicas, virales, micoplasmosis y clamidiasis, deficiencia de vitamina A y daño corneal son las más comunes (Girling y Raiti, 2004; McArthur et al., 2004; Mader, 2006).

Con respecto a los casos de estomatitis en tortugas y serpientes, primero se presentan hemorragias petequiales, luego edema e hiperemia y luego se pueden desarrollar ulceraciones y en tortugas y serpientes se acumula material caseoso en el dorso de la lengua (Girling y Raiti, 2004). La mayoría de los casos de estomatitis en tortugas son de etiología viral (iridovirus o herpesvirus); sin embargo, cuando el animal está inmunosuprimido es susceptible a sufrir infecciones secundarias por bacterias u hongos oportunistas (McArthur et al., 2004; Mader, 2006). Otras causas de estomatitis en reptiles son: reacciones a cuerpo extraño, infecciones periodontales, enfermedad renal o nutricional, irritantes tópicos, tóxicos (Girling y Raiti, 2004).

En el caso de una tortuga que presentó absceso aural pero los exámenes realizados dieron negativos por hongos, la etiología fúngica no puede ser descartada en su totalidad, pues la mayoría de las infecciones en los oídos de las tortugas son secundarias a infecciones ascendentes de la trompa de Eustaquio, son comunes en animales semiacuáticos donde se ha descuidado la calidad del agua, aunque también la retención de escamas durante la muda puede predisponer a infecciones secundarias por hongos o bacterias. Estas infecciones se pueden presentar de forma unilateral o bilateral, formando abscesos en el oído medio que se

ven como protuberancias en la membrana timpánica y acúmulos de material en la trompa de Eustaquio y faringe; también puede extenderse a los ojos y provocar una sinusitis subsecuente (McArthur et al., 2004; Girling y Raiti, 2004).

Se identificó *Verticillium* spp. en tres cultivos puros de la muestra de un absceso en la foseta loreal de una serpiente en recuperación, la cual se encontraba en cuarentena tras terminar una terapia antibiótica. En la literatura, se describe la terapia antibiótica como uno de los principales factores predisponentes para la aparición de infecciones micóticas secundarias (Mader, 2006; Jacobson, 2007), los abscesos pueden darse por infecciones secundarias (bacterianas o fúngicas) a la retención de segmentos de piel de la muda o ectoparásitos (Girling y Raiti, 2004) y también hay reportado un caso en el que *Verticillium* spp. (junto otros hongos) fue aislado de lesiones dérmicas en una anaconda macho. Por estas razones, es necesario no descuidar el manejo de animales en cautiverio o someterlos a situaciones de estrés porque esa flora fúngica puede aprovechar esas condiciones y causar infección (Mader, 2006; Jacobson, 2007).

En varias muestras de tortugas con y sin lesión en el caparazón y plastron, se aislaron hongos hialinos muy sugestivos de *Chrysosporium* en estado anamorfo de *Nannizziopsis vriesii*, por la morfología macroscópica y microscópica (Brandt et al., 2005). A estos hongos es necesario realizarles más pruebas para confirmar que se trate de este agente, pues a pesar de que no se ha identificado en quelonios, es un reconocido patógeno de piel de serpientes, saurios y cocodrilos (Mader, 2006; Jacobson, 2007). Así mismo, es necesario realizar muestreos seriados de estos animales y en mayor número con animales sanos y enfermos para demostrar la consistencia de los aislamientos.

Otro caso para analizar es el de un aislamiento de *Fusarium* spp. y *Aspergillus* spp. de un huevo retenido en cavidad celómica de una tortuga, el mismo fue obtenido de manera aséptica mediante escisión quirúrgica y sometido a examen directo y cultivo de la cáscara y la yema. La literatura reporta que estos hongos han sido aislados de huevos de estos animales (Mo et al., 1990; Acuña-Mesén, 1992; Phillot et al. 2006a; Jacobson, 2007), pero a la vez se han asociado con huevos no eclosionados e infecciones en cavidad celómica (Phillot et al., 2006a; Jacobson, 2007). Según Mader (2006), las causas primarias para que un huevo no pueda ser liberado de la cavidad celómica en el tiempo estipulado para su especie son factores nutricionales (enfermedad ósea metabólica de origen nutricional, hipovitaminosis A, hipocalcemia) y estrés por descuidos en el manejo (deshidratación, inexistencia o inapropiada área para anidar). También pueden ser anomalías anatómicas o infecciones del oviducto (bacterianas, fúngicas) y cuerpos extraños (urolitos y fecalitos) que obstruyen la salida del huevo (McArthur et al., 2004; Mader, 2006).

En la literatura consultada, hay poca información de infecciones causadas por algas en reptiles, pero es común encontrarlas en la piel de tortugas acuáticas (al igual que 25 tortugas de este estudio) y si las condiciones de manejo no son adecuadas podrían causar úlceras, granulomas y necrosis (Girling y Raiti, 2004; Mader, 2006).

El alga, *Prototheca* spp. fue aislada (en cultivo puro) de una muestra de hisopado de cloaca de una tortuga con prolapso cloacal. Las causas para esta condición en quelonios están relacionadas con el segmento involucrado, de esta manera, si la sección urinaria (urodeo) está involucrada puede ser por urolitos, si se trata de la parte reproductiva (coprodeo) puede deberse a una salpingitis (hembras), trauma o infección peneana (machos) (McArthur et al., 2004). Otras causas corresponden a enfermedades metabólicas, obesidad, hiperestrogenismo e

hipertofia cloacal secundaria, reducción de espacio en la cavidad celómica (retención de huevo), esfuerzos adicionales (oviposición) e infecciones (bacterianas, micóticas, virales o parasitarias de las vías urinarias bajas o del tracto digestivo (Girling y Raiti, 2004; McArthur et al, 2004). *Prototheca* spp. es un alga sin clorofila, ampliamente distribuida en el ambiente, especialmente en medios acuáticos y desechos animales; que causa infecciones dérmicas (perros y gatos), de glándulas mamarias (bovinos) y sistémicas (perros) (Scott et al., 2002). Debido a que en la literatura consultada no hay reportes de infecciones por este agente en reptiles y la información disponible en otras especies sugieren como puerta de entrada de este agente infecciones ascendentes vía colon y heridas cutáneas contaminadas (Scott et al., 2002), debe investigarse más sobre la presencia de este agente y su posible rol causal de patologías en reptiles tanto cutáneas como en cavidades.

La pérdida de peso en iguanas puede deberse a varios factores, entre ellos: obstrucciones gastrointestinales, parásitos, enfermedades hepáticas, fallas en el manejo, estrés, enfermedades respiratorias (inclusive con compromiso de hongos), etc (Girling y Raiti, 2004). Sin embargo, en la iguana estudiada no se hicieron exámenes colaterales para asociar la pérdida de peso con una infección interna.

Con respecto a la flora fúngica residente de mamíferos terrestres, se cuenta con poca información, sin embargo, los muestreos realizados pueden proveer un panorama de lo que frecuentemente se puede encontrar en animales que comparten el mismo ecosistema. En un estudio realizado con 180 ardillas grises en Florida, donde se recolectaron muestras de raspados de piel y uñas, se logró aislar *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., *Candida albicans*, *Cladosporium* spp., *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Microsporium gypseum*, *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., (Lewis et al., 1975). Estos géneros concuerdan con los

aislamientos de muestras de mamíferos silvestres de este estudio y a la vez son comunes en el ambiente (Larone, 2002).

Con respecto a las muestras de lesiones orales y esofágicas en un mono con diarrea severa y lesiones orales de un perezoso que murió de manera súbita, la demostración por medio de examen directo y biopsia de levaduras gemantes e hifas indicaron el compromiso de *Candida albicans* en el desarrollo de la patología. Esto se debe a que uno de los mecanismos de patogénesis de esta levadura es la emisión de filamentos, con el propósito de penetrar los espacios intracelulares y como sistema de defensa porque la hifa al liberar más fosfolipasas es más resistente a la fagocitosis (Hirsh y Chung-Zee, 1999; Arenas, 2003). Por lo tanto, en este estudio se estableció, el diagnóstico de candidiasis oral y esofágica en un mono y candidiasis oral en un perezoso.

Las diarreas en monos son bastante frecuentes, pueden darse por dietas con alto contenido de frutas y verduras o por algún organismo infeccioso (principalmente bacterianas) (Catao-Dias, 2001), luego de tratamientos agresivos con antibióticos para contrarrestar estas infecciones bacterianas, se produce un desbalance de la flora normal y es ahí cuando *Candida* spp. prolifera (Catao-Dias, 2001). Con respecto a los perezosos, existe muy poca bibliografía relacionada a medicina interna y menos en lo que respecta a micología, por lo tanto este podría ser el primer caso de candidiosis que se reporta en estos animales.

Los aislamientos de *Candida albicans* y *Malassezia pachydermatis* en las muestras de hisopados de oídos de un mapache y pizote respectivamente y la visualización de *Malassezia pachydermatis* en los exámenes directos de varios perezosos, en ausencia de signos clínicos sugestivos de otitis, no deben ser vinculados con infección, pues estos agentes se han descrito

como flora normal de los oídos de mamíferos (Hirsh y Chug-Zee, 1999; Quinn et al., 1999; Scott et al., 2003; Carchafia et al, 2005; Songer y Post, 2005).

De la lesión interdigital de un perezoso se identificó *Fusarium* spp. y el estudio histopatológico (hifas septadas hialinas, macroconidia en forma de canoa e infiltrado granulomatoso), concordó con el aislamiento en el cultivo, por lo tanto se confirmó dermatitis fúngica. Este animal, se mantenía en cautiverio luego de ser rescatado con un trauma severo en uno de los miembros anteriores. Semanas atrás de tomarse la muestra, se trató fuertemente con antibióticos y murió de manera súbita (al igual que otros perezosos del lugar). Electrocuciiones, ingestión de plantas tóxicas, infecciones con adenovirus, microsporidiosis o brotes epidémicos de bacterias, virus, hongos, parásitos, pueden causar muerte súbita en animales silvestres (Mullineaux et al., 2003; Harrison y Lighthfoot, 2006a; Harrison y Lighthfoot, 2006b; Mader, 2006). La forma de infección y repercusión en la causa de muerte de este perezoso quedaron esclarecidas, pero no pueden ser atribuidas directamente a *Fusarium* spp. pues no hubo diseminación a órganos vitales (Nir-Paz et al., 2004). Este sería el primer caso reportado de fusariosis interdigital en perezosos, ya que existe poca información sobre medicina de estos animales y en la literatura consultada sobre patologías dérmicas de origen fúngico, solo se han reportado dermatofitosis por *Microsporum canis* y *M. gypseum* (Araújo-Xavier et al., 2008).

Existen diferentes etiologías para los problemas de piel en mamíferos, las más frecuentes están asociadas a traumatismos físicos recientes o antiguos (lesiones por las jaulas, peleas por jerarquía o apareamiento), fallas en el manejo (hacinamiento, estrés, deficiencias nutricionales) e infecciosas (virus, bacterias, hongos y parásitos) (Mullineaux et al, 2003). El caso de dermatofitosis en monos evidenciado por la visualización del micelio arborizado en

examen directo puede ser directamente asociado a patología ya que esa estructura constituye la adaptación parasitaria de los dermatofitos. Ya se ha descrito dermatofitosis en primates no humanos (Mullineaux et al., 2003).

Con respecto a los aislamientos en los delfines muestreados no deben ser asociados con enfermedad pues, según Tristan (2008), las citologías de muestras gástricas realizadas rutinariamente en cetáceos, demuestran la presencia de *Candida* spp., *Aspergillus* spp. y *Cunninghamella* spp. En muestras respiratorias se observan normalmente hifas y levaduras no gemantes, sin embargo, el autor considera que de encontrarse levaduras gemantes o con emisión de filamentos y mayor cantidad de hifas en muestras de gástricas, fecales y respiratorias, debe considerarse como significativo (Tristan, 2008). Cultivos de muestras respiratorias positivas por *Aspergillus* spp. y Zigomicetes en ausencia de signos clínicos o comprometimiento en el parénquima deben ser considerados como saprófitos (Reidarson et al., 2001).

Con respecto los aislamientos fúngicos de las aves de estudiadas, concuerdan con lo reportado en la literatura, así se han encontrado *Aspergillus* spp., *Candida albicans*, *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Rhodotorula* spp., en el tracto intestinal de 80 palomas sanas (Ramírez et al., 1976) y *Aspergillus* spp. en las plumas, ojos y piel de aves sanas (Harrison y Lightfoot, 2006a). Además, es frecuente encontrar algunas hifas y levaduras no gemantes en impresiones fecales de animales aparentemente sanos (Harrison y Lightfoot, 2006a).

En las aves que presentaban clínica de infección respiratoria pero con cultivos negativos por hongos, no se puede descartar del todo el compromiso fúngico pues, los signos como respiración con la boca abierta y movimientos abdominales acompañados de la cola, no

siempre corresponden a problemas respiratorios, sino también pueden deberse a compresiones de la cavidad celómica, ascitis, anemia, problemas cardíacos, policitemia, obesidad, retención de huevo o problemas de tiroides (Harrison y Lightfoot, 2006b). Por otro lado, cuando el sistema respiratorio se ve afectado (principalmente por estrés o desnutrición), los signos antes mencionados, se pueden acompañar con descargas nasales, sonidos de dificultad respiratoria y pérdida del canto. Las descargas nasales si no son tratadas a tiempo pueden llegar a comprometer las vías respiratorias bajas o bien causar una sinusitis, los sonidos respiratorios deben ser diferenciados de obstrucciones traqueales y la pérdida del canto puede deberse a granulomas (por *Aspergillus* spp. u otra etiología) en la siringe (Harrison y Lightfoot, 2006b). Las afecciones del tracto respiratorio bajo más comunes son las causadas por hongos del género *Aspergillus*, los cuales colonizan de manera oportunista cuando el sistema inmune del ave está debilitado (Harrison y Lightfoot, 2006b). *Aspergillus* spp., debe diferenciarse de otros hongos hialinos septados como *Penicillium griseofulvum* involucrado en la muerte de varios tucanes de cautiverio por problemas respiratorios (Aho et al., 1990). Por estas razones, los agentes micóticos deben ser incluidos en el diagnóstico diferencial de este tipo de patologías.

La motilidad del buche se ve disminuida cuando existe regurgitación o retardo en el vaciamiento del mismo, causando distensión, apatía, toxemia, deshidratación y hasta la muerte. Las infecciones por levaduras oportunistas pueden darse, como es el caso típico de *Candida* spp. (Harrison y Lightfoot, 2006b). En una de las aves muestreadas con distensión de buche, a pesar de la puesta en evidencia de levaduras en examen directo, el cultivo resultó negativo, seguramente porque el crecimiento fúngico fue inhibido por la nistatina con la que fue previamente tratada (Harrison y Lightfoot, 2006b). Otras causas de distensión del buche

pueden ser: quemaduras, cuerpos extraños, heridas o golpes e hipovitaminosis A (Harrison y Lightfoot, 2006b).

Otras condiciones clínicas presentadas por las aves estudiadas que pueden asociarse con hongos son: 1) pérdida de peso que puede haberse debido a distintos factores como enfermedades sistémicas (por ejemplo Aspergilosis), estrés y problemas de absorción de la dieta (Harrison y Lightfoot, 2006b). 2) Las heces acuosas pueden darse por deficiente formación de la parte fecal (en el coprodeo), enfermedades metabólicas (que involucren una mala absorción), colonización de bacterias u hongos residentes (*Candida* spp.), inflamación e irritación de la mucosa gástrica por la presencia de agentes infecciosos o cuerpos extraños, lo que ocasiona una disminución en la absorción de nutrientes y una digestión deficiente (Harrison y Lightfoot, 2006b). 3) Deficiencia de vitamina A, problema que pudo haber sido agravado por una metaplasia de las células escamosas epiteliales del tracto respiratorio, predisponiendo a la propagación de *Aspergillus* spp. y la formación de granulomas traqueales, en la siringe o bien del tracto digestivo favoreciendo la colonización por *Candida* spp. o bacterias (Harrison y Lightfoot, 2006b). Sin embargo, ninguno de estos agentes fue corroborado.

5. CONCLUSIONES

- El presente trabajo corresponde al primer estudio realizado en nuestro país sobre identificación de agentes micóticos en muestras de superficies corporales, cavidades y órganos internos de tortugas, serpientes, iguanas, caimanes, aves, perezosos, pizotes, mapaches, delfines, zorros, cauceles y ardillas tanto de vida libre como en cautiverio y el segundo en monos, el cual sirve de base para futuras investigaciones.
- Se describen características clínicas y epidemiológicas de los animales silvestres estudiados.
- Se confirma la presencia de agentes micóticos en superficies corporales, mucosas y órganos internos y se evaluó su papel epidemiológico y patológico.
- Se propone un protocolo para toma y envío de muestras biológicas de animales silvestres para estudio micológico.
- Se identifican géneros de hongos que coinciden con lo reportado en la literatura para especies silvestres.
- Según la literatura consultada, se describe por primera vez *Fusarium* spp como agente de una dermatitis interdigital en perezosos.
- Se reporta por primera vez en Costa Rica la presencia del ácaro *Lobalges trouessarti* en dos muestras de lesión de piel de perezosos de tres dedos (*Bradypus variegatus*) por la Dra. Jackeline De Oliveira (Laboratorio de Parasitología).
- Una dermatofitosis fue diagnosticada por medio de examen directo en un mono carablanca (*Cebus capuchinus*).
- Se demostró la presencia de *Microsporum gypseum* en el pelaje de un perezoso de dos

dedos (*Choloepus hoffmanni*) y un caucel (*Leopardus wiedii*), poniendo en evidencia la condición de portadores de dermatofitos en animales de cautiverio.

- Se corroboró por medio de exámenes directos, estudios histopatológicos y cultivos micológicos, la etiología fúngica en tres animales: fusariosis interdigital y candidiasis oral en un perezoso de tres dedos (*Choloepus hoffmanni*), neumonía micótica en un caimán (*Caiman crocodilus*) y candidiasis oro-esofágica en un mono congo (*Alouatta palliata*).
- Se enfatiza la importancia del abordaje integrado para el diagnóstico certero de micosis en estos animales.
- Los aislamientos obtenidos en las muestras de animales silvestres tanto de vida libre como en condición de cautiverio, tienen importancia en la salud pública al ser estos reportados por la literatura como potenciales patógenos de humanos y animales.

6. RECOMENDACIONES

- Respalidar las cepas aisladas, fotografías de las lesiones y pruebas realizadas para revalidar el trabajo y como material de referencia para futuras investigaciones.
- Realizar estudios experimentales para evaluar el papel de patogenicidad de cepas aisladas de lesiones.
- Hacer muestreos de manera seriada en los animales en los que se aislaron hongos para demostrar la presencia transitoria de estos agentes y al mismo tiempo tomar muestras ambientales y de agua para buscar una asociación con el medio donde se encuentran.
- Recopilar en la medida de lo posible, la historia clínica de los animales silvestres en cautiverio y realizar exámenes de laboratorio, para crear datos referenciales y tratar de asociar agentes aislados a las lesiones o padecimientos de estos animales.
- Identificar el género y en la medida de lo posible, la especie en los hongos en los que no se pudo concretar, por medio de más estudios o referencia a otros investigadores para contar con material de referencia y posibles publicaciones.
- Realizar un estudio integrado y con un número de muestra estadísticamente significativo de animales silvestres en cautiverio y vida libre.
- Publicar los hallazgos más relevantes de este trabajo, principalmente aquellos que tengan respaldo histopatológico.
- Realizar más investigaciones en el área de Micología Veterinaria, tanto en animales silvestres como en animales domésticos, pues estos están en mayor contacto con las personas y la determinación de portadores de potenciales patógenos es de suma importancia para la salud pública.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Acuña-Mesén, R.A. 1992. *Monosporium apiospermum* Saccardo (Fungi, Deuteromycetes), asociado a los huevos de la tortuga marina *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz 1829) en Costa Rica. *Brenesia* 38:159–162.
- Adaska, J.M. 1999. Peritoneal Coccidioidomycosis in a Mountain Lion in California. *J.Wildl. Dis.* 35: 75-77
- Adrian, W.J. 1978. Epornitics of aspergillosis in mallards (*Anas platyrhynchos*) in North Central Colorado. *J. Wildl. Dis.* 14: 212-217.
- Aho, R., B. Westerling, L. Ajello, A.A. Padhye & R.A. Samson. 1990. Avian penicilliosis caused by *Penicillium griseofulvum* in a captive toucanet. *J Med Vet Mycol.* 28: 349-354.
- Albassam, M.A., R. Bhatnagar, L.E. Lillie, & L. Roy. 1986. Adiaspiromycosis in a Striped Skunks in Alberta, Canada. *J. Wildl. Dis.* 22: 13-18
- Arenas, R. 2003. *Micología Médica Ilustrada*. 2da. Ed. Mc Graw Hill. México DF, Mex.
- Araújo-Xavier, G.A., L.B. Galiza da Silva, D.R. da Silva, R. de Moraes-Peixoto, G. Câmara-Lino y R. Aparecido-Mota. 2008. Dermatophytosis caused by *Microsporium canis* and *Microsporium gypseum* in free-living *Bradypus variegatus* (Schiz, 1825) in the state of Pernambuco, Brazil. *Br. J. Microbiol.* 39: 508-510.
- Aviva, P. & P. Watson. 1999. *Statistics for Veterinary and Animal Science*. Blackwell Publishing Limited p: 256
- Bosch, J. & I. Martinez-Solano. 2006. Chytrid fungus infection related to unusual mortalities of *Salamandra salamandra* and *Bufo bufo* in the Peñalara Natural Park, Spain. *Oryx.* 40 (1): 84-89.

- Brandt, M.E., D.Gaunt, N. Iqbal, S. McClinton, S. Hambleton & L. Sigler. 2005. False-Positive *Histoplasma capsulatum* Gen-Probe Chemiluminescent Test Result Caused by a *Chrysosporium* Species. J Clin Microbiol. 43: 1456-1458.
- Buckles, E. & M. Behr. 2009. White Nose Syndrome: A Devastating Emerging Disease of Bats. Proceeding of the ACVP/ASVCP Concurrent Annual Meetings. Monterey, California, U.S.A.
- Burek, K. 2001. Mycotic Diseases. In: Williams E.S & Barker I.K. Infectious diseases of Wild Mammals. 3rd Ed. Manson. London, U.K. Pp: 303-307.
- Cabañes, F.J., J.M. Alonso, G. Castellá, F. Alegre, M. Domingo & S. Pont. 1997. Cutaneous hyalohyphomycosis caused by *Fusarium solani* in a loggerhead sea turtle (*Caretta caretta* L.). J. Clin. Microbiol. 35: 3343-3345.
- Cafarchia, C., S. Gallo, D. Romito, G. Capelli, R. Chermette, J. Guillot y D. Otranto. 2005. Frequency, body distribution, and population size of *Malassezia* species in healthy dogs and in dogs with localized cutaneous lesions. J Vet Diagn Invest. 17: 316-322.
- Catao-Dias, J.L. 2001. Primate Medicine. In: Fowler M.E & Z.L. Cubas (Ed). Biology, Medicine and Surgery of South American Wild Animals. Iowa University. Iowa, U.S.A. Pp: 267-272.
- Cheatwood, J.L., E.R. Jacobson, P.G. May, T.M. Farrell, B.L. Homer, D.A. Samuelson & J.W. Kimbrough. 2003. An Outbreak of Fungal Dermatitis and Stomatitis in a Free-ranging Population of Pigmy Rattlesnakes (*Sistrurus miliaris barbouri*) in Florida. J Wildl Dis. 39: 329-337.
- Chomel, B.B., A. Belotto & F.X. Meslin. 2007. Wildlife, Exotic Pets, and Emerging Zoonoses. Emerg Infect Dis. 13: 6-11.

- Cooper, J.E. 2000a. Avian Microbiology. *In*: Fudge, A.M. Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets. W.B. Saunders. Pennsylvania, U.S. Pp: 90-98.
- Cooper, J.E. 2000b. Reptilian Microbiology. *In*: Fudge, A.M. Laboratory Medicine Avian and Exotic Pets. W.B. Saunders. Pennsylvania, U.S. Pp: 223-227.
- Cork, S. & R. Halliwell. 2002. The veterinary laboratory and field manual. Nottingham University. Nottingham, U.K.
- Corredor, G.G., J.H. Castaño, L.A. Peralta, S. Díez, M. Arango, J. McEwen y A. Restrepo. 1999. Aislamiento de *Paracoccidioides brasiliensis* a partir de un armadillo de nueve bandas (*Dasyus novemcinctus*), en área endémica para la paracoccidioidomicosis en Colombia. *Rev Iberoam Micol.* 16: 216-220.
- Crow, G.L., J.A. Brock & S. Kaiser. 1995. *Fusarium solani* Fungal Infection of the Lateral Line Canal System in Captive Scalloped Hammerhead Sharks (*Sphyrna Lewini*) in Hawaii. *J. Wildl. Dis.* 31: 562 – 565.
- Curtis, M. 2000. Candidiasis and Cryptococcosis in Birds. *Semin. Avian Exotic Pet Med.* 9: 75-81.
- Daszak, P., A.A. Cunningham & A.D. Hyatt. 2003. Infectious disease and amphibian population declines. *Diversity and Distributions*, 9: 141-150.
- Davidson, W.R., E.B. Shotts, J. Teska & D.W. Moreland. 1989. Feather damage due to mycotic infections in wild turkeys. *J. Wildl. Dis.* 25: 534-539.
- Davidson, W.R., J.M. Crum, J.L. Blue, D.W. Sharp & J.H. Phillips. 1985. Parasites, Diseases, and Health Status of Sympatric Populations of Fallow Deer and White Tailed Deer in Kentucky. *J. Wildl. Dis.* 21: 153-159.
- Drouhet, E., G. Segretain & F. Mariat. 1977. *Micología Médica*. *In*: Golvan, Y.J & J.C. Petithory (ed). *Técnicas en parasitología y micología*. Jims, Barcelona. p. 311- 400

- Duncan, C., H. Schwantje, C. Stephen, J. Campbell & K. Bartlett. 2006. *Cryptococcus gatti* in Wildlife of Vancouver Island, British Columbia, Canadá. J. Wildl. Dis. 42: 175-178.
- Espinosa de los Monteros, A., L. Carrasco, J. M. King & H.E. Jensen. 1999. Nasal zygomycosis and pulmonary aspergillosis in an American Bison. J. Wild. Dis. 35: 790-795.
- Ferguson, H.W. 2006. Systemic Pathology of Fish: A Text and Atlas of Normal Tissues in Teleost and their Responses in Disease. 2nd. Ed. Scotian Press. London, UK.
- Fletch, A.L. & R.C. Anderson. 1969. Four cases of systemic mycoses in cervids. Bull. Wildlife Disease Assoc. 5: 12-15.
- Fowler, M.E. & Cubas Z.S. 2001. Preface. *In*: Fowler, M.E. & Cubas Z.S. Biology, medicine, and surgery of South American Wild Animals. 4th Ed. W.B. Saunders. Philadelphia, U.S.
- Gales, N., G. Wallace & J. Dickson. 1985. Pulmonary Cryptococcosis in a Striped Dolphin (*Stenella coeruleoalba*). J. Wildl. Dis. 21: 443-446.
- Girling, S.J. & P. Raiti (Ed). 2004. BSAVA Manual of Reptiles. 2nd ed. British Small Animal Association. London, U.K.
- Griner, L.A. & H.A. Walch. 1978. Cryptococcosis in columbiformes at the San Diego Zoo. J. Wildl. Dis. 14: 389-394.
- Gross, N., J.D. Castro, O. Guerrero, M. Chinchilla, R. Sánchez & G. Gutiérrez-Espeleta. En prensa. Yeast isolated from *Alouatta palliata*, *Atelles geoffroyi*, *Cebus capucinus* and *Saimiri oerstedii*. Neotropical Primates.
- Han, J.I. & K.J. Na. 2008. Dermatitis caused by *Neosartorya hyrartzukae* Infection in a Hedgehog. J. Clin. Microbiol. 46: 3119-3123.
- Harrison, G.J. & T.L. Lightfoot. 2006a. Clinical Avian Medicine Vol. 1. Spix. Florida, U.S.
- Harrison, G.J. & T.L. Lightfoot. 2006b. Clinical Avian Medicine Vol. 2. Spix. Florida, U.S.

- Hatai, K. & S.S. Kubota. 1986. *Fusarium oxysporum* in Red Sea Bream (*Pagrus* sp.). J. Wildl. Dis. 22: 570-571.
- Heard, D., G. Fleming, B. Lock & E. Jacobson. 2002. Lizards. In: Meredith A. & S. Redrobe (ed). BSAVA Manual of Exotic Pets. 4th Ed. British Small Animal Veterinary Association. London, U.K.
- Hirsh, D.C. & Y. Chung-Zee. 1999. Veterinary Microbiology. Blackwell Science, Massachusetts, U.S.
- Hoff, G.L. & W.J. Bigler. 1981. The Role of Bats in the Propagation and Spread of Histoplasmosis: a review. J. Wildl. Dis. 2: 191-196.
- Hubálek, Z. 2004. An Annotated Checklist of Pathogenic Microorganisms Associated with Migratory Birds. J. Wildl. Dis. 40: 239-259.
- Hubbard, G.B., R.E. Schmidt, D.L. Eisenbrandt, W.M. Witt & K.C. Fletcher. 1985. Fungal infections of ventriculi in captive birds. J. Wildl. Dis. 21: 25-28.
- Jacobson, E.R. 2007. Infectious diseases and Pathology of Reptiles. Taylor & Francis. FL, U.S.
- Jacobson, E.R., J.L. Chaetwood & L.K. Maxwell. 2000. Mycotic Diseases of reptiles. Sem Avian Exotic Pet Med. 9: 94-101.
- Jones, M. & S. Orosz. 2000. The Diagnosis of Aspergillosis in Birds. Semin. Avian Exotic Pet Med. 9: 52-58.
- Johnson, J.H. 2004. Husbandry and Medicine of Aquatic Reptiles. Sem Avian Exotic Pet Med. 13: 223-228.
- Khoo, L. 2000. Fungal Diseases in Fish. Semin. Avian. Exotic. Pet. Med. 9: 102-111.
- Lakkonen, J., R.N. Fisher & T.J. Case. 2001. Pneumocystosis in Wild Small Mammals from California. J. Wildl. Dis. 37: 408-412.

- Larone, D.H. 2002. Medically important fungi: A guide to identification. 4th. Ed. ASM Press. Washington, U.S.
- Leighton F.A. & G. Wobeser. 1978. The Prevalence of Adiaspiromycosis in Three Sympatric Species of Ground Squirrels. *J. Wild. Dis.* 14: 362-365.
- Levy, H.D., J.D. Luzes, S.H. Ramiro, R.H. Friciello & S. Dall'Acqua. 2006. Isolation of *Microsporium gypseum* from the haircoat of health wild felids kept in captivity in Brazil. *Br. J. Microbiol.* 37: 148-152.
- Lewis, E., G.L. Hoff, W.J. Bigler & M.B. Jefferies. 1975. Public Health and The Urban Gray Squirrel: Mycology. *J. Wildl. Dis.* 11:502-504.
- Lizano, R. 2001. Ecoturismo como modelo de desarrollo. *Ambientico.* 98.
- Lochmiller, R.L., E.C. Hellgren, P.G. Hannon & W.E. Grant. 1985. Coccidioidomycosis (*Coccidioides immitis*) in the Collared Pecari (*Tayassu tajacu*: Tayassudidae) in Texas. *J. Wild. Dis.* 21: 305-309.
- Mader, D. 2006. Reptile medicine and surgery. 2nd. Ed. Saunders, Mo., U.S.
- Mancianti, F., W. Mignone & R. Papini. 1997. Keratinophilic Fungi from Coats of Wild Boards in Italy. *J. Wildl. Dis.* 33: 340-342
- Mariat. F. y C. Adam-Campos. 1967. La technique du carré du tapis, méthode simple de prélèvement dans les mycoses superficielles. *Ann. Inst. Pasteur.* 113: 666-668.
- McArthur, S., R. Wilkinson & J. Meyer. 2004. Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles. Blackwell. Iowa, U.S.
- Mckenzie, R.A. & P.E. Green. 1976. Mycotic dermatitis in Captive Carpet Snakes (*Morelia spilotes variegata*). *J. Wildl. Dis.* 12: 405-408.

- Mendelson III, J.R., K.R. Lips, R.W. Gagliardo, G.B. Rabb, J.P. Collins, J.E. Diffendorfer, P. Daszak, R. Ibáñez, K.C. Zippel, D.P. Lawson, K.M. Wright, S.N. Stuart, C. Gascon, H.R. da Silva, P.A. Burrowes, R.L. Joglar, E. La Marca, S. Lötters, L.H. du Preez, C. Weldon, A. Hyatt, J.C. Rodriguez-Mahecha, S. Hunt, H. Robertson, B. Lock, C.J. Raxworthy, D.R. Frost, R.C. Lacy, R.A. Alford, J.A. Campbell, G. Parra-Olea, F. Bolaños, J.J. Calvo-Domingo, T. Halliday, J.B. Murphy, M.H. Wake, L.A. Coloma, S.L. Kuzmin, M.S. Price, K.M. Howell, M. Lau, R. Pethiyagoda, M. Boone, M.J. Lannoo, A.R. Blaustein, A. Dobson, R.A. Griffiths, M.L. Crump, D.B. Wake & E.D. Brodie. 2006. Confronting Amphibian Declines and Extinctions. *Science* 313: 48.
- Mendoza, L. & A.A. Alfaro. 1985. Equine subcutaneous zygomycosis in Costa Rica. *Mykosen*. 28:545-549.
- Miller, D.L., Z.A. Radi, S.L. Stiver & T.D. Thornhill. 2004. Cutaneous and Pulmonary Mycosis in Green Anacondas (*Eunectes murinus*). *J Zoo Wildl Med*. 35: 557-561.
- Mo, C.L., I. Salas & M. Caballero. 1990. Are fungi and bacteria responsible for olive ridley's egg loss? In: Richardson, T.H., Richardson, J.I., and Donnelly, M. (Compilers). *Proceedings of the 10th Annual Workshop on Sea Turtle Biology and Conservation*. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-278, pp. 249–252.
- Mörner, T., A. Avenäs & R. Mattson. 1999. Adiaspiromycosis in a European Beaver from Sweden. *J. Wildl. Dis.* 35: 367-370.
- Mullineaux, E., D. Best & J.E. Cooper (Ed). 2003. *BSAVA Manual of Wildlife Casualties*. British Small Animal Veterinary Association. Wareham, U.K.
- Myers, D.A., R. Isaza, G. Ben-Shlomo, J. Abbott & C.E. Plummer. 2009. Fungal Keratitis in a Gopher Tortoise (*Gopherus polyphemus*). *J Zoo Wildl Med*. 40: 579-582.

- Nelson, R.T., B.J. Cochrane, P.R. Delis & D. TeStrake. 2002. Basidioboliasis in anurans in Florida. *J. Wildl. Dis.* 38: 463-467.
- Neo, F.A. 2010. Preguntas Frecuentes. Red Nacional de Combate al Tráfico de Animales Silvestres. (En línea). Brasilia, Brasil. www.renctas.org.br/es/informese/duvidas.asp (Consultado: 15 feb. 2010).
- Nir-Paz, R., J. Strahilevitz, M. Shapiro, N. Keller, A. Goldschmied-Reouven, O. Yarden, C. Block & I. Polacheck. 2004. Clinical and Epidemiological Aspects of Infections Caused by: *Fusarium* species: a Collaborative Study from Israel. *J Clin Microbiol.* 42: 3456-3461.
- Obendorf, D.L. 1980. Candidiasis in young hand-reared kangaroos. *J. Wildl. Dis.* 16: 135-140.
- Obendorf, D.L. & K. McColl. 1980. Mortality in little penguins (*Eudyptula minor*) along the coast of Victoria, Australia. *J. Wildl. Dis.* 2:251-259.
- Obendorf, D.L., B.F. Peel & B.L. Munday. 1993. *Mucor amphibiorum* Infection in Platypus (*Ornithorhynchus anatinus*) from Tasmania. *J. Wildl. Dis.* 29: 485-487.
- Olson, R.E. 1986. *Ichthyophonus* Infection in a Pacific Staghorn Sculpin (*Leptocottus armatus*) from Oregon. *J. Wildl. Dis.* 22: 566-569.
- Peden, W.M., J.L. Richard, D.W. Trampel & R.E. Brannian. 1985. Mycotic Neumonia and Meningoencephalitis due to *Aspergillus terreus* in a Neonatal Snow Leopard (*Panthera uncia*). *J. Wild. Dis.* 21: 301-305.
- Phillott, A.D., C.J. Parmenter & C.J. Limpus. 2006a. Occurrence of mycobiota in eastern Australian sea turtle nests. *Memoirs of the Queensland Museum.* 49: 701-703.
- Phillott, A.D., C.J. Parmenter & C. McKillup. 2006b. Calcium Depletion of Eggshell After Fungal Invasion of Sea Turtle Eggs. *Chelonian Conservation and Biology.* 5: 146-149

- Pérez, J. y L. Carrasco. 2000. Diagnóstico histopatológico de micosis en patología veterinaria. Rev Iberoam Micol. 17: S18-S22.
- Puschendorf Fahrenkrug, R. 2004. *Batrachochytrium dendrobatidis* en Costa Rica, un hongo que ataca anfibios. Tesis de Maestría. Universidad de Costa Rica. C.R.
- Quesada, R. 2005. Hallazgos anatomo-histopatológicos en serpientes en cautiverio en Costa Rica. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional. C.R.
- Quinn, P.J., M.E. Carter, B. Markey & G.R. Carter. 1999. Mycology. In: Quinn et al. Clinical Veterinary Microbiology. Mosby, London. U.K. Pp: 367-415.
- Ramírez, R., G.W. Robertstad, L.R. Hutchinson & J. Chavez. 1976. Mycotic Flora in the Lower Digestive Tract of Feral Pigeons (*Columba livia*) in the El Paso, Texas Area. J. Wildl. Dis. 12: 83- 85.
- Reed, R.E., G. Migaki & J.A. Cummings. 1976. Coccidioidomycosis in a Californian Sea Lyon (*Zalophus californianus*). J. Wildl. Dis. 12: 372-375.
- Reidarson, T.H., L.A. Grinner, D. Pappagianis & J. McBain. 1998. Coccidioidomycosis in a Bottlenose Dolphin. J. Wildl. Dis. 32: 629-631.
- Reidarson, T.H., J.F. McBain, L.M. Dalton & M.G. Rinaldi. 2001. Mycotic Diseases. In: Dierauf L.A & Gulland F.M.D. CRC Handbook of Marine Mammal Medicine. 2nd Ed. CRC Press LLC. FL, U.S. Pp: 337-348.
- Retallick, R.W., H. McCallum & R. Speare. 2004. Endemic infection of the amphibian chytrid fungus in a frog community post-decline. PloS Biol. 2: e351.
- Riley, P.Y. & B.B. Chomel. 2005. Hedgehog Zoonoses. Emerg. Infect. Dis. 11:1-5.
- Rodríguez, J. 1998. Micología Médica. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

- Rose, F.L., J. Koke, R. Koehn & D. Smith. 2001. Identification of the Etiological Agent for Necrotizing Scute Disease in Texas Tortoise. *J. Wildl. Dis.* 37: 223-228.
- Rotstein, D.S., L.G. Burdett, W. McLellan, L. Schwacke, T. Rowles, K.A. Terio, s. Schultz & A. Pabst. 2009. Lobomycosis in offshore bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*), North Carolina. *Emerg Infect Dis.* Abril. [en línea] (Consulta: 27 jul. 2009).
- Salkin, I.F. & W.B. Stone. 1974. Subcutaneous Mycotic Infection of a White Tailed Deer. *J. Wildl. Dis.* 10: 34-38
- Sanabria-Romero, G. y Espinosa-Alvarado, R. 2000. Aislamiento de *Basidiobolus* sp. en heces de lagartijas de la especie *Hemidactylus frenatus*. Trabajo de Graduación de Licenciatura, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. C.R.
- Scott, D., W. Miller & C. Griffin. 2002. Muller & Kirk's: Dermatología en Pequeños Animales. 6ta. Ed. Inter-Médica. Buenos Aires, Arg.
- Silva-Vergara, M.L., R. Martínez, M. H. Borges-Malta, C. M. Leite-Maffei & L. E. Ramírez. 2001. *Histoplasma capsulatum* isolated from *Didelphys albiventris* (Marsupiala: Didephidae) in the state of Minas Gerais, Brazil. *Rev. Iberoam. Micol.* 18: 180-182.
- Speare, R., A.D. Thomas, P. O'Shea & W.A. Shipton. 1994. *Mucor amphibiorum* in the toad, *Bufo marinus*, in Australia. *J. Wildl. Dis.* 30: 399-407.
- Songer, J.G. & K.W. Post. 2005. Veterinary Mycology. *In: Veterinary Microbiology: Bacterial and Fungal Agents of Animals Disease.* Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri, U.S.
- Taylor, S.K., E.S. Williams & K.W. Mills. 1999a. Experimental exposure of Canadian toads to *Basidiobolus ranarum*. *J. Wildl. Dis.* 35: 58-63.

- Taylor, S.K., E.S. Williams & K.W. Mills. 1999b. Mortality of captive Canadian toads from *Basidiobolus ranarum* mycotic dermatitis. *J. Wildl. Dis.* 35:64-69.
- Taylor, S.K., E.S. Williams, K.W. Mills & M.D. Bock. 1999c. Mucormycotic dermatitis in captive adult Wyoming toads. *J. Wildl. Dis.* 35: 70-74.
- Thiel, R.P., L.D. Mech, R.G. Ruth, J.R. Archer & L Kaufman. 1987. Blastomycosis in Wild Wolves. *J. Wildl. Dis.* 23: 321-323.
- Tristan, T. 2008. Introduction to Sample Collection and Interpretation in Cetaceans. Proceedings of the ACVP/ASVCP Annual Meetings. Texas, U.S.
- University of Illinois Division of Animal Resources. 2006. Biology and diseases of amphibians and reptiles [en línea]. Sergent, Y, Ill, U.S. http://www.dar.uiuc.edu/VCM656/amphibians_&_reptiles_02.doc. (Consulta: 24 jun. 2007).
- Woolhouse, M.E. & S. Gowtage-Sequeira. 2005. Host Range and Emerging and Reemerging Pathogens. *Emerg Infect Dis.* 11: 1842-1847.
- Wünschmann, A., U. Siebert & R. Weiss. 1999. Rhysopusmycosis in a Harbor Porpoise from the Baltic Sea. *J. Wildl. Dis.* 35: 569-573.
- Wyand, D.S., K. Langheinrich & C.F. Helmbolt. 1971. Aspergilosis and Renal Oxalosis in a White-tailed Deer. *J. Wildl. Dis.* 7: 52-56.
- Yonushonis, W.P., M.R. Elwell, P.G. Lawyer & E.C. Rabago. 1986. Infection of a Three-Toed Sloth (*Bradypus variegatus*) by a *Pneumocystis*-like Organism in Panama. *J. Wildl. Dis.* 22: 572-575.
- www.aspergillus.org.uk
- www.doctorfungus.org,

www.inbio.ac.cr

www.mycology.adelaide.edu.au

8. ANEXOS

Anexo 1. Hoja de datos

LABORATORIO DE MICOLOGÍA

UNIVERSIDAD NACIONAL

HOJA DE REGISTRO DE MUESTRAS DE ESPECIES SILVESTRES

Fecha y hora: _____

Caso de laboratorio: _____ Nombre común: _____

Género: _____ Especie: _____

Sexo: _____ Edad: Adulto _____ Juvenil _____

Animal de vida libre: _____ Animal en cautiverio: _____

Radio collar: _____ Identificación: _____

Microchip: _____

Lugar de procedencia: _____

Provincia

Cantón

Distrito

Otras señas: _____

Características de la lesión: _____

Material remitido: _____

Historia (si es de cautiverio): _____

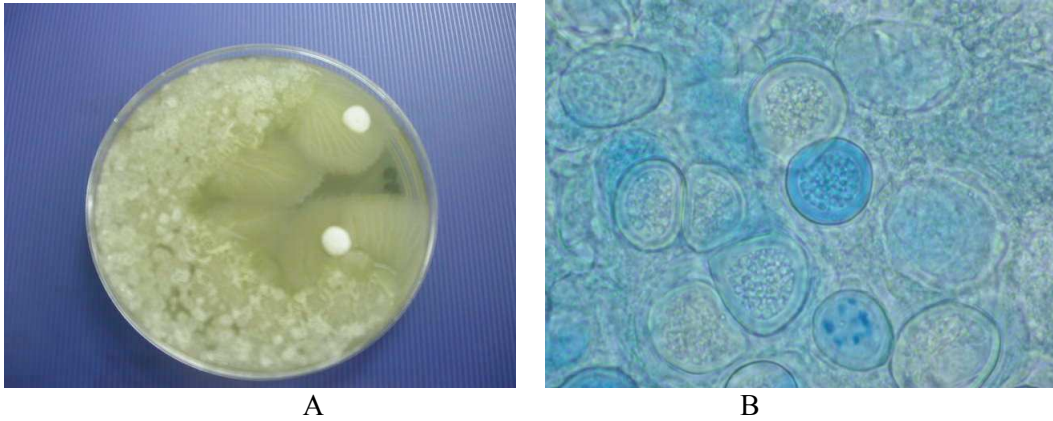
Exámenes requeridos:

Directo KOH: _____ Cultivo: _____

Directo Azul de metileno: _____ Histopatología: _____

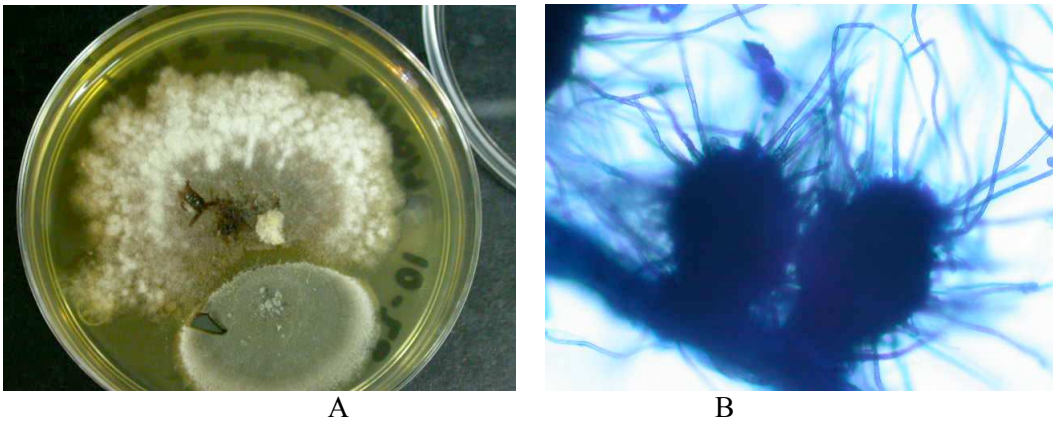
Otro: _____

Anexo 2. *Prototheca* spp.



A) Cultivo puro de *Prototheca* spp. a partir de una muestra de hisopado de cloaca de una tortuga cachetes rojos (*Trachemys scripta Elegant*). B) Montaje en lactofenol azul (40x).

Anexo 3. *Chaetomium* spp.

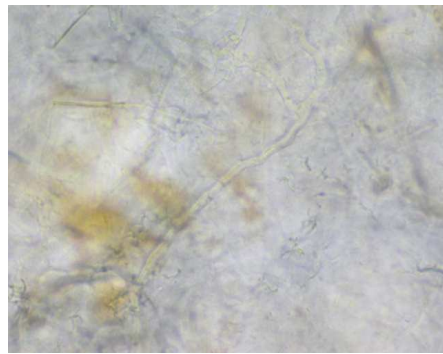


A) *Chaetomium* spp. aislado de una lesión de piel de un pizote (*Nasua narica*). A) Cultivo SDA 25°C, 15 días. B) Montaje en lactofenol azul (40x).

Anexo 4. *Fusarium* spp. muestra de caparazón



A



B



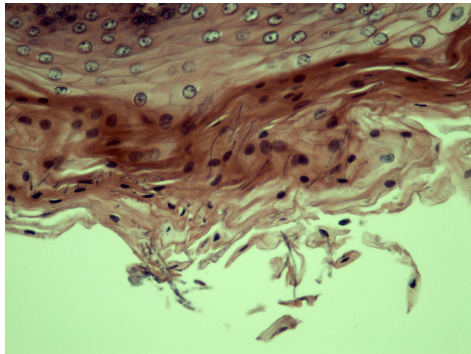
C



D

A) Tortuga candado (*Kinosternon scorpioides*) con lesiones hialinas y descamativas en el caparazón. B) Examen directo KOH 20%: hifa septada hialina (40x). C) Cultivo en agar Sabouraud del hongo *Fusarium* spp. D) Montaje en lactofenol azul, mostrando las conidias en forma de canoa.

Anexo 5. Mono con *Candida* spp.



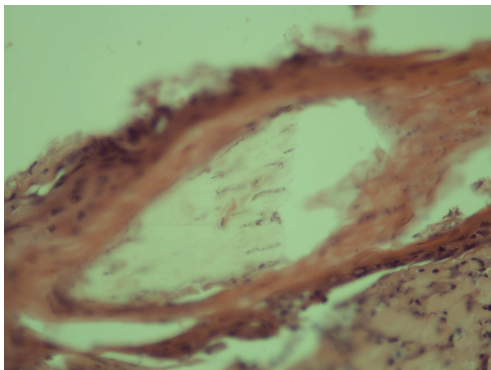
A



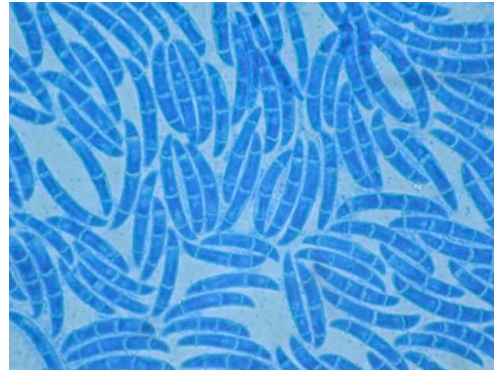
B

A) Histopatología de esófago donde se muestra la invasión de *Candida albicans* en el tejido (Cortesía Dr. Juan Alberto morales) B) Cultivo en Agar Sabouraud.

Anexo 6. *Fusarium* spp. de lesión de perezoso.



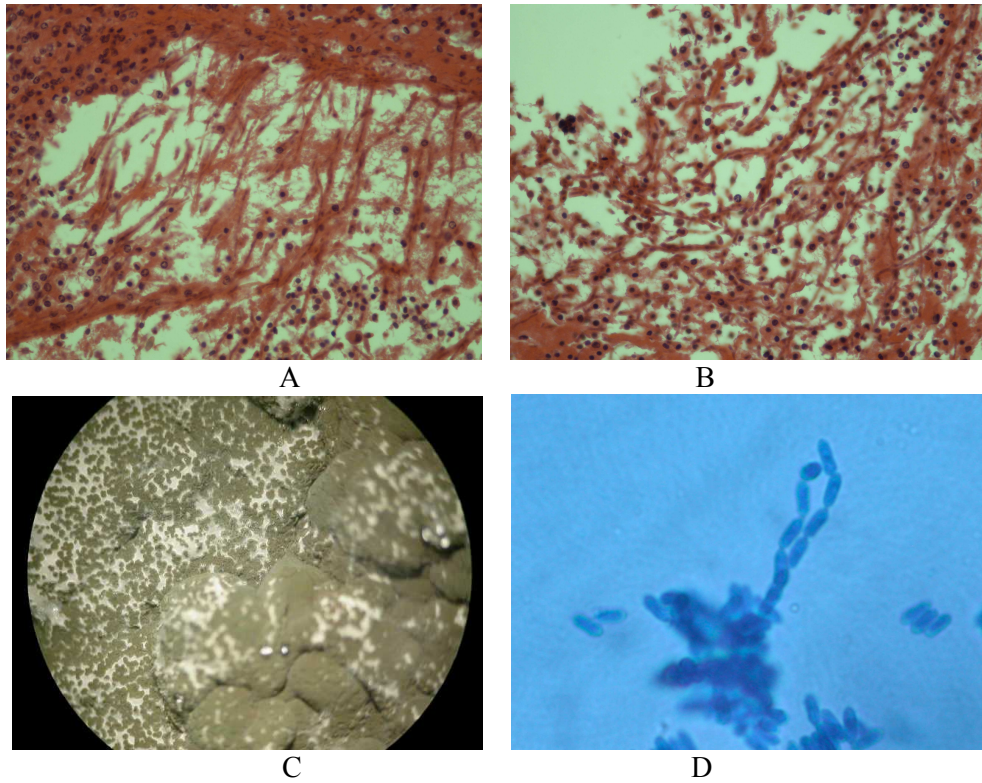
A



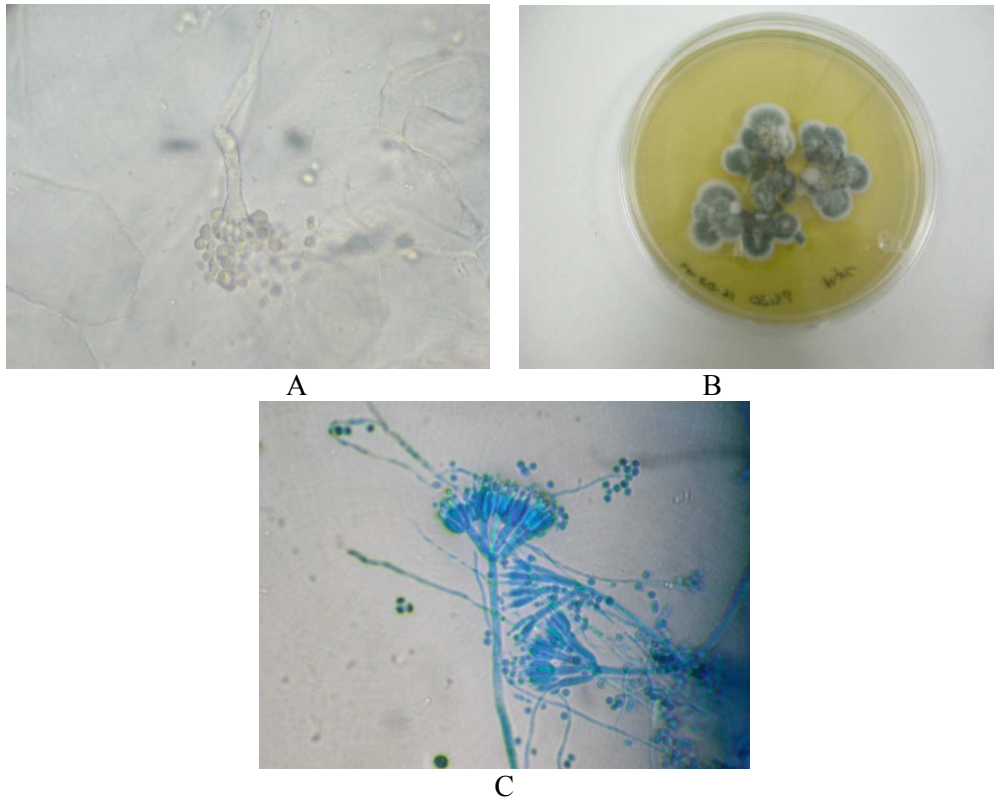
B

A) Corte histológico positivo por hifas septadas y macroneuridia en forma de canoa, de la dermatitis interdigital en un perezoso de dos dedos (*Choloepus hoffmanni*) B) Cultivo en lámina de *Fusarium* spp.

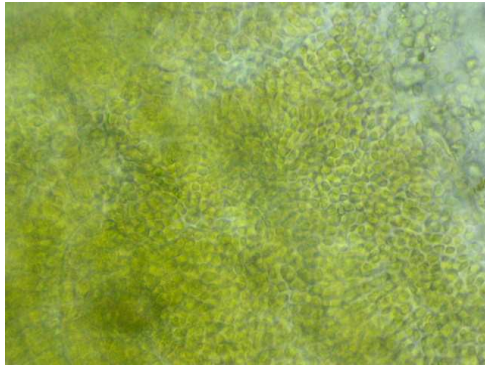
Anexo 7. Hongo hialino de un pulmón de caimán



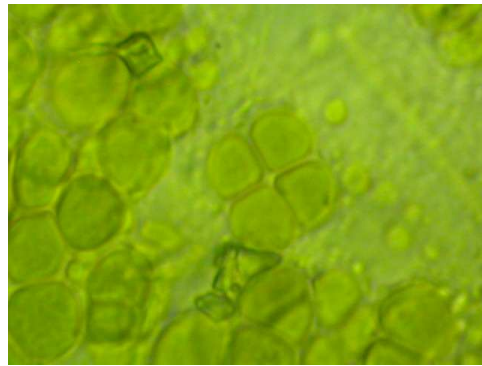
A y B) Histopatología de un pulmón de caimán (*Caiman crocodilus*) con neumonía micótica (Cortesía Dr. Juan Alberto Morales). C) Aislamiento puro de un hongo hialino en el reverso y verde pulverulento en el anverso. D) Cultivo en lámina.

Anexo 8. Inconsistencia entre examen directo y cultivo en perezoso

A) Examen directo de una lesión de piel de un perezoso de dos dedos (*Choloepus hoffmanni*) donde se demuestra la presencia de *Aspergillus* spp. B) Morfología macroscópica del aislamiento en cultivo puro de *Penicillium* spp Agar Mycosel. C). Morfología microscópica.

Anexo 9. Algas en caparazón de tortugas

A



B

A y B) Estructuras compatibles con algas, hallados en los raspados de caparazón de tortugas semiacuáticas.

Anexo 10. Acaros piel de perezosos.

A



B

A y B) Acaros *Lobalges trouessarti*, encontrados en lesiones de piel de dos perezosos de tres dedos (*Bradypus variegatus*).

Anexo 11. Características generales de 40 tortugas de cautiverio muestreadas para estudio micológico

ID Lab	Especie	Identificación	Sexo	Madurez sexual	Procedencia	Hallazgos clínicos o historia
TO-01	<i>Cyclemys dentata</i> (Hoja)	ND	ND	Adulto	ND	Lesiones blanquecinas en caparazón
TO-02	<i>Trachemys scripta Elegant</i> (Cachetes rojos)	ND	Hembra	Adulto	Alajuela	Huevo retenido en cavidad celómica
TO-03	<i>Trachemys scripta Elegant</i> (Cachetes rojos)	ND	Macho	Adulto	Heredia	Absceso aural y lesión blanquecina en caparazón
TO-04	<i>Trachemys scripta Venusta</i> (Cachetes amarillos)	"Jonesy"	Macho	Adulto	Heredia	Caparazón suave
TO-05	<i>Trachemys scripta Elegant</i> (Cachetes rojos)	"Galleta"	Hembra	Adulto	Heredia	Prolapso cloacal
TO-06	<i>Geochelone sulcata</i> (tortuga de espolones)	ND	Hembra	Adulto	Alajuela	Lesión en miembro anterior derecho
TO-07	<i>Kinosternon Scorpioides</i> (Candado)	ND	Hembra	Adulto	San José	Deficiencia de vitamina A, animal muerto
TO-08	<i>Kinosternon Scorpioides</i> (Candado)	ND	Hembra	Adulto	Puntarenas	Lesiones descamativas en caparazón
TO-09	<i>Kinosternon Scorpioides</i> (Candado)	ND	ND	Adulto	Puntarenas	Lesiones descamativas en caparazón
TO-10	<i>Rhinoclemmys pulcherrima</i> (Roja)	"Descarapelada"	ND	Adulto	Puntarenas	Lesiones hiperqueratócicas en caparazón
TO-11	<i>Lpydochelys Kempfi</i> (Lora marina)	Lora	Hembra	Adulto	Puntarenas	Lesiones ulcerativas en plastron
TO-12	<i>Rhinoclemmys pulcherrima</i> (Roja)	ND	ND	ND	Puntarenas	Sin lesiones aparentes
TO-13	<i>Rhinoclemmys pulcherrima</i> (Roja)	ND	ND	ND	Puntarenas	Sin lesiones aparentes
TO-14	<i>Trachemys scripta Elegant</i> (Cachetes rojos)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesiones blanquecinas en caparazón
TO-15	<i>Kinosternon Scorpioides</i> (Candado)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesiones verduzcas en caparazón
TO-16	<i>Rhinoclemmys Funerea</i> (Negra)	ND	ND	ND	Puntarenas	Sin lesiones aparentes

Anexo 11. Características generales de 40 tortugas de cautiverio muestreadas para estudio micológico (continuación)

ID Lab	Especie	Identificación	Sexo	Madurez sexual	Procedencia	Hallazgos clínicos o historia
TO-17	<i>Trachemys scripta Venusta</i> (Cachetes amarillos)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-18	<i>Rhinoclemmys pulcherrima</i> (Roja)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-19	<i>Trachemys scripta Elegant</i> (Cachetes rojos)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesiones blanquecinas en caparazón
TO-20	<i>Trachemys scripta Elegant</i> (Cachetes rojos)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-21	<i>Rhinoclemmys pulcherrima</i> (Roja)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-22	<i>Trachemys scripta Elegant</i> (Cachetes rojos)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-23	<i>Rhinoclemmys pulcherrima</i> (Roja)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-24	<i>Trachemys scripta Venusta</i> (Cachetes amarillos)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-25	<i>Rhinoclemmys pulcherrima</i> (Roja)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-26	<i>Rhinoclemmys pulcherrima</i> (Roja)	ND	ND	ND	Puntarenas	Sin lesiones aparentes
TO-27	<i>Kinosternon Scorpioides</i> (Candado)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-28	<i>Rhinoclemmys Funerea</i> (Negra)	ND	ND	ND	Puntarenas	Sin lesiones aparentes
TO-29	<i>Trachemys scripta Venusta</i> (Cachetes amarillos)	ND	Macho	Adulto	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-30	<i>Kinosternon Scorpioides</i> (Candado)	ND	ND	ND	Puntarenas	Sin lesiones aparentes
TO-31	<i>Kinosternon Scorpioides</i> (Candado)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-32	<i>Trachemys scripta Venusta</i> (Cachetes amarillos)	ND	ND	ND	Puntarenas	Sin lesiones aparentes

Anexo 11. Características generales de 40 tortugas de cautiverio muestreadas para estudio micológico (continuación)

ID Lab	Especie	Identificación	Sexo	Madurez sexual	Procedencia	Hallazgos clínicos o historia
TO-33	<i>Trachemys scripta Elegant</i> (Cachetes rojos)	Nº 5	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-34	<i>Trachemys scripta Venusta</i> (Cachetes amarillos)	Nº 102	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-35	<i>Trachemys scripta Venusta</i> (Cachetes amarillos)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-36	<i>Trachemys scripta Venusta</i> (Cachetes amarillos)	Nº 3	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-37	<i>Trachemys scripta Venusta</i> (Cachetes amarillos)	Nº 700	Macho	Adulto	Puntarenas	Sin lesiones aparentes
TO-38	<i>Trachemys scripta Venusta</i> (Cachetes amarillos)	Nº 100	ND	ND	Puntarenas	Lesión cicatrizal en plastron
TO-39	<i>Trachemys scripta Venusta</i> (Cachetes amarillos)	Nº 400	Macho	Adulto	Puntarenas	Lesión en cicatrizal plastron
TO-40	<i>Rhinoclemmys pulcherrima</i> (Roja)	ND	ND	ND	Puntarenas	Lesiones verduzcas en caparazón

Anexo 12. Resultados de exámenes directos y cultivos de muestras de 40 tortugas

ID Lab	Area muestreada	Examen directo	Medio utilizado	Resultados
TO-01	Lesión caparazón	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
TO-02	Huevo retenido en cavidad celómica	Negativo	SDA	<i>Fusarium</i> spp. 1 ufc, <i>Aspergillus</i> spp. 1 ufc
			Myc	<i>Penicillium</i> spp. 2 ufc, <i>Aspergillus</i> spp. 2 ufc
	Boca	Negativo	Myc	Negativo
TO-03	Raspado de caparazón	Positivo por hifas septadas hialinas	SDA	Hongo hialino 2 ufc
	Absceso aural	Negativo	SDA	Negativo
	Boca	Negativo	SDA	Negativo
TO-04	Raspado de caparazón	Negativo	SDA	<i>Rhizopus</i> spp.
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
TO-05	Hisopado de cloaca	Negativo	SDA	<i>Prototheca</i> spp. incontables ufc
	Caparazón	Negativo	SDA	Negativo
			Myc	Hongo pigmentado 1 ufc, Hongo hialino 1 ufc
TO-06	Lesión de piel	Positivo por hifas septadas hialinas	SDA	<i>Geotrichum</i> spp.
TO-07	Caparazón	Negativo	SDA	<i>Fusarium</i> spp. 1 ufc, Hongo pigmentado spp 1 ufc
			Myc	Hongo pigmentado 2 ufc
	Plastron	Negativo	SDA	Hongo hialino 2 ufc, Hongo pigmentado 1 ufc
			Myc	<i>Trichosporon</i> spp. 1 ufc, <i>Paecilomyces lilacinus</i> 3 ufc
	Hisopado de cloaca	Positivo por levaduras y macroconidia fuliginosa	SDA	<i>Trichosporon</i> spp. incontables ufc
	Hisopado de boca	Positivo por <i>Candida</i> spp	SDA	<i>Geotrichum</i> spp. incontables ufc, <i>Fusarium</i> spp. 1 ufc
	Material de estomatitis	Positivo por hifas septadas hialinas y fuliginosas y <i>Candida</i> spp	SDA	<i>Fusarium</i> spp. 4 ufc
			Myc	<i>Paecilomyces lilacinus</i> 4 ufc
Material de vejiga	Positivo por <i>Candida</i> spp	SDA	Levaduras incontables ufc	

**Anexo 12. Resultados de exámenes directos y cultivos de muestras de 40 tortugas
(continuación)**

ID Lab	Area muestreada	Examen directo	Medio utilizado	Resultados
TO-07	Material de tráquea	Negativo	SDA	Levaduras incontables ufc, Hongo hialino 1 ufc
	Absceso ocular	Positivo por hifas septadas hialinas y levaduras	SDA	<i>Fusarium</i> spp. 2 ufc, levaduras incontables ufc
			Myc	Hongo hialino 1 ufc, <i>Alternaria</i> spp. 1 ufc
	Hígado	Negativo	SDA	<i>Geotrichum</i> spp. incontables ufc, Hongo pigmentado 2 ufc
			Myc	<i>Trichosporon</i> spp. incontables ufc
	Riñón	Negativo	SDA	<i>Geotrichum</i> spp. incontables ufc, <i>Fusarium</i> spp 4 ufc
			Myc	<i>Paecilomyces lilacinus</i> 1 ufc, levaduras 3 ufc
	Pulmón	Negativo	SDA	<i>Prototheca</i> spp. incontables ufc, <i>Fusarium</i> spp 4 ufc
			Myc	<i>Paecilomyces lilacinus</i> 4 ufc
	Líquido cavidad celómica	Negativo	SDA	<i>Trichosporon</i> spp incontables ufc, <i>Cladosporium</i> spp 1 ufc, Hongo hialino 6 ufc
Nódulo cavidad celómica	Negativo	SDA	Negativo (positivo por bacterias 10 ufc)	
Intestino	Negativo	Myc	Negativo	
		SDA	<i>Candida</i> spp 22 ufc	
Folículo	Positivo por levaduras	SDA	Levaduras incontables ufc, <i>Fusarium</i> spp. 1 ufc	
		Myc	<i>Trichosporon</i> spp. 1 ufc, <i>Paecilomyces lilacinus</i> 2 ufc, Hongo pigmentado 1 ufc	
TO-08	Lesión caparazón	Positivo por hifas septadas hialinas	SDA	<i>Verticillium</i> spp. 2 ufc
			SDA	<i>Fusarium</i> spp. 2 ufc
TO-09	Lesión caparazón	Positivo por hifas septadas fuliginosas	SDA	<i>Curvularia</i> spp. 1 ufc
TO-10	Lesión caparazón	Negativo	SDA	Negativo
TO-11	Lesión plastron	Negativo	SDA	Hongo hialinos incontables ufc
			Myc	<i>Candida</i> spp. 11 ufc
TO-12	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA	Hongo pigmentado incontables ufc
			Myc	Hongo hialino 1 ufc

**Anexo 12. Resultados de exámenes directos y cultivos de muestras de 40 tortugas
(continuación)**

ID Lab	Area muestreada	Examen directo	Medio utilizado	Resultados
TO-13	Caparazón costado lateral derecho	Estructuras similares a algas	SDA Myc	Hongo pigmentado incontables ufc, <i>Fusarium</i> spp. 3 ufc <i>Penicillium</i> spp. 2 ufc
	Lesión miembro posterior derecho	Negativo	SDA Myc	Levadura 2 ufc Hongo hialino 1 ufc
TO-14	Caparazón	Estructuras similares a algas, macroconidias e hifa fuliginosa	SDA Myc	Hongos hialinos 2 ufc, <i>Penicillium</i> spp. 1 ufc Hongo hialino 1 ufc
	Cloaca	Negativo	SDA	<i>Rhizopus</i> spp. incontables ufc, 1 hongo negro, hongo hialino 1 ufc
TO-15	Caparazón	No realizado	SDA	Hongo pigmentado incontables ufc, <i>Aspergillus</i> spp 1 ufc, <i>Fusarium</i> spp 1 ufc
			Myc	Negativo
TO-16	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA Myc	<i>Fusarium</i> spp. 1 ufc Hongo hialino 2 ufc <i>Penicillium</i> spp. 2 ufc
	Cloaca	Negativo	SDA	<i>Aspergillus terreus</i> 3 ufc, <i>Aspergillus niger</i> 1 ufc
TO-17	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA Myc	Hongo pigmentado 1 ufc Hongo pigmentado 1 ufc
	Plastron	Estructuras similares a algas	SDA Myc	<i>Rhizopus</i> spp. incontables ufc Hongo hialino 1 ufc
	Cloaca	Negativo	SDA	Hongo hialino incontables ufc
TO-18	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA Myc	Zigomicete incontables ufc Negativo
	Plastron	Estructuras similares a algas	SDA Myc	Hongo hialino 1 ufc Hongo hialino 1 ufc
TO-19	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA Myc	Zigomicete incontables ufc Hongo hialino 1 ufc

**Anexo 12. Resultados de exámenes directos y cultivos de muestras de 40 tortugas
(continuación)**

ID Lab	Area muestreada	Examen directo	Medio utilizado	Resultados
TO-19	Cloaca	Negativo	SDA	Hongo pigmentado incontables ufc
TO-20	Caparazón	Negativo	SDA	Hongo hialino 1 ufc
	Plastron	No realizado	Myc	<i>Candida</i> spp. 1 ufc
			SDA	Negativo
Cloaca	Negativo	Myc	Negativo	
TO-21	Caparazón	Negativo	SDA	<i>Aspergillus terreus</i> 1 ufc
			Myc	Hongo pigmentado 1 ufc
TO-22	Plastron	Estructuras similares a algas	SDA	Incontables <i>Rhizomucor</i> spp., Incontables levaduras
			Myc	Negativo
			SDA	Hongo hialino 1 ufc, Hongo pigmentado 1 ufc
TO-23	Caparazón	Negativo	SDA	Hongo pigmentado incontables ufc
			Myc	Negativo
			SDA	Hongo pigmentado 1 ufc
TO-24	Plastron	Negativo	Myc	Negativo
			SDA	<i>Rhodotorula</i> spp. incontables ufc
			SDA	Hongo pigmentado incontables ufc, <i>Aspergillus</i> spp 1 ufc, <i>Fusarium</i> spp 1 ufc
TO-25	Caparazón	Macroconidias, estructuras similares a algas	SDA	Hongo hialino 1 ufc
			Myc	<i>Aspergillus</i> spp. 1 ufc, <i>Curvularia</i> spp. 1 ufc, hongo hialino 1 ufc, <i>Rhizopus</i> spp. incontables ufc
			SDA	<i>Penicillium</i> spp. 1 ufc
TO-26	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA	<i>Rhizopus</i> spp incontables ufc
			Myc	Negativo
			SDA	<i>Penicillium</i> spp. 1 ufc
TO-27	Plastron	Estructuras similares a algas	Myc	Negativo
			SDA	<i>Fusarium</i> spp. 1 ufc
			Myc	Negativo

**Anexo 12. Resultados de exámenes directos y cultivos de muestras de 40 tortugas
(continuación)**

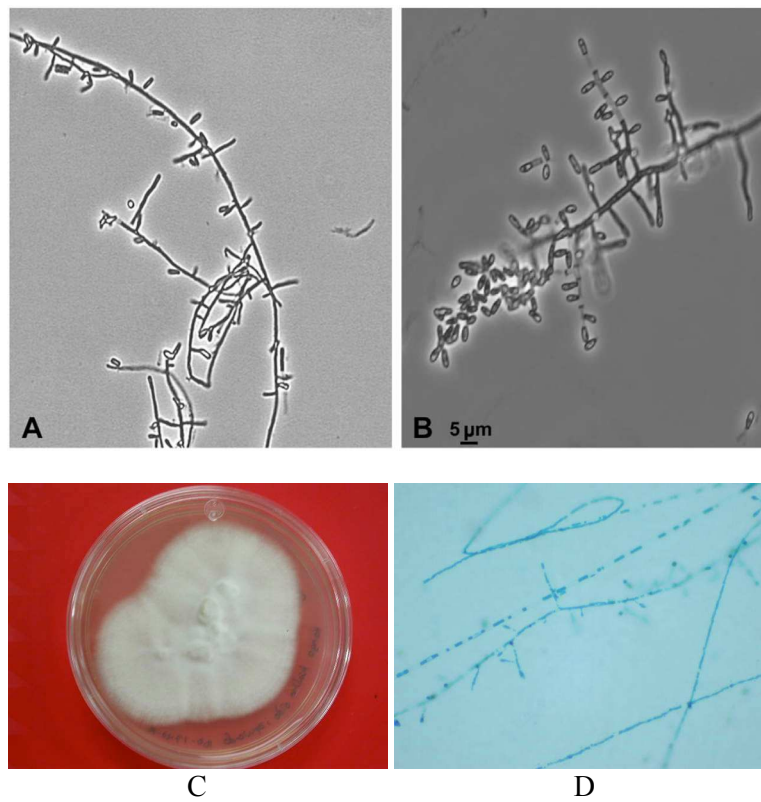
ID Lab	Area muestreada	Examen directo	Medio utilizado	Resultados
TO-25	Cloaca	Negativo	SDA	<i>Aspergillus niger</i> , incontables ufc, <i>Aspergillus terreus</i> 2 ufc, Zigomicete 1 ufc, <i>Penicillium</i> spp. 1 ufc
TO-26	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA Myc	<i>Mucor</i> spp. incontables ufc, <i>Fusarium</i> spp. 1 ufc Hongo hialino 1 ufc
TO-27	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA Myc	Hongo hialino 1 ufc Hongo hialino 1 ufc
	Plastron	Estructuras similares a algas	SDA Myc	<i>Fusarium</i> spp incontables ufc Negativo
TO-28	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA Myc	<i>Curvularia</i> spp. 3 ufc, hongo hialino incontables ufc Hongo hialino 1 ufc
	Cloaca		SDA	<i>Aspergillus niger</i> incontables ufc
TO-29	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA Myc	Hongo hialino 1 ufc Hongo pigmentado 1 ufc
	Plastron	Estructuras similares a algas	SDA Myc	Hongo negro incontables ufc Hongo hialino 1 ufc
TO-30	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA Myc	<i>Aspergillus niger</i> incontables ufc Hongo pigmentado 1 ufc <i>Aspergillus niger</i> 1 ufc, <i>Aspergillus terreus</i> 2 ufc, hongo hialino 1 ufc, <i>Penicillium</i> spp. 1 ufc
	Cloaca	Negativo	SDA	
TO-31	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA Myc	Hongo hialino 1 ufc Hongo hialino 1 ufc
	Plastron	Estructuras similares a algas	SDA Myc	Negativo Hongo hialino 1 ufc
	Cloaca	Negativo	SDA	Hongo pigmentado incontables ufc
TO-32	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA	Hongo pigmentado 1 ufc
	Caparazón		Myc	Hongo hialino 1 ufc

**Anexo 12. Resultados de exámenes directos y cultivos de muestras de 40 tortugas
(continuación)**

ID Lab	Area muestreada	Examen directo	Medio utilizado	Resultados
TO-32	Cloaca	Negativo	SDA	Hongo pigmentado 1 ufc
TO-33	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA	<i>Aspergillus niger</i> 1 ufc, hongo pigmentado incontables ufc
			Myc	Negativo
	Plastron	Negativo	SDA	Hongo hialino 4 ufc
			Myc	<i>Penicillium</i> spp. 1 ufc
TO-34	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA	Hongos pigmentado incontables ufc, <i>Fusarium</i> spp. 3 ufc
			Myc	Hongo hialino 2 ufc
	Plastron	Estructuras similares a algas	SDA	Negativo
			Myc	<i>Penicillium</i> spp. 1 ufc
	Cloaca	Negativo	SDA	<i>Aspergillus terreus</i> 1 ufc, <i>Aspergillus niger</i> 2 ufc
TO-35	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA	Negativo
			Myc	<i>Aspergillus</i> spp. 1 ufc
TO-35	Plastron	Estructuras similares a algas	SDA	Negativo
			Myc	Negativo
TO-36	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA	Hongo pigmentado 1 ufc
			Myc	Negativo
	Plastron	Negativo	SDA	<i>Fusarium</i> spp. 1 ufc
			Myc	Negativo
	Cloaca	Negativo	SDA	<i>Aspergillus niger</i> incontables ufc, <i>Curvularia</i> spp. Incontables ufc
TO-37	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA	Hongo pigmentado 1 ufc
			Myc	Hongo hialino 1 ufc
	Lesión de cola	Estructuras similares a algas	SDA	Negativo
			Myc	Negativo
TO-38	Caparazón	Negativo	SDA	<i>Fusarium</i> spp. 1 ufc
			Myc	Negativo
	Plastron	Estructuras similares a algas	SDA	<i>Aspergillus niger</i> incontables ufc
			Myc	Negativo

**Anexo 12. Resultados de exámenes directos y cultivos de muestras de 40 tortugas
(continuación)**

ID Lab	Area muestreada	Examen directo	Medio utilizado	Resultados
TO-38	Cloaca	Negativo	SDA	<i>Aspergillus niger</i> incontables ufc, <i>Aspergillus terreus</i> 1 ufc, hongo hialino (cleistotecios) 1 ufc, Zygomycete 1 ufc
TO-39	Caparazón	Estructuras similares a algas	SDA Myc	Hongo pigmentado 1 ufc Negativo
	Plastron	Estructuras similares a algas	SDA Myc	Negativo Negativo
	Cloaca	Negativo	SDA	<i>Candida</i> spp incontables ufc
TO-40	Caparazón	Negativo	SDA Myc	Hongo hialino 1 ufc Negativo
	Cloaca	Negativo	SDA	<i>Candida</i> spp incontables ufc

Anexo 13. Hongo hialino

A y B) Cultivos en lámina de CANV realizados con el medio Leonian. Tomado de: Brandt, et al., 2005). C) Cultivo SDA 25°C de un hongo hialino compatible con la morfología de *Chrysosporium* estado anamorfo de *Nannizopsis vriesii* (CANV). D) Cultivo en lámina (40x, zoom 5.1)

Anexo 14. Características generales de los 19 perezosos muestreados para estudio micológico

ID Lab	Genero y especie, nombre común	ID lugar	Sexo	Madurez sexual	Procedencia	Cautiverio / vida libre	Hallazgos clínicos o historia
PE-01	<i>Bradypus variegatus</i> (perezoso de tres dedos)	6810330	Hembra	Adulto	Alajuela	Vida libre	Lesiones alopécicas multifocales, hembra con cría
PE-02	<i>Bradypus variegatus</i> (perezoso de tres dedos)	681097c	No definido	Juvenil	Alajuela	Vida libre	Lesión sanguinolenta y costrosa en lomo, cría de PE-01
PE-03	<i>Choloepus hoffmanni</i> (perezoso de dos dedos)	68DB818	Macho	Adulto	Alajuela	Vida libre	Animal sin lesión o enfermedad aparente
PE-04	<i>Choloepus hoffmanni</i> (perezoso de dos dedos)	67B9787	Macho	Adulto	Alajuela	Vida libre	Animal sin lesión o enfermedad aparente
PE-05	<i>Bradypus variegatus</i> (perezoso de tres dedos)	68DB02E	Hembra	Adulto	Alajuela	Vida libre	Animal sin lesión o enfermedad aparente
PE-06	<i>Bradypus variegatus</i> (perezoso de tres dedos)	68DC4A6	Hembra	Adulto	Alajuela	Vida libre	Animal sin lesión o enfermedad aparente
PE-07	<i>Bradypus variegatus</i> (perezoso de tres dedos)	No id	Hembra	Adulto	Puntarenas	Cautiverio	Lesión alopécica, eritematosa, costrosa en el vientre
PE-08	<i>Bradypus variegatus</i> (perezoso de tres dedos)	c14	Hembra	Adulto	Alajuela	Vida libre	Animal sin lesión o enfermedad aparente
PE-09	<i>Bradypus variegatus</i> (perezoso de tres dedos)	c08	Hembra	Adulto	Alajuela	Vida libre	Alopecia generalizada, positiva por ácaros
PE-10	<i>Bradypus variegatus</i> (perezoso de tres dedos)	6810D48	Macho	Juvenil	Alajuela	Vida libre	Animal sin lesión o enfermedad aparente
PE-11	<i>Bradypus variegatus</i> (perezoso de tres dedos)	680E72B	Hembra	Adulto	Alajuela	Vida libre	Animal sin lesión o enfermedad aparente
PE-12	<i>Bradypus variegatus</i> (perezoso de tres dedos)	68D8B94	Hembra	Adulto	Alajuela	Vida libre	Animal sin lesión o enfermedad aparente

Anexo 14. Características generales de los 19 perezosos muestreados para estudio micológico (continuación)

ID Lab	Genero y especie, nombre común	ID lugar	Sexo	Madurez sexual	Procedencia	Cautiverio / vida libre	Hallazgos clínicos o historia
PE-13	<i>Bradypus variegatus</i> (perezoso de tres dedos)	c23	Hembra	Adulto	Alajuela	Vida libre	Animal sin lesión o enfermedad aparente
PE-14	<i>Choloepus hoffmanni</i> (perezoso de dos dedos)	68ED676	Hembra	Adulto	Alajuela	Vida libre	Recién parida
PE-15	<i>Choloepus hoffmanni</i> (perezoso de dos dedos)	68D9DFD	Macho	Adulto	Alajuela	Vida libre	Animal sin lesión o enfermedad aparente
PE-16	<i>Choloepus hoffmanni</i> (perezoso de dos dedos)	680DD57	Hembra	Adulto	Alajuela	Vida libre	Animal sin lesión o enfermedad aparente
PE-17	<i>Choloepus hoffmanni</i> (perezoso de dos dedos)	680ED86	Hembra	Adulto	Alajuela	Vida libre	Animal sin lesión o enfermedad aparente
PE-18	<i>Choloepus hoffmanni</i> (perezoso de dos dedos)	No id	Macho	Adulto	Puntarenas	Cautiverio	Muerte súbita, lesión en miembro anterior derecho
PE-19	<i>Choloepus hoffmanni</i> (perezoso de dos dedos)	Juanita	Hembra	Adulto	Puntarenas	Cautiverio	Electrocución, amputación de un miembro, lesiones generalizadas en cuello

Anexo 15. Resultados de exámenes directos y cultivos de muestras de 19 perezosos

ID	Tipo de muestra	Examen directo	Medio de cultivo	Cultivo
PE-01	Raspado de piel	Negativo por hongos, positivo por el ácaro <i>Lobalges trouessarti</i>	Myc	Negativo
PE-02	Raspado de piel	Negativo por hongos, positivo por el ácaro <i>Lobalges trouessarti</i>	Myc	Negativo
PE-03	Hisopado oído izquierdo	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	Negativo
	Hisopado oído derecho	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	Negativo
PE-04	Hisopado de oído izquierdo	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Penicillium</i> spp. 10 ufc
PE-05	Hisopado de oído izquierdo	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Cladosporium</i> spp. 5 ufc
PE-06	Hisopado de oído izquierdo	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Penicillium</i> spp. 4 ufc
PE-07	Hisopado de oído izquierdo	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Levaduras <i>Penicillium</i> spp. 6 ufc, <i>Cladosporium</i> spp 10 ufc
	Moqueta		Myc	
	Raspado de piel	Negativo	Myc	Negativo
PE-08	Hisopado de oído izquierdo	Levaduras	SDA	Levaduras 25 ufc
	Hisopado de oído derecho	Negativo	SDA	Hongos hialino 3 ufc
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Cladosporium</i> spp 7 ufc

**Anexo 15. Resultados de exámenes directos y cultivos de muestras de 19 perezosos
(continuación)**

ID	Tipo de muestra	Examen directo	Medio de cultivo	Cultivo
PE-09	Hisopado de oído izquierdo	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Cladosporium</i> spp 12 ufc
PE-10	Hisopado de oído izquierdo	Levaduras	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo	SDA	Hongo hialino 2 ufc
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Penicillium</i> spp. 15 ufc
PE-11	Hisopado de oído izquierdo	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	Negativo
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	Hongo pimentado 13 ufc
PE-12	Hisopado de oído izquierdo	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo	SDA	Hongo hialino 6 ufc
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Penicillium</i> spp. 5 ufc, <i>Cladosporium</i> spp. 4 ufc
PE-13	Hisopado de oído izquierdo	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo	SDA	Hongo hialino 6 ufc
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Penicillium</i> spp. 4 ufc
PE-14	Hisopado de oído izquierdo	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Cladosporium</i> spp 20 ufc
PE-15	Hisopado de oído izquierdo	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Penicillium</i> spp. 5 ufc

**Anexo 15. Resultados de exámenes directos y cultivos de muestras de 19 perezosos
(continuación)**

ID	Tipo de muestra	Examen directo	Medio de cultivo	Cultivo
PE-16	Hisopado de oído izquierdo	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	Negativo
	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Cladosporium</i> spp 12 ufc
PE-17	Hisopado de oído izquierdo	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo	SDA	Negativo
	Hisopado de boca	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Penicillium</i> spp. 7 ufc
PE-18	Hisopado de oído izquierdo	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	Negativo
	Hisopado de boca	Levaduras	SDA	<i>Candida</i> spp. incontables ufc, <i>Fusarium</i> spp. incontables ufc
	Moqueta		Myc	<i>Microsporium gypseum</i> 1 ufc
	Raspado de miembro anterior derecho	Negativo	Myc	Negativo
			SDA	Negativo
PE-19	Raspado lesión interdigital	Negativo	Myc	Negativo
			SDA	<i>Fusarium</i> spp. incontables ufc
	Raspado lesión piel del cuello	Positivo por <i>Aspergillus</i> spp +++	Myc	<i>Penicillium</i> spp. incontables ufc
			SDA	<i>Penicillium</i> spp. incontables ufc

+ Pocas, ++ Moderadas, +++ Abundantes

Anexo 16. Características generales de 14 serpientes adultas muestreadas para estudio micológico

ID Lab	Género, especie, nombre común	ID lugar	Sexo	Procedencia	Cautiverio / vida libre	Hallazgos clínicos o historia
SE-01	<i>Atropoides mexicanus</i> (mano de piedra)	P-61	Macho	San José (ICP)	Cautiverio	Absceso en foseta loreal en proceso de recuperación, costra
SE-02	<i>Atropoides mexicanus</i> (mano de piedra)	P-626	Macho	San José (ICP)	Cautiverio	Lesión plana color rosa, historia de neumonía
SE-03	<i>Bothrops asper</i> (terciopelo)	749	Hembra	San José (ICP)	Cautiverio	Lesión circunscrita no escamosa
SE-04	<i>Bothrops asper</i> (terciopelo)	733	Hembra	San José (ICP)	Cautiverio	Animal aparentemente sano
SE-05	<i>Crotalus durissus</i> (cascabel)	05 38	Macho	San José (ICP)	Cautiverio	Lesiones planas y costrosas color naranja en área ventral
SE-06	<i>Crotalus durissus</i> (cascabel)	05 22	Macho	San José (ICP)	Cautiverio	Lesión en proceso de reepitelización
SE-07	<i>Crotalus durissus</i> (cascabel)	05 23	Macho	San José (ICP)	Cautiverio	Lesión tipo cicatriz negra irregular
SE-08	<i>Boa constrictor</i> (boa)	No esp.	NE	Alajuela	Cautiverio	Estomatitis
SE-09	<i>Boa constrictor</i> (boa)	No esp.	NE	Heredia	Cautiverio	Animal aparentemente sano
SE-10	<i>Boa constrictor</i> (boa)	No esp.	NE	Heredia	Cautiverio	Animal aparentemente sano
SE-11	<i>Boa constrictor</i> (boa)	No esp.	NE	Heredia	Vida libre	Atropello, fractura de mandíbula
SE-12	<i>Boa constrictor</i> (boa)	BC-876	Macho	San José (ICP)	Cautiverio	Muerte súbita
SE-13	<i>Python molurus bivittatus</i> (pitón)	ND 68-08	Macho	Heredia (SG)	Cautiverio	Muerte súbita, posible neumonía
SE-14	<i>Boa constrictor</i> (boa)	No esp.	Macho	San José	Cautiverio	Muerte súbita, estomatitis

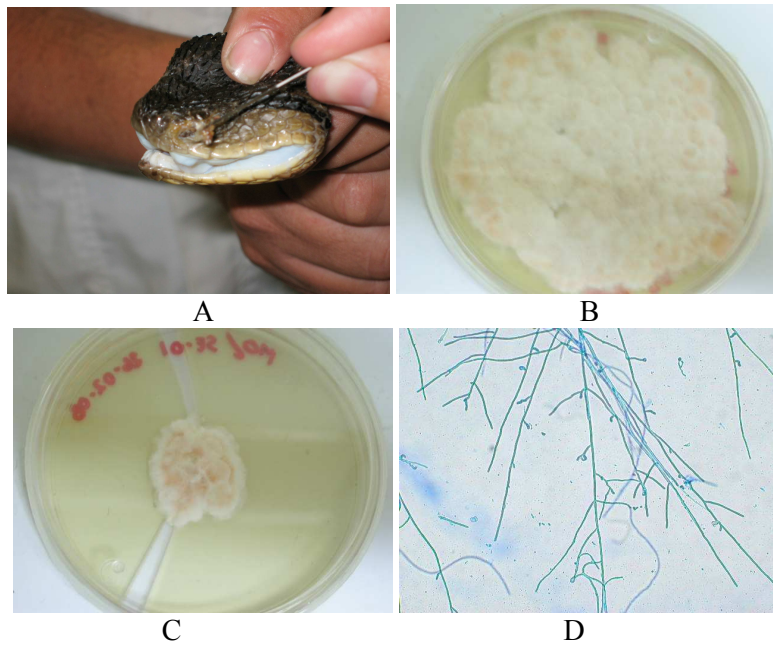
Anexo 17. Tipos de muestra y resultados de los exámenes directos y cultivos de muestras de 14 serpientes

ID	Area muestreada/ Examen realizado	Examen directo	Medio de cultivo	Resultado
SE-01	Raspado foseta loreal	Negativo por hongos	SDA Myc	<i>Verticillium</i> spp. 1 ufc <i>Verticillium</i> spp. 1 ufc
	Hisopado foseta loreal	Negativo por hongos	Myc	<i>Verticillium</i> spp. incontables ufc
SE-02	Hisopado de boca	Negativo por hongos	Myc	Hongo hialino 13 ufc
	Raspado de escamas	Negativo por hongos	SDA Myc	Zigomicete <i>Penicillium</i> spp.
SE-03	Raspado de escamas	Negativo por hongos	SDA	<i>Cladosporium</i> spp. 2 ufc, <i>Penicillium</i> spp. 2 ufc
			Myc	Hongo hialino septado 1 ufc, hongo pigmentado 1 ufc
SE-04	Hisopado de boca	Negativo por hongos	Myc	Hongo hialino 9 ufc, <i>Cladosporium</i> spp.
SE-05	Raspado de escamas	Negativo por hongos	SDA Myc	<i>Cladosporium</i> spp. 1 ufc <i>Penicillium</i> spp. 1 ufc
	Hisopado de lesión	Negativo por hongos	Myc	<i>Cladosporium</i> spp. 18 ufc
SE-06	Raspado de escamas	Negativo por hongos	SDA	<i>Penicillium</i> spp. 2 ufc
			Myc	Negativo
SE-07	Raspado de escamas	Negativo por hongos	SDA	<i>Cladosporium</i> spp. 1 ufc
			Myc	<i>Penicillium</i> spp. 2 ufc
SE-08	Hisopado de boca (estomatitis)	Negativo por hongos	Myc	Negativo
SE-09	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Raspado de escamas	Negativo por hongos	SDA Myc	Negativo Negativo
SE-10	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Negativo
SE-11	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Negativo
			Myc	Negativo
	Hisopado de cloaca	Negativo por hongos	SDA Myc	Negativo Hongo pigmentado 2 ufc
SE-12	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA Myc	<i>Cladosporium</i> spp. 7 ufc Negativo
	Hisopado de cloaca	Negativo por hongos	SDA y Myc	Negativo
	Raspado de escamas	Negativo por hongos	SDA y Myc	Negativo
	Intestino	Negativo por hongos	SDA y Myc	Negativo
	Pulmón	Negativo por hongos	SDA	<i>Mucor</i> spp. incontables ufc

Anexo 17. Tipos de muestra y resultados de los exámenes directos y cultivos de muestras de 14 serpientes (continuación)

ID	Area muestreada/ Examen realizado	Examen directo	Medio de cultivo	Resultado
SE-12	Pulmón	Negativo por hongos	Myc	Hongo hialino 1 ufc
SE-13	Hisopado foseta loreal derecha	Positivo por hifas cenocíticas	SDA y Myc	Negativo
	Hisopado foseta loreal izquierda	Negativo por hongos	SDA Myc	<i>Penicillium</i> spp. 10 ufc Negativo
	Raspado de escamas	Negativo por hongos	SDA Myc	<i>Mucor</i> spp. 1 ufc <i>Aspergillus</i> spp. 5 ufc
	Pulmón	Negativo por hongos	SDA Myc	<i>Cladosporium</i> spp. 3 ufc Negativo
	Páncreas	Negativo por hongos	SDA y Myc	Negativo
SE-14	Hisopado de boca	Levaduras, bacterias y eritrocitos	SDA	Negativo
			Myc	Negativo
	Hisopado de cloaca	Levaduras, bacterias y eritrocitos	SDA	Negativo
			Myc	Negativo
	Raspado de escamas	Negativo por hongos	SDA y Myc	Negativo
	Páncreas	Negativo por hongos	SDA y Myc	Negativo
	Hígado	Negativo por hongos	SDA y Myc	Negativo
	Pulmón	Negativo por hongos	SDA y Myc	Negativo
	Testículo	Negativo por hongos	SDA y Myc	Negativo
Bazo	Negativo por hongos	SDA y Myc	Negativo	
Riñón	Negativo por hongos	SDA y Myc	Negativo	

Anexo 18. *Verticillium* spp. aislado de una serpiente



A) Raspado de la lesión de foseta loreal de una serpiente mano de piedra (*Atropoides mexicanus*). B y C) Aislamientos puros de *Verticillium* spp. y D) Cultivo en lámina.

Anexo 19. Características generales de 12 monos muestreados para estudio micológico

ID Lab	Genero y especie	ID Lugar	Sexo	Madurez sexual	Cautiverio / vida libre	Procedencia	Hallazgos clínicos o historia
MO-01	<i>Alouatta palliata</i> (congo)	No identificado	Macho	Juvenil	Cautiverio	Alajuela	Animal muerto, historia de diarrea sanguinolenta
MO-02	<i>Ateles geoffroyi</i> (araña)	Moncha	Hembra	Adulta	Cautiverio	Heredia	Lesiones circunscritas en piel
MO-03	<i>Cebus capucinus</i> (cara blanca)	Tito	Macho	Adulto	Cautiverio	Heredia	Lesiones circunscritas en piel
MO-04	<i>Alouatta palliata</i> (congo)	No identificado	No definido	Juvenil	Vida libre	No reportado	Animal rescatado, pobre condición corporal
MO-05	<i>Ateles geoffroyi</i> (araña)	Pappy	Hembra	Adulta	Cautiverio	Puntarenas (SSO)	Lesión eritematosa falange 4 miembro anterior derecho
MO-06	<i>Alouatta palliata</i> (congo)	No identificado	Hembra	Juvenil	Cautiverio	Alajuela	Diarrea e inanición
MO-07	<i>Saimiri oersterdii</i> (tití)	No identificado	Hembra	Adulta	Cautiverio	Puntarenas (SSO)	Diarrea, pérdida de peso, debilidad
MO-08	<i>Callithrix jacchus</i> (marmoseta)	No identificado	No definido	Juvenil	Cautiverio	No reportado	Prolapso rectal post defecación
MO-09	<i>Cebus capucinus</i> (cara blanca)	Winky	Hembra	Adulta	Vida libre	Puntarenas (SSO)	Lesión costrosa falange 1 miembro posterior derecho
MO-10	<i>Cebus capucinus</i> (cara blanca)	Sweety	Hembra	Adulta	Vida libre	Puntarenas (SSO)	Animal aparentemente sano
MO-11	<i>Alouatta palliata</i> (congo)	No identificado	Macho	Adulto	Vida libre	Puntarenas (SSO)	Animal aparentemente sano
MO-12	<i>Alouatta palliata</i> (congo)	No identificado	Hembra	Adulta	Vida libre	Puntarenas (SSO)	Animal aparentemente sano

Anexo 20. Tipos de muestras y resultados micológicos e 12 monos

ID Lab	Tipo de muestra	Exámenes Directos	Medio de cultivo	Resultado
MO-01	Biopsia de lengua	Positivo por levaduras del género <i>Candida</i>	SDA	Positivo por <i>Candida albicans</i> incontables ufc*
	Hisopado de esófago	Positivo por levaduras del género <i>Candida</i>	SDA	Positivo por <i>Candida albicans</i> incontables ufc*
MO-02	Raspado de piel	Negativo		No realizado
MO-03	Raspado de piel	Positivo por micelio artrosporado		No realizado
MO-04	Hisopado de oído derecho	Negativo	Myc	Negativo
	Hisopado de oído izquierdo	Negativo	Myc	Negativo
	Hisopado de boca	Negativo	Myc	Negativo
MO-05	Biopsia de piel	Negativo	Myc	<i>Penicillium</i> spp. 1 ufc
MO-06	Hisopado de oído derecho	Negativo	Myc	<i>Penicillium</i> spp.
	Hisopado de oído izquierdo	Negativo	Myc	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Cladosporium</i> spp. incontables ufc
MO-07	Hisopado de boca	Negativo	Myc	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo	Myc	Negativo
	Hisopado de oído izquierdo	Negativo	Myc	Negativo
	Moqueta		Myc	Hongo negro no id 2 ufc, <i>Zygomycete</i> 1 ufc
MO-08	Hisopado de boca	Negativo	SDA	<i>Mucor</i> spp. 1 ufc, <i>Zygomycete</i> 2 ufc
	Hisopado de oído derecho	Negativo	SDA	Hongo negro no id 7 ufc
	Hisopado de oído izquierdo	Negativo	SDA	<i>Aspergillus</i> spp. 2 ufc <i>Aspergillus</i> spp. 2 ufc, <i>Zygomycete</i> 1 ufc
	Moqueta		Myc	
MO-09	Raspado de piel	No realizado	Myc	Negativo
	Moqueta		Myc	<i>Cladosporium</i> spp. 27 ufc, <i>Zygomycete</i> 2 ufc, <i>Penicillium</i> spp. 2 ufc, <i>Aspergillus</i> spp. 2 ufc
MO-10	Moqueta		Myc	<i>Aspergillus</i> spp. 1 ufc, <i>Cladosporium</i> spp. incontables ufc
MO-11	Moqueta		Myc	<i>Penicillium</i> spp. incontables ufc, <i>Aspergillus</i> spp 7 ufc
MO-12	Moqueta		Myc	<i>Penicillium</i> spp. incontables ufc, <i>Aspergillus</i> spp 2 ufc

Anexo 21. Características generales de 12 aves adultas para estudio micológico

ID Lab	Genero y especie	ID Lugar	Sexo	Cautiverio / vida libre	Procedencia	Hallazgos clínicos o historia
AVE-01	<i>Amazona auropalliata</i> (copete amarillo)	No id	ND	Cautiverio	Alajuela	Disnea, inanición, erizamiento de las plumas
AVE-02	<i>Amazona autumnalis</i> (copete rojo)	Cocora	ND	Cautiverio	Alajuela	Secreciones nasales, leve disnea, hipovitaminosis A, metaplasia escamosa de las células epiteliales respiratorias
AVE-03	<i>Amazona autumnalis</i> (copete rojo)	Lorito	Macho	Cautiverio	Alajuela	Afección respiratoria, obstrucción de las narinas, estertores secos pulmonares
AVE-04	<i>Bubo virginianus</i> (lechuza, búho)	No id	ND	Vida Libre	Alajuela	Fractura de ala
AVE-05	<i>Ara macao</i> (lapa roja)	No id	ND	Cautiverio	Puntarenas (SSO)	Animal aparentemente sano
AVE-06	<i>Ara macao</i> (lapa roja)	No id	ND	Cautiverio	Puntarenas (SSO)	Animal aparentemente sano
AVE-07	<i>Ara macao</i> (lapa roja)	No id	ND	Cautiverio	Puntarenas (SSO)	Animal aparentemente sano
AVE-08	<i>Ara macao</i> (lapa roja)	No id	ND	Cautiverio	Puntarenas (SSO)	Animal aparentemente sano
AVE-09	<i>Amazona auropalliata</i> (copete amarillo)	No id	ND	Cautiverio	San José	No hay datos sobre condición del animal
AVE-10	<i>Ara macao</i> (lapa roja)	No id	ND	Cautiverio	Alajuela	Amputación de ala por fractura
AVE-11	<i>Amazona farinosa</i> (copete negro)	Pot	Hembra	Cautiverio	Alajuela	Distensión del buche, decaído, heces acuosas, pérdida de peso. Tx con Nistatina y Fluconazol, porque tenía levaduras
AVE-12	<i>Ara ambigua</i> (lapa verde)	No id	Macho	Cautiverio	Puntarenas	Muerte súbita, sospecha de micotoxinas

Anexo 22. Tipos de muestras y resultados de estudio micológico en 12 aves silvestres adultas

ID Lab	Tipo de muestra	Directos	Medio de cultivo	Resultado
AVE-01	Lavado de sacos aéreos	Presencia de bacilos y una macroconidia pigmentada	SDA	Negativo por hongos, crecimiento bacteriano
			Myc	Negativo por hongos, crecimiento bacteriano
AVE-02	Lavado de sacos aéreos	Abundantes bacilos	SDA	Negativo por hongos, crecimiento bacteriano
			Myc	Negativo por hongos, crecimiento bacteriano
AVE-03	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Lavado nasal	Negativo por hongos, bacterias	SDA	Negativo
	Moqueta		Myc	Negativo
AVE-04	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Negativo por hongos, crecimiento bacteriano
	Hisopado de cloaca	Negativo por hongos	SDA	Negativo
AVE-05	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Negativo por hongos, crecimiento bacteriano
	Hisopado de cloaca	Negativo por hongos	SDA	<i>Penicillium</i> spp. 6 ufc <i>Penicillium</i> spp. 1 ufc, <i>Cladosporium</i> spp. 1 ufc, Zigomicete incontables ufc
	Moqueta		Myc	
AVE-06	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Negativo por hongos, crecimiento bacteriano
	Hisopado de cloaca	Hifa septada	SDA	<i>Aspergillus flavus</i> 3 ufc <i>Cladosporium</i> spp. 10 ufc, <i>Penicillium</i> spp. 1 ufc, Zygomycete incontables ufc
	Moqueta		Myc	
AVE-07	Hisopado de boca	Negativo por hongos, bacterias	SDA	Negativo por hongos, crecimiento bacteriano
	Hisopado de cloaca	Hifa septada	SDA	<i>Penicillium</i> spp. 7 ufc
	Moqueta		Myc	<i>Penicillium</i> spp. incontables ufc
AVE-08	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Negativo por hongos, crecimiento bacteriano
	Hisopado de cloaca	Hifas septadas	SDA	Hongo pigmentado incontables ufc
	Moqueta		Myc	<i>Penicillium</i> spp. 7 ufc, Zygomycete incontables ufc

Anexo 22. Tipos de muestras y resultados de estudio micológico en 12 aves silvestres adultas (continuación)

ID Lab	Tipo de muestra	Directos	Medio de cultivo	Resultado
AVE-09	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Negativo por hongos, crecimiento bacteriano
	Hisopado de cloaca	Negativo por hongos	SDA	<i>Penicillium</i> spp. 1 ufc
	Moqueta		Myc	<i>Penicillium</i> spp. 1 ufc, Zigomicete 1 ufc
AVE-10	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Hisopado de cloaca	Negativo por hongos	SDA	<i>Aspergillus clavatus</i> incontables ufc, <i>Rhodotorula</i> spp. 7 ufc
	Moqueta		Myc	<i>Cladosporium</i> spp. incontables ufc, <i>Penicillium</i> spp. incontables ufc, levadura incontables ufc
AVE-11	Aspirado de buche	Positivo por levaduras	SDA	Negativo
AVE-12	Hisopado de boca	Negativo por hongos, presencia de bacterias	SDA	Levaduras incontables ufc
	Hisopado de cloaca	Negativo por hongos	SDA	Levaduras incontables ufc
	Hisopado de esófago	Negativo por hongos, presencia de bacilos y células redondas	SDA	Levaduras incontables ufc
	Hisopado de cavidad torácica	Negativo por hongos, presencia de cocos	SDA	Levaduras incontables ufc
	Biopsia de hígado	Negativo por hongos	SDA	Levaduras incontables ufc
	Biopsia de pulmón	Hifas hialinas septadas	SDA	Levaduras incontables ufc, Zigomicete 2 ufc
	Biopsia de riñón	Negativo por hongos	SDA	Levaduras incontables ufc
	Moqueta		Myc	Hongo hialino 20 ufc, hongo pigmentado 1 ufc

Anexo 23. Características generales de las iguanas verdes (*Iguana iguana*) cautivas muestreadas para estudio micológico

ID Lab	ID Lugar	Sexo	Madurez sexual	Procedencia	Hallazgos clínicos o historia
IG-01	1	Macho	Adulto	Alajuela (ECAG)	Lesiones tipo placa en el dorso y circunscrita descamativa en el miembro posterior izquierdo
IG-02	2	Macho	Adulto	Alajuela (ECAG)	Lesiones tipo placa color naranja en el dorso
IG-03	4	Hembra	Adulto	Alajuela (ECAG)	Lesión blanquecina no circunscrita cerca de la axila
IG-04	5	Macho	Adulto	Alajuela (ECAG)	Lesión blanquecina no circunscrita cerca de la axila
IG-05	6	Hembra	Adulto	Alajuela (ECAG)	Lesión blanquecina circunscrita en miembro posterior izquierdo
IG-06	No id	Hembra	Adulto	Heredia	Depresión, anorexia, deshidratación
IG-07	No id	No definido	Juvenil	Heredia	Animal aparentemente sano
IG-08	Mary	No definido	Juvenil	Alajuela	Animal aparentemente sano

Anexo 24. Resultados de los exámenes directos y cultivos de raspado de escamas e hisopados de mucosas de iguanas verdes cautivas

ID Lab	Tipo de muestra	Examen directo	Medio de cultivo	Resultado
IG-01	Raspado de lesión Miembro posterior izquierdo	Micelio septado fuliginoso, macroconidias pigmentadas	SDA Myc	Zygomycete 2 ufc Negativo
	Raspado de lesión de dorso	Negativo	SDA Myc	Zygomycete 3 ufc Negativo
IG-02	Raspado de lesión de dorso	Macroconidias pigmentadas	AS Myc	<i>Curvularia</i> spp. 2 ufc Negativo
IG-03	Raspado de lesión axila	Negativo	SDA Myc	Hongo negro no id, Zygomycete 1 ufc <i>Geotrichum</i> spp.
IG-04*	Raspado de lesión axila	Micelio septado fuliginoso	SDA Myc	<i>Cladosporium</i> spp. 2 ufc, Zygomycete 1 ufc Negativo
IG-05	Raspado de lesión MPI	Micelio septado fuliginoso	SDA Myc	Negativo Negativo
IG-06	Hisopado de boca	Negativo	Myc	<i>Penicillium</i> spp. incontables ufc
	Hisopado de cloaca	Negativo	Myc	<i>Penicillium</i> spp. 3 ufc, <i>Rhodotorula</i> spp. 2 ufc
IG-07	Hisopado de boca	Negativo	SDA	Negativo
IG-08	Hisopado de boca	Estructura similar con balistospora	SDA	Negativo
	Hisopado de cloaca	Negativo	SDA	Negativo

* Se encontró 2 garrapatas *Amblyoma* spp

Anexo 25. Características generales de otros 12 animales muestreados para estudio micológico

ID Lab	Genero y especie	ID Lugar	Sexo	Madurez sexual	Cautiverio / vida libre	Procedencia	Hallazgos clínicos o historia
PI-01	<i>Nasua narica</i> (pizote)	German	Macho	Juvenil	Vida libre	Heredia	Lesión circunscrita, alopecica y costrosa en la cabeza
PI-02	<i>Nasua narica</i> (pizote)	No id	Macho	Juvenil	Vida libre	Puntarenas	Lesión circunscrita, alopecica y costrosa en la cara
MA-01	<i>Procyon lotor</i> (mapache)	No id	Macho	Adulto	Vida libre	No reportado	No hay datos clínicos
MA-02	<i>Procyon lotor</i> (mapache)	No id	Macho	Adulto	Vida libre	No reportado	Animal muerto con lesiones en una pata y en la boca
ZO-01	<i>Urocyon cinereoargenteus</i> (zorro plateado)	No id	Macho	Adulto	Vida libre	Heredia	Probablemente intoxicado, muerte por broncoaspiración
ZO-02	<i>Didelphis marsupialis</i> (zorro pelón, zarigüeya)	No id	Hembra	Adulto	Vida libre	San José	Signos nerviosos, lesión sangrante en cola, golpe en ojo izquierdo
FE-01	<i>Leopardus pardalis</i> (manigordo)	No id	Macho	Adulto	Vida libre	No reportado	Animal atropellado, cirugía ortopédica
FE-02	<i>Leopardus wiedii</i> (causel)	No id	Macho	Adulto	Cautiverio	Heredia (INBio)	Muerte súbita, lesiones alopecicas en dorso
DE-01	<i>Stenella coeruleoalba</i> (Delfin rayado)	No id	Macho	Adulto	Vida libre	Puntarenas	Animal encalla y luego muere
DE-02	<i>Stenella attenuata</i> (Delfin manchado)	No id	Macho	Adulto	Vida libre	Puntarenas	Animal encalla y luego muere
CA-01	<i>Caiman crocodrilus</i> (caimán)	No id	Macho	Adulto	Cautiverio	Heredia (INBio)	Animal muerto, historia de problemas respiratorios
AR-01	<i>Scirius variegatoides</i> (ardilla)	No id	Macho	Adulto	Vida libre	Heredia	Animal muerto por atropello

Anexo 26. Tipo de muestra y resultados de estudio micológico en otros 12 animales silvestres

ID Lab	Tipo de muestra	Directos	Medio de cultivo	Resultado
PI-01	Raspado de piel de la cabeza	Negativo por hongos	Myc	<i>Chaetomium</i> spp. 1 ufc, <i>Penicillium</i> spp. 1 ufc
	Raspado de piel de la cara lado derecho	Negativo por hongos	Myc	<i>Candida</i> spp. 3 ufc
	Raspado de piel del miembro anterior derecho	Positivo por micelio artrosporado	Myc	<i>Candida</i> spp. 6 ufc
	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	<i>Candida</i> spp., <i>Malassezia pachydermatis</i>
	Hisopado de oído derecho	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	<i>Malassezia pachydermatis</i> 5 ufc
	Hisopado de oído izquierdo	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	<i>Malassezia pachydermatis</i> incontables ufc
	Moqueta		Myc	Hongo pigmentado 7 ufc, hongo hialino 1 ufc
PI-02	Raspado de piel de la cara	Negativo por hongos	Myc	Negativo
MA-01	Hisopado de oído derecho	Negativo por hongos	Myc	<i>Candida albicans</i> 5 ufc*
	Hisopado de oído izquierdo	Negativo por hongos, bacterias +++	Myc	<i>Candida albicans</i> 20 ufc*
MA-02	Raspado lesión de una pata	Negativo por hongos	SDA Myc	Zigomicete incontables ufc Levaduras
	Raspado lesión boca	Negativo por hongos	SDA Myc	Zigomicete incontables ufc Levaduras
	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Levadura incontables ufc
	Hisopado oído derecho	Negativo por hongos	SDA	<i>Penicillium</i> spp. incontables ufc
	Hisopado oído izquierdo	Negativo por hongos	SDA	<i>Aspergillus</i> spp. incontables ufc
	Biopsia de pulmón	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Biopsia de cerebro	Negativo por hongos	SDA	Negativo <i>Aspergillus terreus</i> 1 ufc, <i>Penicillium</i> spp. 2 ufc, Hongo pigmentado 5 ufc, hongo hialino 1 ufc
	Moqueta		Myc	

Anexo 26. Tipo de muestra y resultados de estudio micológico en otros 12 animales silvestres (continuación)

ID Lab	Tipo de muestra	Directos	Medio de cultivo	Resultado
ZO-01	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Hisopado de oído izquierdo	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Biopsia de cerebro	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Biopsia de pulmón	Negativo por hongos	SDA	Negativo
ZO-02	Hisopado de boca	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	Myc	Negativo
	Hisopado de oído derecho	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	Myc	Negativo
	Hisopado de oído izquierdo	Negativo por hongos, bacterias	Myc	Negativo
FE-01	Hisopado de boca	Negativo por hongos	Myc	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo por hongos	Myc	Negativo
	Hisopado de oído izquierdo	Negativo por hongos	Myc	Negativo
FE-02	Hisopado de boca	<i>Malassezia pachydermatis</i> +	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo por hongos, bacterias +++	SDA	Negativo por hongos, crecimiento bacteriano
	Hisopado de oído izquierdo	Negativo por hongos	SDA	Negativo por hongos, crecimiento bacteriano
	Raspado de piel**	Negativo por hongos	Myc	<i>Microsporium gypseum</i> 1 ufc
	Biopsia de pulmón	Negativo por hongos	Myc	Negativo
	Biopsia de esófago	Negativo por hongos	Myc	Negativo
DE-01	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Hongo hialino 1 ufc
	Hisopado de espiráculo	Negativo por hongos	SDA	Negativo

Anexo 26. Tipo de muestra y resultados de estudio micológico en otros 12 animales silvestres (continuación)

ID Lab	Tipo de muestra	Directos	Medio de cultivo	Resultado
DE-01	Hisopado de ano	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Biopsia de piel	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Biopsia de cerebro	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Biopsia de pulmón	Negativo por hongos	SDA	<i>Aspergillus</i> spp. 1 ufc
DE-02	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	<i>Aspergillus</i> spp.
	Hisopado de espiráculo	Negativo por hongos	SDA	<i>Cladosporium</i> spp.
	Hisopado de ano	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Biopsia de piel	Negativo por hongos	SDA	<i>Aspergillus</i> spp.
			Myc	Negativo
	Biopsia de cerebro	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Biopsia de pulmón	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Biopsia de corazón	Negativo por hongos	SDA	<i>Trichosporon</i> spp 1 ufc
CA-01	Biopsia de piel	Negativo por hongos	SDA	<i>Fusarium</i> spp. 1 ufc, Hongo hialino 1 ufc
			Myc	<i>Penicillium</i> spp. 1 ufc
	Biopsia de pulmón***	Negativo por hongos	SDA	Zygomycete 2 ufc
			Myc	Hongo hialino 2 ufc
AR-01	Hisopado de boca	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Hisopado de oído derecho	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Hisopado de oído izquierdo	Negativo por hongos	SDA	Negativo
	Hisopado de secreción peneana	Negativo por hongos	SDA y Myc	Negativo
	Moqueta		Myc	Negativo

* Tubo germinativo y clamidosporación terminal en agar harina de maíz con tween 80 positivos

** Histopatología: dermatitis alérgica

***Histopatología compatible, cultivo en lámina