



Universidad del
Rosario



**CENTRO DE INVESTIGACIONES EN MICROBIOLOGÍA Y
BIOTECNOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DEL ROSARIO**

**Caracterización de la microbiota eucariota en chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*) del
departamento de Casanare, Colombia**

Jorge Arturo Marín Sánchez

Universidad del Rosario

Facultad de Ciencias Naturales

Programa de Biología

Bogotá D.C., Colombia

2024

Caracterización de la microbiota eucariota en chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*) del departamento de Casanare, Colombia

Jorge Arturo Marín Sánchez

Trabajo de grado para obtener el título de:

Biólogo

Director:

Juan David Ramírez González, Ph.D

Codirectora:

Marina Muñoz Díaz, Ph.D

Universidad del Rosario

Facultad de Ciencias Naturales

Programa de Biología

Bogotá D.C., Colombia 2024

Caracterización de la microbiota eucariota en chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*) del departamento de Casanare, Colombia

Jorge Arturo Marín Sánchez, Valentina Acevedo Ramírez, Plutarco Urbano, Marina Muñoz Díaz y Juan David Ramírez

Centro de Investigaciones en Microbiología y Biotecnología-UR (CIMBIUR), Facultad de Ciencias Naturales, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia.

Resumen

La investigación de la microbiota en organismos silvestres se vuelve crucial, especialmente con la creciente interacción humana. El desarrollo de las actividades antropogénicas resalta la importancia de comprender la composición de microorganismos eucariotas en hospederos y ambientes, dado su potencial como agentes patógenos y su riesgo para la salud. Este estudio se enfoca en la caracterización de microorganismos eucariotas en chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de Casanare, Colombia, utilizando 18 muestras pareadas de hisopados anales y bucales de individuos de los municipios de Trinidad y Paz de Ariporo. Se secuenció un fragmento del gen ribosomal 18S-rRNA que abarcaba las regiones hipervariables V4 hasta un fragmento de V7. Utilizando la herramienta de asignación taxonómica Kraken2, se identificó la presencia de microorganismos como *Lomentospora prolificans*, *Trypanosoma cruzi*, *Coccidioides posadasii*, *Eimeria necatrix*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Fusarium oxysporum*, *Neurospora crassa*, *Penicillium rubens*, *Phytophthora palmivora*, *Sarcocystis neurona*, entre otros. Se identificó una baja diversidad de especies con una alta dominancia de pocas unidades taxonómicas. La presencia de estos microorganismos en las muestras analizadas se atribuye a la interacción del chigüiro con agentes portadores externos y al entorno ambiental en el que estos animales habitan. Este enfoque taxonómico proporciona una comprensión profunda de las comunidades de eucariotas asociadas con los chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en la región, destacando organismos de alta relevancia para la salud animal y humana. Los hallazgos confirman el papel de estos roedores como posibles transmisores de organismos patógenos con potencial zoonótico y contribuye a la ecoepidemiología de organismos silvestres, especialmente de los chigüiros (*H. hydrochaeris*)

Abstract

Investigating the microbiota in wildlife organisms has become increasingly important due to rising human interaction. The surge in anthropogenic activities emphasizes the need to comprehend the composition of eukaryotic microorganisms in these microbiomes, given their potential as pathogenic agents and their implications for human health. This study is specifically focused on characterizing eukaryotic microorganisms in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from Casanare, Colombia. We utilized 18 anal and 18 buccal swab samples from individuals in the municipalities of Trinidad and Paz de Ariporo. A fragment of the 18S-rRNA ribosomal gene, spanning from the hypervariable regions V4 to a portion of V7, was sequenced. Using the taxonomic assignment tool Kraken2, the presence of microorganisms such as *Lomentospora prolificans*, *Trypanosoma cruzi*, *Coccidioides posadasii*, *Eimeria necatrix*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Fusarium oxysporum*, *Neurospora crassa*, *Penicillium rubens*, *Phytophthora palmivora*, *Sarcocystis neurona*, among others, was identified. A clear pattern of low species diversity with distinct dominance among them emerged from our analysis. The presence of these microorganisms in the examined samples is attributed to the capybara's interaction with external carrier agents and the environmental surroundings in which these animals inhabit. This taxonomic approach provides a deeper understanding of the eukaryotic microbial community associated with capybaras (*H. hydrochaeris*) in the region, highlighting organisms of high relevance to animal and human health. The findings confirm the role of these rodents as potential carriers of pathogenic organisms with zoonotic potential and contribute to the ecoepidemiology of wildlife organisms, especially capybaras (*H. hydrochaeris*).

Palabras clave

Microrganismos eucariotas, Enfermedades zoonóticas, patógenos, Herramientas de secuenciación de última generación

Keywords

Eukaryotic microorganisms, zoonotic diseases, pathogens, next-generation sequencing technologies

INTRODUCCIÓN

La microbiota engloba una variedad de microorganismos, como bacterias, protistas, arqueas, hongos y virus (Lozupone et al., 2012; Belkaid & Hand, 2014). Estos organismos residen en diversos entornos como suelo, agua y superficies urbanas, e incluso en organismos multicelulares (Kruse et al., 2004). Su clasificación se basa en factores como la estructura celular (eucariotas o procariotas) y su relación con los seres vivos con los que interactúan (comensales, mutualistas o patógenos) (Taylor et al., 2006; Alarcón et al., 2016).

La investigación de la microbiota se ha convertido en un campo esencial en la convergencia de la salud humana y animal, revelando la intrincada red de microorganismos (Frick et al., 2010). Aunque la atención se ha centrado principalmente en los organismos procariotas debido a su abundancia y sus notables impactos en la salud de sus hospederos, así como por sus aplicaciones innovadoras, se reconoce la importancia de ampliar los conocimientos sobre el papel de los microorganismos eucariotas en diversos contextos (Arce et al., 2022).

Las comunidades de eucariotas incluyen organismos de los reinos fungi, protista y algunos helmintos que coexisten en el mismo entorno (Parfrey et al., 2011). Este grupo de organismos ha suscitado un interés significativo debido a su impacto directo en la salud de los hospederos y su potencial transmisión zoonótica (Berrilli et al., 2012). Dentro de esta categorización taxonómica, se encuentran organismos con la capacidad de generar diversos efectos benéficos. Por ejemplo, especies del género *Penicillium* han sido fundamentales en la síntesis de agentes antimicrobianos, como la penicilina (Ziemons et al., 2017), y ciertas microalgas se utilizan en la producción de compuestos farmacéuticos y vacunas (Jiji et al., 2023). Sin embargo, es crucial reconocer que en esta clasificación también coexisten microorganismos que pueden desencadenar y propagar enfermedades. Hongos como *Histoplasma* y *Blastomyces* pueden representar un riesgo para la salud humana cuando sus esporas son inhaladas, lo que puede resultar en infecciones respiratorias graves (McBride et al., 2017). A su vez, dentro de esta variedad de enfermedades se encuentran las enfermedades zoonóticas causadas principalmente por parásitos eucariotas.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades zoonóticas son aquellas que se transmiten entre animales y humanos. Algunos ejemplos de parásitos con potencial zoonótico se encuentran protozoos y helmintos, como *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium falciparum*, *Taenia*

solium y *Fasciola hepatica*, entre otros (Chomel & Sun, 2011). Estos parásitos pueden infectar a humano y una amplia variedad de animales, y su transmisión puede ocurrir por diferentes vías, como el consumo de alimentos y agua contaminados, la picadura de artrópodos (vectores), contacto directo con animales infectados y sus heces, entre otros (Garcia et al., 2010).

Entre los agentes fundamentales en la propagación de estos microorganismos se encuentran los hospedadores vinculados a su ciclo de vida, ya sean vectores (reservorios o portadores), hospedadores accidentales o definitivos (Ebert, 2005). Desde mamíferos domésticos como el *Felis catus* (gato común), que puede actuar como hospedero definitivo de *Toxoplasma gondii* (Elmore et al., 2011), hasta animales silvestres como el chigüiro (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Este roedor de gran tamaño, adaptado a la vida acuática, es endémico de los llanos sudamericanos. Presenta un cuerpo robusto y compacto con patas cortas que le permiten desplazarse ágilmente, tanto en tierra como en agua. Capaz de consumir grandes cantidades de pasto y hojas de árboles y arbustos, el chigüiro puede alcanzar una longitud de hasta 1,3 metros y pesar hasta 66 kg (Pineda et al., 2020). Vive en grupos sociales liderados por una hembra, construyendo madrigueras cerca de ríos o cuerpos de agua. A pesar de ser una fuente significativa de proteína para las poblaciones locales, lo que ha llevado a su caza y cría en cautiverio, el chigüiro (*H. hydrochaeris*) ha sido objeto de estudios en diversas áreas de la biología, como ecología, genética, fisiología y conservación, debido a su importancia ecológica y cultural (Aldana et al., 2007).

Un factor ecoepidemiológico relevante asociado a este roedor es su interacción con animales de producción, también conocidos como animales de granja (Hassell et al., 2017). En las comunidades de chigüiro (*H. hydrochaeris*) en Casanare, Colombia, coexisten con ganado bovino, siendo la competencia por forraje en épocas secas y las interacciones relacionadas con los hábitats acuáticos del chigüiro, como el consumo de agua, dos de los aspectos claves en la transmisión de patógenos (Aldana et al., 2007). A pesar de la importancia de esta interacción, se han realizado pocos estudios relacionados con la microbiota eucariota de los chigüiros y su potencial transmisión zoonótica a los humanos. Uno de los pocos estudios en este contexto fue llevado a cabo por Thomas et al. en 2021. Este estudio identificó y analizó la diversidad de parásitos intestinales presentes en las heces de 14 chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de una región del Meta, Colombia. Los resultados destacaron el papel epidemiológico de la transmisión de patógenos zoonóticos de este mamífero,

al detectar nematodos como *Strongyloides* spp. y *Trichostrongylus* spp., céstodos como *Taenia* spp., y protozoos como *Eimeria* spp. y *Giardia* spp.

Otro estudio relevante realizado por Uribe et al. en 2021, utilizó diversas técnicas, incluyendo análisis macroscópicos, técnicas copro-microscópicas estándar, copro-ELISA, PCR y análisis filogenéticos, revelando la presencia de trece taxa de parásitos. Estos hallazgos son datos de referencia importantes para el futuro monitoreo de parásitos zoonóticos derivados de la vida silvestre, exigiendo investigaciones adicionales sobre la salud y el impacto ecológico de los chigüiros.

Debido al consumo de carne de chigüiro por las poblaciones del Casanare y a las interacciones con los animales de granja de la zona, resulta crucial abordar el vacío de conocimiento existente mediante investigaciones exhaustivas. Estas investigaciones facilitarán una comprensión profunda de la interacción entre la microbiota eucariota y los chigüiros en el departamento de Casanare, Colombia. Este enfoque se alinea con el objetivo fundamental de este estudio, que busca caracterizar detalladamente la microbiota eucariota presente en estos roedores a partir de muestras de hisopados bucales y anales. Dicho análisis no solo contribuye al conocimiento científico sobre la diversidad microbiana en chigüiros, sino que también permite identificar posibles riesgos para la salud pública asociados con la transmisión zoonótica de microorganismos en el ecosistema de Casanare.

METODOLOGÍA

Colecta de muestras.

Se recolectaron un total de 36 muestras, 18 de hisopados anales y 18 de hisopados bucales, de la única especie de chigüiro (*Hydrochoerus hydrochaeris*) registrada hasta el momento en la región del Casanare (Pineda et al., 2020). La recolección de muestras se realizó durante el mes de marzo de 2023 en los municipios de La Trinidad y Paz de Ariporo, ubicados en Casanare, Colombia (Figura 1). Se recolectaron muestras de 9 individuos en cada uno de los municipios. Los 18 individuos fueron capturados mediante el método conocido como el enlazado a caballo; posteriormente, se sedaron con Ketamina buscando no aumentar los niveles de estrés del animal, y mediante hisopos se recolectaron las muestras realizando el raspado correspondiente (Salas et al.

2004). Para su almacenamiento las muestras se dispusieron en *ependorf* con RNAlater (en una proporción uno a uno). Este estudio fue aprobado por el comité de ética de la Universidad Internacional del Trópico Americano y las muestras se colectaron bajo el permiso marco de la ANLA de esta institución, ajustándose a los parámetros del comité de ética de la Universidad del Rosario.

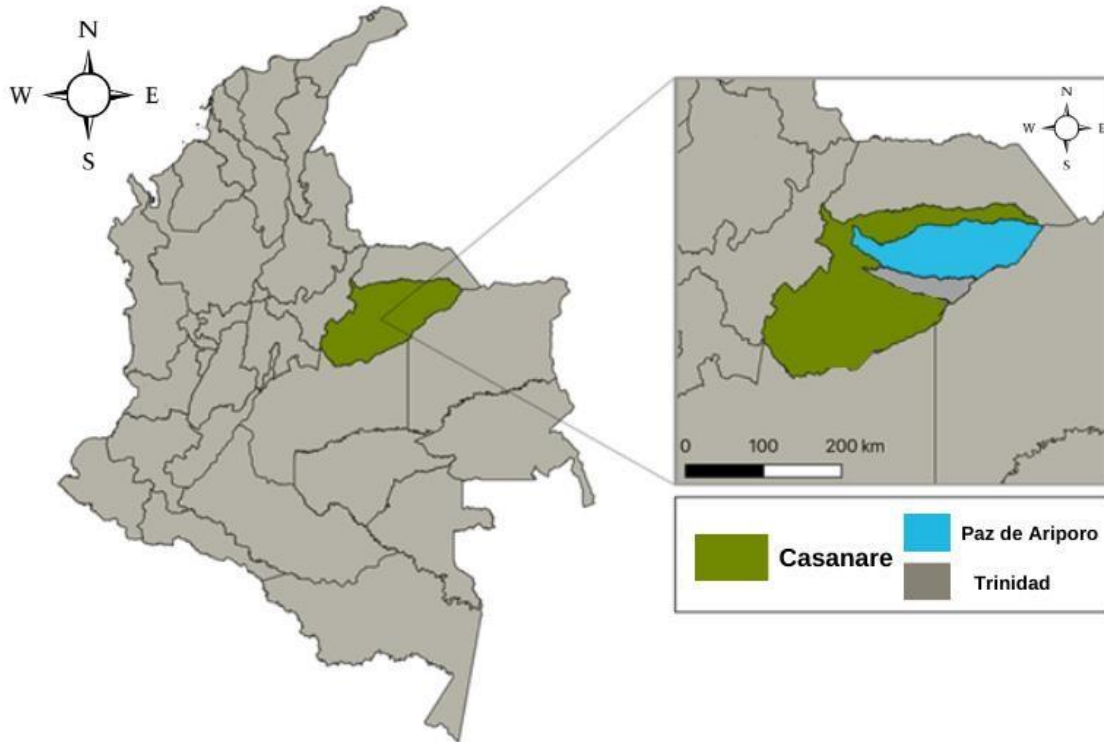


Figura 1: Mapa de Colombia; especificación de la ubicación geográfica de los municipios de muestreo

Extracción de ADN

Se emplearon métodos distintos para la extracción de material genético. Para las 18 muestras de saliva se dispuso del el kit Quick Extract DNA Solution (Lucigen®), mientras que para las 18 muestras de hisopados anales se utilizó el kit Genomic DNA Isolation (Norgene® Cat: 24700). Se llevaron a cabo todas las extracciones siguiendo las indicaciones proporcionadas por los fabricantes de cada uno de los kits.

Amplificación de muestras y control de la calidad de ADN

Se realizó una PCR usando los cebadores 18S-566F 5'- CAGCAGCCGCGGTAATTCC-3' (directo) y 18S-1289F 5'-ACT AAG AAC GGC CAT GCA CC-3' (reverso), que amplifican una sección del gen ribosomal 18S-rRNA de aproximadamente 723 pb que abarca las regiones hipervariables desde la V4 hasta un fragmento de la V7 (Hadziavdic et al., 2014). Se emplearon estas regiones y estos iniciadores debido a su alta variabilidad entre especies eucariotas (regiones hipervariables), lo que facilita una identificación precisa de las mismas (Herrera et al., 2021). Además, estas regiones están presentes en múltiples copias en el genoma de parásitos y hongos al ser parte del gen ribosomal, lo que aumenta la sensibilidad para detectar la presencia de estos organismos en muestras biológicas (Choi et al., 2020). Cada una de estas etapas se llevó a cabo a las temperaturas estándar predeterminadas del protocolo de PCR tradicional. Inicialmente, se realizó una fase de desnaturalización a 94°C durante 30 segundos, seguida de 30 ciclos que incluyeron una etapa de desnaturalización a 94°C por 30 segundos, un apareamiento a 54.6°C durante un minuto, y una extensión a 65°C por 10 segundos. La última etapa abarcó una extensión final con una duración de 10 minutos a 65°C. Después de esto, se optó por repetir la reacción de amplificación utilizando los mismos cebadores y el mismo protocolo de PCR, con la variante de diluir el amplicón 1:10 (1 µL de muestra en 9 µL de agua). La decisión de realizar una segunda amplificación se tomó con el propósito de aumentar la cantidad de ADN del amplicón a secuenciar, dado que la concentración inicial obtenida fue baja. Para la evaluación de la concentración y la calidad de los productos amplificados se utilizó el Espectrofotómetro de microvolúmenes de UV-Vis: Thermo Scientific™ NanoDrop™ One Microvolume UV-Vis Spectrophotometers. Como último paso antes de la secuenciación, se llevó a cabo una prueba de electroforesis en gel de agarosa para verificar la amplificación de la región de interés (723pb).

Secuenciación de muestras mediante Oxford Nanopore Technologies (ONT).

Los fragmentos genéticos amplificados fueron sometidos a secuenciación a través de Oxford Nanopore Technologies. Para cada muestra, se utilizó el ONT Barcode Kit (SQK-NBD196) para asignar un código de barras. A continuación, se procedió a la construcción de la librería, uniéndola con adaptadores mediante el kit ONT SQK-LSK109. El proceso de secuenciación se llevó a cabo

en un ONT MinION, utilizando celdas de flujo R.9.4 y el software MinKnow V.23.07.15 (Oxford Nanopore Technologies, 2024).

Análisis de datos

Análisis bioinformático

En la primera etapa, se llevó a cabo un basecalling Super Accuracy (SUP) ($Q > 10$) utilizando el comando “guppy_basecaller”, el cual procesa las señales eléctricas generadas durante la secuenciación de nanoporos, transformándolas en secuencias de bases de ADN (Jain et al., 2016). Luego, se realizó el demultiplexing mediante el comando “guppy_barcode”, que analiza y asigna las secuencias a las muestras originales considerando los códigos de barras asociados (Barcodes). En una tercera fase, se concatenaron los códigos de barras por muestra mediante el comando “cat”, generando archivos Fastaq que se utilizaron en los pasos siguientes. Se llevó a cabo un control de calidad de las muestras utilizando NanoStat v1.5.0 (Siregar et al., 2021), donde se observó que la calidad de las lecturas se mantuvo en un rango de 8 a 10 ajustándose a valores apropiados para la plataforma de secuenciación (De Coster et al., 2018). Durante este proceso se determinó el uso de las 18 muestras pareadas de hisopado anal y bucal, específicamente por alcanzar un umbral mínimo de 8000 lecturas por muestra. Se empleó este valor considerando aquellas limitaciones y sesgos en el análisis de secuencias de amplicones del 18S rRNA para caracterizar comunidades microbianas (Tedersoo et al., 2015). Posteriormente, se procedió a la asignación taxonómica utilizando la herramienta Kraken2 v2.0.7-beta (Lu et al., 2022) con la base de datos “eupath”. El índice de la base de datos fue construido utilizando secuencias del proyecto EuPathDB, un consorcio de bases de datos bioinformáticas que proporciona recursos y herramientas para analizar datos genómicos de patógenos eucariotas, con un enfoque especial en aquellos que afectan a humanos y otros organismos (Warrenfeltz et al., 2018). Finalmente, se empleó la interfaz de Pavian (<https://fbreitwieser.shinyapps.io/pavian/>) para visualizar los resultados de clasificación metagenómica de clasificadores y descárgalos en un formato compatible con RStudio.

Análisis Descriptivos y Estadísticos

Utilizando RStudio versión 4.3.0 y los paquetes "phyloseq v1.46.0", "microbiome v1.24.0" y "Vegan v2.6-4", se llevaron a cabo análisis descriptivos y estadísticos de la microbiota eucariota en

las muestras. Inicialmente, se realizó una curva de rarefacción para la normalización de los datos por medio de "phyloseq". Después de esto para la creación de los resultados se procedió con la construcción de gráficas de abundancia relativa a nivel taxonómico para géneros y especies del conjunto total de muestras mediante el paquete "microbiome". Posteriormente, se realizaron análisis de diversidad alfa, que incluyeron los índices de Shannon y Simpson, así como un Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) basado en la disimilitud de Bray-Curtis, para comparar las muestras según su lugar de procedencia y tipo. Estos últimos análisis fueron realizados utilizando el paquete "Vegan".

RESULTADOS

Riqueza de especies y diversidad de géneros en la totalidad de las muestras

A partir de 9 chigüiros de Paz de Ariporo y 9 de Trinidad, en Casanare, se analizaron un total de 18 muestras pareadas de hisopados bucales y anales. Todas las muestras cumplieron con un umbral mínimo de 8000 lecturas por muestra. Este umbral fue determinado con el fin de disminuir posibles sesgos y contrapesar errores en la amplificación de microorganismos eucariotas provenientes de un hospedero eucariota (Tedersoo et al., 2015).

En la figura 2, se presentan los géneros de microorganismos eucariotas más predominantes en cada una de las muestras.

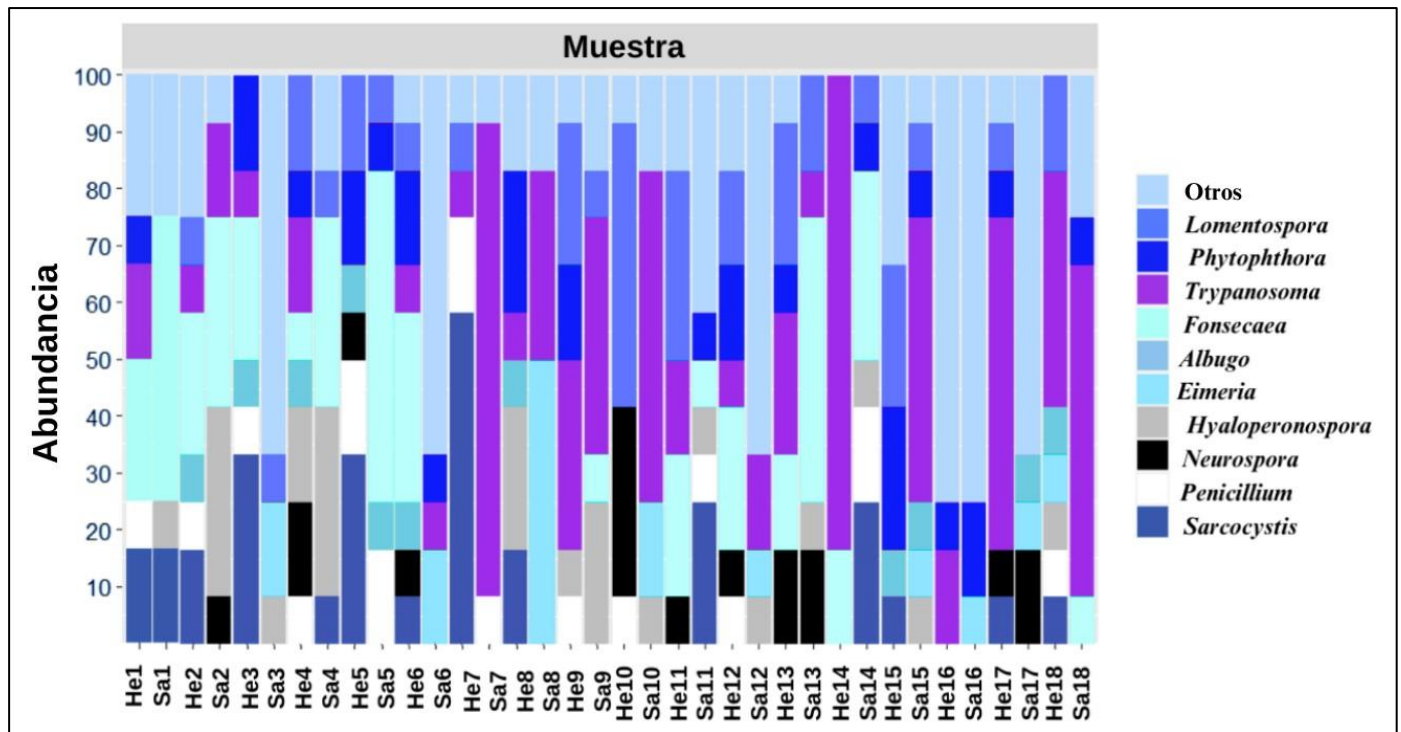


Figura 2: Grafica de abundancias relativas que representa los 10 géneros de microorganismos eucariotas más frecuentes en cada muestra. Cada una de las muestras está representada por las etiquetas He# y Sa#, donde “He” son las muestras hisopado anal y “Sa” de hisopado bucal.

Se identifican géneros como *Lomentospora*, *Phytophthora*, *Trypanosoma*, *Fonsecaea*, *Albugo*, *Eimeria*, *Hyaloperonospora*, *Neurospora*, *Penicillium*, *Sarcocystis*, entre otros. Géneros como *Trypanosoma*, *Sarcocystis* y *Eimeria* se caracterizan por su potencial zoonótico en humanos y animales (Teixeria et al., 2006; Howe et al., 2005). Asimismo, dentro de los géneros *Lomentospora*, *Fonsecaea* y *Penicillium* se encuentran individuos con potencial patógeno (Burstein & Zuño, 2004; Ziemons et al., 2017). También se destacan géneros de hongos como *Albugo*, *Phytophthora* y *Hyaloperonospora*, que hasta el momento solo se han identificado como patógenos de plantas. Por último, *Neurospora*, género de hongos, que se utiliza ampliamente en investigaciones. Cabe resaltar la ausencia de helmintos en estas muestras.

Conociendo los géneros 10 géneros con mayor frecuencia en las muestras, se determinó cuáles fueron los 10 organismos a nivel de especie de mayor abundancia. En las 36 muestras destacaron las siguientes 10 especies: *Lomentospora prolificans*, *Trypanosoma cruzi*, *Coccidioides posadasii*, *Eimeria necatrix*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Fusarium oxysporum*, *Neurospora crassa*, *Penicillium*

rubens, *Phytophthora palmivora*, *Sarcocystis neurona*. Las cuales cumplen un papel importante en la salud humana y animal (Figura 3).

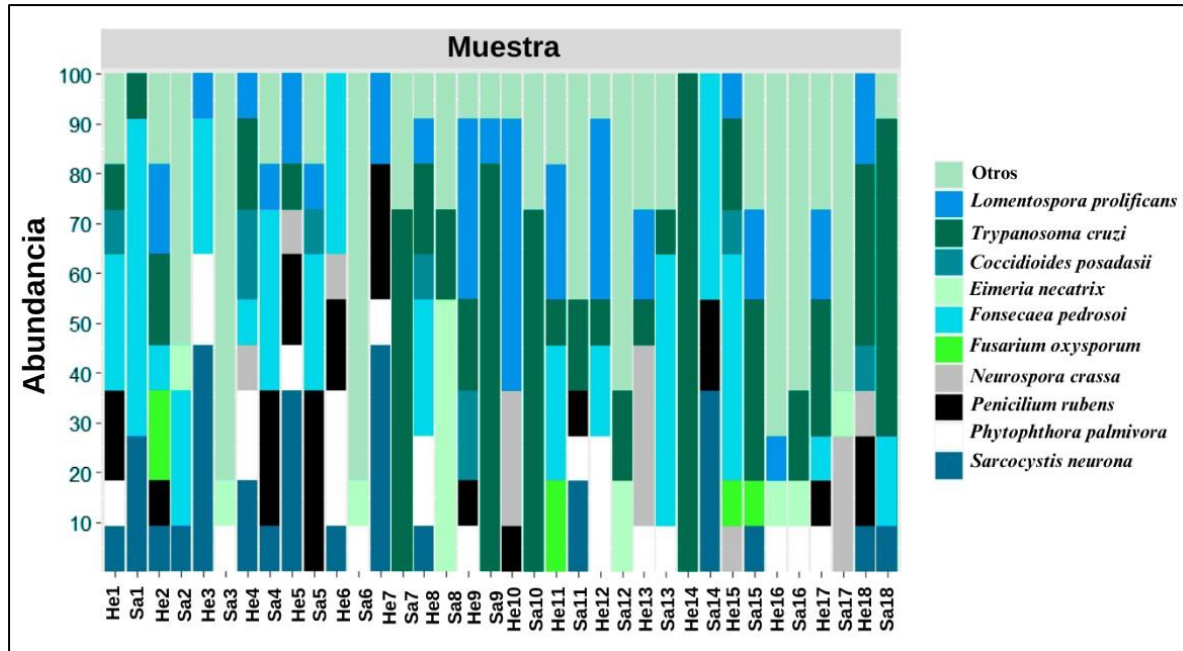


Figura 3: Grafica de barras de la abundancia relativa a nivel de especies en las muestras de hisopados anales y bucales de chigüiro (*Hydrochoerus hydrochaeris*)

Índices de diversidad.

Los valores de diversidad alfa al comparar el lugar de procedencia del chigüiro (*H. hydrochaeris*) fueron similares, aunque se observaron valores ligeramente mayores en Trinidad. En ambos lugares, los índices de Shannon oscilan entre 1.5 y 2, indicando una baja diversidad de especies en la microbiota. Además, los valores de Simpson cercanos a 5 indican la dominancia de algunas especies dentro de la comunidad en ambos lugares de procedencia (Figura 4 A).

En cuanto al análisis Bray Curtis, se obtuvieron índices muy cercanos a 0 para ambos lugares de procedencia. Esto sugiere que la composición de la microbiota eucariota presenta una alta similitud en su estructura, independientemente del lugar de procedencia (Figura 4 B).

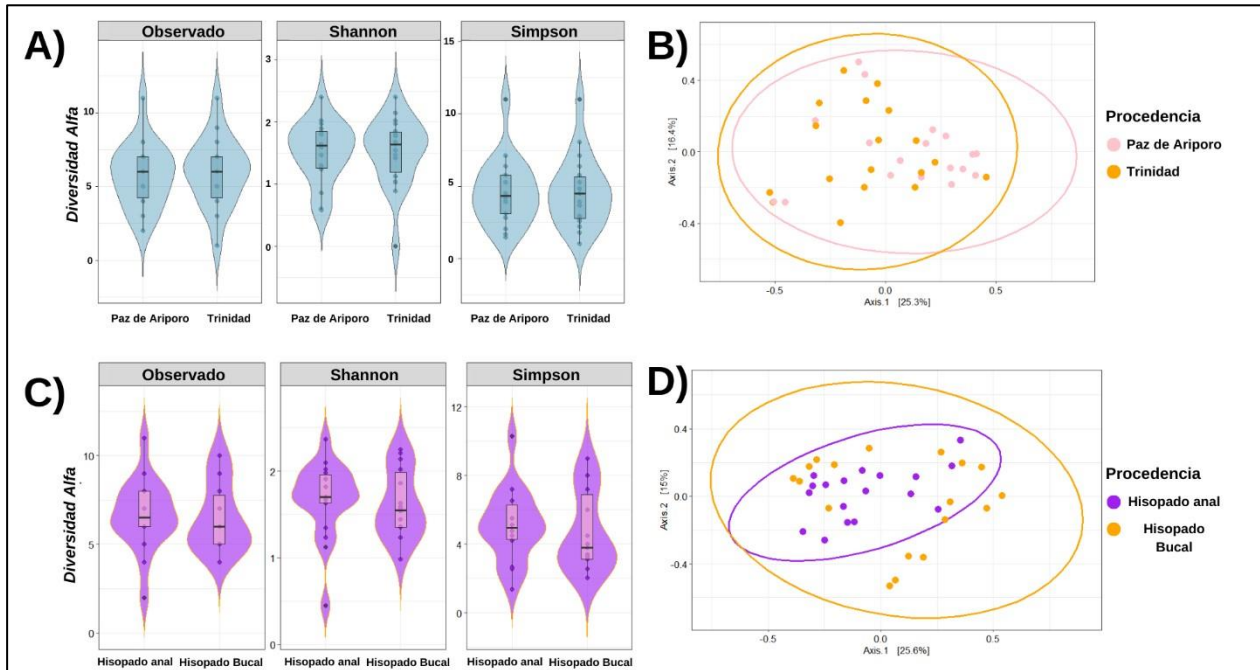


Figura 4: **A)** Índices de diversidad alfa; Shannon y Simpson, comparando el municipio de origen del individuo. **B)** PCoA basado en análisis de disimilitud (Bray Curtis), comparando el municipio de origen del individuo. **C)** Índices de diversidad alfa; Shannon y Simpson, comparando el tipo de muestra. **D)** PCoA basado en análisis de disimilitud (Bray Curtis), comparando el tipo de muestra.

Cuando se comparan los valores de diversidad alfa entre los tipos de muestra, se revela una mayor diversidad en las muestras de hisopado anal en comparación con las muestras de hisopado bucal. Los índices de Shannon para ambos tipos de muestras estaban en el rango de 1.5 a 2, siendo ligeramente mayor el valor de los hisopados anales, indicando una baja diversidad en ambos lugares. Además, los valores de Simpson para las muestras de hisopado anal se encuentran por encima de un valor de 4, mientras que las muestras de hisopado bucal se encuentran por debajo de este, sugiriendo una dominancia más marcada de algunas especies en las muestras de hisopado anal en comparación con las de hisopado bucal (Figura 4 C). En el análisis Bray Curtis se obtuvieron índices muy cercanos a 0 para ambas muestras. Esto sugiere que la composición de la microbiota eucariota presenta una alta similitud en su estructura, sin importar el tipo de muestra (Figura 4 D).

DISCUSIÓN

Los animales de vida silvestre desempeñan un papel crucial en la transmisión de microorganismos con potencial patógeno, representando una amenaza para la salud de las poblaciones humanas con las que interactúan (González et al., 2022). En el caso particular de las poblaciones de chigüiros (*H. hydrochaeris*) en Casanare, su interacción no se limita solo al ganado bovino, sino que también involucra contacto directo con comunidades humanas cercanas a su hábitat natural (Lopez et al., 2014). Sin olvidar que la carne de chigüiro es consumida frecuentemente, debido a su contenido proteico y costumbres de la zona (Montoya et al., 2011). Además, los cuerpos de agua habitados por estos roedores se destinan tanto al consumo humano como al ganadero (Ballesteros et al., 2001). Esto resalta la relevancia de comprender al chigüiro como un posible hospedero importante en la ecoepidemiología de diversas enfermedades infecciosas, con potencial zoonótico (Thomas et al., 2021).

Inicialmente se identifican géneros como *Phytophthora*, *Albugo* y *Hyaloperonospora* (Figura 2), asociados exclusivamente con enfermedades en plantas. Algunos ejemplos de estas afecciones son la descomposición de la raíz y cuello (Echemendia et al., 2000), mildiú blanco (Fálico et al., 2005) y mildiú downy (Colque et al., 2021). Se encontró la presencia de *Phytophthora palmivora* y *Fusarium oxysporum* (Figura 3), patógenos conocidos por afectar a diversas especies de cultivos como el caucho, el coco, la papaya, la pimienta negra y el cacao (Walker, 2020; Arie, 2019). La presencia de estos hongos en las muestras de hisopado bucal y anal se podría atribuir a la dieta herbívora de los chigüiros (*H. hydrochaeris*) y su ingestión de posibles materiales vegetales contaminados. Aunque hasta ahora no representan un peligro directo para la salud humana, la presencia de estos hongos en chigüiros plantea riesgos directos para los cultivos vegetales destinados al consumo humano. A su vez suscita aquellas repercusiones sobre la diversidad y salud de la flora circundante (Echemendia et al., 2000). Debido al potencial de transmitir estos patógenos a cultivos y flora silvestre aledaños, es crucial mantener un monitoreo constante ante la posibilidad de descubrimientos nuevos en este contexto. Además, es importante tener en cuenta el riesgo directo que representa el consumo de organismos vegetales enfermos tanto para los chigüiros como para el ganado. Como mecanismo de defensa, estos organismos vegetales generan la producción de metabolitos secundarios, los cuales podrían tener efectos en los chigüiros, así como en los rumiantes que comparten su dieta herbívora (Camacho et al., 2020). Por ejemplo, la lignina limita la

degradabilidad de la dieta, y los isoflavonoides pueden causar actividad estrogénica, afectando la fertilidad tanto en machos como en hembras bovinas (Camacho et al., 2020).

En las muestras de chigüiro (*H. hydrochaeris*), se identificaron géneros de hongos, como se evidencia en la figura 2, que incluyen especies patógenas para los humanos. En particular, *Lomentospora*, y más específicamente *Lomentospora prolificans* (figura 3), un patógeno oportunista (Konsoula et al., 2022) que representa un riesgo significativo para personas inmunocomprometidas y es causante de infecciones pulmonares, cutáneas y de tejidos blandos (Konsoula et al., 2022). En segundo lugar el género *Fonsecaea*, singularmente *Fonsecaea pedrosoi* (figura 3) vinculado a infecciones cutáneas como la cromoblastomicosis (Queiroz et al., 2017). A su vez se encontró *Penicillium*, un género que incluye especies empleadas para la producción de penicilina y derivados. Específicamente *Penicillium rubens* (figura 3) cuya presencia en las muestras estudiadas es de relevancia debido a su potencial como productor de micotoxinas (Ziemons et al., 2017), concretamente la ocratoxina A, la cual se ha asociado con problemas renales y puede tener efectos tóxicos a largo plazo (Perrone et al., 2017). Además, se halló *Coccidioides posadasii* (figura 3), un hongo patógeno causante de coccidioidomicosis (Kirkland et al., 2018), con posibilidad de infecciones pulmonares graves y diseminación a otras partes del cuerpo (Kirkland et al., 2018). Por último, se identificó la presencia de *Neurospora crassa*, la cual se utiliza en investigaciones en genética y biología molecular (Montaño et al., 2019). Pero como es establecido, la inhalación excesiva de esporas puede causar afectaciones en las vías respiratorias y su presencia en alimentos podría afectar el consumo de nutrientes por parte del nuevo hospedero (Li et al., 2019). Estas cinco especies de hongos, caracterizadas por su hábitat en el suelo y la liberación de esporas al aire, son catalogadas como contaminantes ambientales (Calizaya et al., 2010). Su presencia en los hisopados anales y bucales de chigüiros puede explicarse por inhalación de esporas anemófilas, el contacto con suelo contaminado (Díaz et al., 2004) o el consumo de alimentos afectados (Burstein & Zuño, 2004). La identificación de estas especies destaca la necesidad de un control y cuidado rigurosos, especialmente para aquellos involucrados en la agricultura y con contacto directo con el suelo de la zona. Además, la presencia de estos contaminantes ambientales resalta la necesidad de futuros estudios que incluyan análisis transversales de la microbiota transitoria en estos hospederos. Estos análisis podrían investigar las posibles afectaciones específicas a la salud del chigüiro, así como determinar qué organismos podrían tener un impacto negativo en los nuevos ecosistemas a

los que son transportados. Entre estos impactos, se podría estudiar la posible afectación a las especies autóctonas, lo que acarrearía consecuencias negativas para la biodiversidad y el equilibrio de los ecosistemas.

Se destacan tres géneros de protozoarios con potencial zoonótico y relevancia en enfermedades para los humanos. En primer lugar, *Trypanosoma*, particularmente *Trypanosoma cruzi*, los cuales son patógenos tanto para los humanos como para otros animales (Teixeria et al., 2006). La presencia de *T. cruzi* en hisopados bucales y anales de chigüiro (*H. hydrochaeris*) se vincula con su ciclo de vida, que implica triatominos y otros animales silvestres como reservorios (Escolano et al., 2020; Velásquez et al., 2022). Siendo la vía oral la principal fuente de infección de los chigüiros, como es común en otros animales silvestres (Jansen et al., 2018). En este caso, la infección puede ocurrir por el consumo de alimentos o agua contaminados con tripomastigotes metacíclicos, los cuales son excretados en las heces de los triatominos. Además, la infección puede ocurrir por el contacto de estas heces con lesiones en la piel del chigüiro o a través del contacto directo con mucosas. El hallazgo de este parásito en las muestras de chigüiro cobra mayor relevancia en el Casanare, donde la enfermedad de Chagas cuenta con la mayor incidencia de todo el país, siendo catalogada como una región endémica para la enfermedad (Rincón et al., 2021). En segundo lugar, se destaca la presencia de *Eimeria*, específicamente *Eimeria necatrix* (Figura 3), reconocido como un patógeno predominante en aves de corral y causante de la coccidiosis aviar (Mares et al., 2023). La presencia de esta especie podría atribuirse a la interacción directa de los chigüiros con aves infectadas, como las de corral, o a su proximidad con entornos contaminados por excrementos de aves contaminadas (como el agua de los ríos). Aunque hasta el momento este protozoo no ha sido catalogado como zoonótico, su presencia representa un riesgo significativo para la economía local asociada a la avicultura (Burrell et al., 2020). Esto se debe a la necesidad de sacrificar a los individuos enfermos para controlar la propagación de la enfermedad (Fatoba et al., 2018). Además, un manejo inadecuado de los individuos infectados puede llevar al consumo de productos avícolas en mal estado, lo cual constituye un riesgo para la salud humana (Fatoba et al., 2018). En tercer lugar, se destaca la presencia de *Sarcocystis*, un género de protozoos que puede causar *sarcocistosis* en humanos a través del consumo de carne cruda o mal cocida, entre otras vías. Específicamente, la detección de *Sarcocystis neurona*, causante de la Encefalomiелitis Protozoaria Equina (EPE) (Howe et al., 2005), en las muestras de chigüiro podría atribuirse al consumo de alimentos contaminados

con ooquistes del parásito presentes en heces de zarigüeyas (*Didelphis marsupialis*) (O'Byrne et al., 2021; Dubey et al., 2015). Adicionalmente, considerando el comportamiento social distintivo de los chigüiros, la interacción con otros animales silvestres, como los armadillos (*Prionomys maximus* y *Dasyurus novemcinctus*), podría constituir varias fuentes potenciales de infección (Trujillo et al., 2013). La importancia de detectar estos parásitos en las muestras de chigüiro destaca la necesidad de comprender la ecopidemiología de estos roedores. Inicialmente, la presencia de estos parásitos en los chigüiros puede tener efectos negativos en su salud de estos, así como en la del resto de la fauna silvestre con la que coexisten, lo que puede afectar las dinámicas poblacionales a nivel de especie o ecosistema. La presencia de estos parásitos en los chigüiros conlleva a la persistencia y dispersión de las infecciones en el medio ambiente, lo que perpetúa el ciclo ecoepidemiológico de estas enfermedades (Burrell et al., 2020). Al albergar y transmitir estos parásitos al medio ambiente a través de sus heces o excreciones, los chigüiros contribuyen a la contaminación ambiental, lo que aumenta la carga parasitaria en el entorno. Esto afecta la calidad de factores como el agua y compromete la salud de los demás organismos que habitan en este ecosistema, entre estos el humano. Por esta razón es necesario identificar e investigar posibles fuentes de contagio para las poblaciones locales y la posibilidad de la aparición de nuevas enfermedades zoonóticas (Mackenstedt et al., 2015).

Principalmente, los análisis de diversidad y comparación entre lugares de origen sugieren una consistencia en la diversidad de especies y una composición similar de la microbiota del chigüiro, independientemente del municipio donde se recolectaron las muestras (Figura 4 A y B). Una posible explicación de esto es que los dos municipios son contiguos y no hay barreras geográficas (vega et al., 2017), dado que se encuentran en llanuras, que impidan la interacción entre las poblaciones de chigüiros y, por ende, el flujo de la microbiota identificado de estos. La predominancia de ciertas especies (Figura 4 A y C) en las muestras puede favorecer a patógenos oportunistas debido a la creación de un entorno propicio para su crecimiento y proliferación. La presencia dominante de estas especies establece condiciones que favorecen tanto a patógenos con relaciones simbióticas como a aquellos con relaciones parasitarias específicas con dichas especies. La baja diversidad indica una competencia reducida entre las especies, facilitando el establecimiento de ciertos patógenos (Figura 4 A y C). La limitada variedad de especies no solo compromete la eficacia del sistema inmunológico de los hospederos contra patógenos específicos, especialmente aquellos

adaptados a las condiciones creadas por las especies dominantes, sino que también contribuye a la estabilidad ambiental. Esta estabilidad, derivada de la predominancia de ciertas especies, establece un hábitat más constante y predecible. Aunque los análisis de diversidad y la comparación entre los tipos de muestra sugieren una consistencia en la diversidad de especies y una composición homogénea de la microbiota del chigüiro, la presencia de especies dominantes resalta aquellos organismos con potencial patógeno que son más ampliamente dispersados por los chigüiros. Esto subraya la necesidad de realizar futuras investigaciones que determinen el papel exacto de los chigüiros en los ciclos ecoepidemiológicos de cada una de estas enfermedades. En el contexto de la transmisión de enfermedades zoonóticas y otros patógenos, la contaminación o el contacto directo con diversos fluidos biológicos de vectores o reservorios se entiende como un factor primordial (Merino et al., 2017). El patrón de mayor diversidad en las muestras de hisopado anal puede tener implicaciones significativas para la transmisión de microorganismos patógenos (Figura 4C), principalmente debido a la posible contaminación de ríos y sus afluentes donde habitan los chigüiros. Posteriormente, estas aguas contaminadas con heces de chigüiro pueden ser consumidas por poblaciones humanas y ganado en proximidad, abarcando una mayor zona de propagación de patógenos.

Entre las posibles limitaciones del estudio, se destaca el tamaño de la muestra, al analizar solo 18 muestras de hisopados anales y 18 de saliva de chigüiros (*H. hydrochaeris*) en dos municipios de Casanare, Colombia. Sería benéfico llevar a cabo estudios más amplios y detallados en diversas regiones geográficas, ampliando el tipo y cantidad de muestras para obtener una visión más completa de la diversidad microbiana eucariota en chigüiros y su relación con la salud humana. A su vez, el empleo de otras técnicas de secuenciación de nueva generación podría ampliar la perspectiva y, mediante el uso de diferentes metodologías, reducir posibles errores de identificación de especies. Esto permitiría realizar un análisis más robusto de la microbiota eucariota.

En conclusión, este estudio contribuye al conocimiento de la microbiota eucariota en chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*), ofreciendo información valiosa sobre la diversidad, distribución y posibles riesgos asociados. En comparación con investigaciones previas que han identificado al chigüiro como reservorio y se han centrado en la identificación de protistas y algunos helmintos, incluyendo patógenos zoonóticos como *Plagiorchis muris*, *Neobalantidium coli* y *Cryptosporidium*

parvum (Uribe et al., 2021), este estudio determinó la presencia de otros microorganismos en la microbiota eucariota de los chigüiros, incluyendo organismos pertenecientes al reino fungí y protistas diferentes a los ya caracterizados. Entre estos se encuentran organismos patógenos para plantas, contaminantes ambientales, patógenos para animales y, específicamente, un organismo con potencial zoonótico, *Trypanosoma cruzi*. Planteando al chigüiro como un hospedero para diversas especies de microorganismos eucariotas patógenos, lo que establece las bases para investigaciones futuras enfocadas en la ecoepidemiología y la gestión adecuada de la interacción entre los chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris*) y su entorno, con el objetivo de promover la salud y el bienestar tanto de la fauna como de las poblaciones humanas cercanas.

Agradecimientos

Me gustaría expresar mi agradecimiento inicialmente a mi director de tesis, Juan David Ramírez, y a mi codirectora de tesis, Marina Muñoz Díaz, por el acompañamiento y la oportunidad de trabajar bajo su supervisión. Agradezco también su valioso aporte de conocimiento a lo largo de este proyecto y durante mi pregrado. Quiero agradecer al grupo de investigación CIMBIUR, en particular a sus integrantes: Milena Camargo, Angie Ramírez y Nicolás Luna, por su apoyo en las diferentes fases de desarrollo del proyecto. Por último, agradezco el respaldo financiero proporcionado por la Facultad de Ciencias Naturales (2023-2) y al Centro de Investigaciones en Microbiología y Biotecnología-UR (CIMBIUR) por facilitar sus instalaciones y brindar los recursos necesarios para llevar a cabo la investigación en su totalidad.

Referencias bibliográficas

- Alarcón Cavero, T., D’Auria, G., Delgado Palacio, S., Del Campo Moreno, R., & Ferrer Martínez, M. (2016). Microbiota. En R. Del Campo Moreno (coordinadora), *Procedimientos en Microbiología Clínica* (pp. 59). E. Cercenado Mansilla & R. Cantón Moreno (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Recuperado de: <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimcprocedimientomicrobiologia59mod.pdf>

- Aldana, J., Vieira-Muñoz, I., Ángel-Escobar, D., Colombia, D., & Por Naturaleza. (2007). ESTUDIOS SOBRE LA ECOLOGÍA DEL CHIGÜIRO (*Hydrochaeris hydrochaeris*), ENFOCADOS A SU MANEJO Y USO SOSTENIBLE EN COLOMBIA. Recuperado de: [https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/9730/alf_SOBRE_LA_EC OLOGIA_DEL_CHUIG%C3%9CIRO.pdf?sequence=1](https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/9730/alf_SOBRE_LA_ECOLOGIA_DEL_CHUIG%C3%9CIRO.pdf?sequence=1)
- Ballesteros Correa, J. (2001). Estado de conservación del chigüiro o ponche (*Hydrochaeris hydrochaeris isthmus*) en el Departamento de Córdoba, Colombia. (Tesis de maestría en Biología, con énfasis en Ecología). Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Programa de Postgrado. Bogotá.
- Belkaid, Y., & Hand, T. W. (2014). Role of the Microbiota in Immunity and Inflammation. *Cell*, 157(1), 121–141. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011>
- Berrilli, F., Di Cave, D., D'Amelio, S., & Cavallero, S. (2012). Interactions between parasites and microbial communities in the human gut. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00141>
- Burrell, A., Tomley, F. M., Vaughan, S., & Marugan-Hernandez, V. (2020). Life cycle stages, specific organelles and invasion mechanisms of *Eimeria* species. *Parasitology*, 147(3), 263–278. <https://doi.org/10.1017/S0031182019001562>
- Burstein, A., & Zuño. (2004). Cromomycosis: clínica y tratamiento; situación epidemiológica en Latinoamérica. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 21(3), 167-175. Lima, Perú: Instituto Nacional de Salud.
- Calizaya Limaco, C., Salazar Torres, G., & Silva Aburto, J. (2010). Evaluación de hongos ambientales en mercados de abastos de la ciudad de Tacna - Perú. *Revista mexicana de micología*, 31, 65-67. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?>
- Camacho-Escobar, M. A., Ramos-Ramos, D. A., Ávila-Serrano, N. Y., Sánchez-Bernal, E. I., & López-Garrido, S. J. (2020). Las defensas físico-químicas de las plantas y su efecto en la alimentación de los rumiantes. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 443-453. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.629>
- Colque-Little, C., Abondano, M. C., Lund, O. S., Amby, D. B., Piepho, H. P., Andreasen, C., Schmöckel, S., & Schmid, K. (2021). Genetic variation for tolerance to the downy mildew pathogen *Peronospora variabilis* in genetic resources of quinoa (*Chenopodium quinoa*). *BMC Plant Biology*, 21(1), 41. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02804-7>

- Cortez, K. J., Roilides, E., Quiroz-Telles, F., Meletiadiis, J., Antachopoulos, C., Knudsen, T., Buchanan, W., Milanovich, J., Sutton, D. A., Fothergill, A., Rinaldi, M. G., Shea, Y. R., Zaoutis, T., Kottlil, S., & Walsh, T. J. (2008). Infections caused by *Scedosporium* spp. *Clinical microbiology reviews*, 21(1), 157–197. <https://doi.org/10.1128/CMR.00039-07>
- Choi, J., & Park, J. S. (2020). Análisis comparativos de las regiones V4 y V9 del ADNr 18S para la comunidad eucariota existente utilizando la plataforma Illumina. *Scientific Reports*, 10(1), 6519. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7162856/>
- Chomel, B. B., & Sun, B. (2011). Zoonoses in the Bedroom. *Emerging Infectious Diseases*, 17(2), 167–172. <https://doi.org/10.3201/eid1702.101070>
- De Coster, W., D'Hert, S., Schultz, D. T., Cruts, M., Van Broeckhoven, C. (2018). NanoPack: visualizing and processing long-read sequencing data. *Bioinformatics*, 34(15), 2666–2669. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty149>
- Díaz, M. C., Juliet, L., Monzón De La T, A., & Rodríguez-Tudela, J. L. (2004). Absceso de herida operatoria por *Scedosporium prolificans*: Primer aislamiento en Chile. Revisión de la literatura. *Revista chilena de infectología*, 21(1), 65-69. <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182004000100010>
- Dubey, J. P., Howe, D. K., Furr, M., Saville, W. J., Marsh, A. E., Reed, S. M., & Grigg, M. E. (2015). An update on *Sarcocystis* neuron infections in animals and equine protozoal myeloencephalitis (EPM). *Veterinary parasitology*, 209(1-2), 1–42. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.01.026>
- Echemendia M., Y. (2000). *Phytophthora*: Características, diagnóstico y daños que provoca en algunos cultivos tropicales. Medidas de control. FAO. 30 p.
- Ebert, D. (2005). *Epidemiology*. Nih.gov; National Center for Biotechnology Information (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2047/> Elmore, S. A., Jones, J. L., Conrad, P. A., Patton, S., Lindsay, D. S., & Dubey, J. P. (2010). *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. *Trends in parasitology*, 26(4), 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.01.009>
- Fállico, L., Visintín, G., & Alcaraz, M. E. (2005). Síntomas producidos por *Albugo Tragopogonis* en girasoles de Entre Ríos (Argentina). *Ciencia, Docencia y Tecnología*,

XVI(30), 217-227. Universidad Nacional de Entre Ríos, Concepción del Uruguay, Argentina.

- Fatoba, A. J., & Adeleke, M. A. (2018). Diagnosis and control of chicken coccidiosis: a recent update. *Journal of Parasitic Diseases*, 42(4), 483–493. <https://doi.org/10.1007/s12639-018-1048-1>
- Fayer R. (2004). *Sarcocystis* spp. in human infections. *Clinical microbiology reviews*, 17(4), 894–902. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.894-902.2004>
- Frick, W., Pollock, J., Hicks, A. C., Kunz, T. H., Langwig, K., Reynolds, S., Turner, G., & Butchkoski, C. (2010, August 6). An Emerging Disease Causes Regional Population Collapse of a Common North American Bat Species. *American Association for the Advancement of Science*.
- Garcia, D., Blanco, J. M., Balbín, J., & Benito, J. (2010). Enfermedades infecciosas. Concepto. Clasificación. Aspectos generales y específicos de las infecciones. Criterios de sospecha de enfermedad infecciosa. Pruebas diagnósticas complementarias. Criterios de indicación. 10(49), 3251–3264. [https://doi.org/10.1016/s0304-5412\(10\)70027-5](https://doi.org/10.1016/s0304-5412(10)70027-5)
- González-Barrio D. (2022). Zoonoses and Wildlife: One Health Approach. *Animals: an open access journal from MDPI*, 12(4), 480. <https://doi.org/10.3390/ani12040480>
- Hadziavdic, K., Lekang, K., Lanzen, A., Jonassen, I., Thompson, E. M., & Troedsson, C. (2014). Characterization of the 18S rRNA gene for designing universal eukaryote specific primers. *PloS one*, 9(2), e87624. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087624>
- Hassell, J. E., Begon, M., Ward, M. J., & Fèvre, E. M. (2017). Urbanization and Disease Emergence: Dynamics at the Wildlife–Livestock–Human Interface. 32(1), 55–67. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.09.012>
- Herrera, G., Vega, L. D., Patarroyo, M. E., Muñoz, M., & Ramírez, J. D. (2021). Gut microbiota composition in health-care facility-and community-onset diarrheic patients with *Clostridioides difficile* infection. 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90380-7>
- Howe, D. K., Gaji, R. Y., Mroz-Barrett, M., Gubbels, M. J., Striepen, B., & Stamper, S. (2005). *Sarcocystis* neurona merozoites express a family of immunogenic surface antigens that are orthologues of the *Toxoplasma gondii* surface antigens (SAGs) and SAG-related sequences. *Infection and immunity*, 73(2), 1023–1033. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.2.1023-1033.2005>

- Jain S, Wheeler JR, Walters RW, Agrawal A, Barsic A, Parker R. ATPase-Modulated Stress Granules Contain a Diverse Proteome and Substructure. *Cell*. 2016 Jan 28;164(3):487-98. doi: 10.1016/j.cell.2015.12.038. Epub 2016 Jan 14. PMID: 26777405; PMCID: PMC4733397.
- Jansen, A. M., Xavier, S. C., & Roque, A. L. R. (2018). Trypanosoma cruzi transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. *Parasites & Vectors*, 11, 502. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3067-2>
- Jiji MG, Ninan MA, Thomas VP, Thomas BT. Edible microalgae: potential candidate for developing edible vaccines. *Vegetos*. 2023 Apr 27:1-6. doi: 10.1007/s42535-023-00636-y. Epub ahead of print. PMID: 37359124; PMCID: PMC10136395.
- Kirkland, T. N., & Fierer, J. (2018). *Coccidioides immitis* and *posadasii*; A review of their biology, genomics, pathogenesis, and host immunity. *Virulence*, 9(1), 1426–1435. <https://doi.org/10.1080/21505594.2018.1509667>
- Konsoula, A., Tsioutis, C., Markaki, I., Papadakis, M., Agouridis, A. P., & Spernovasilis, N. (2022). *Lomentospora prolificans*: An Emerging Opportunistic Fungal Pathogen. *Microorganisms*, 10(7), 1317. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10071317>
- Konsoula, A., Agouridis, A. P., Markaki, L., Tsioutis, C., & Spernovasilis, N. (2022). *Lomentospora prolificans* Disseminated Infections: A Systematic Review of Reported Cases. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 12(1), 67. <https://doi.org/10.3390/pathogens12010067>
- Kruse, H., Handeland, K., & Kirkemo, A. M. (2004). Wildlife as Source of Zoonotic Infections. 10(12), 2067–2072. <https://doi.org/10.3201/eid1012.040707>
- López-Arévalo, H. F., P. Sánchez-Palomino & O. L. Montenegro (eds.). (2014). *El chigüiro Hydrochoerus hydrochaeris en la Orinoquía colombiana: Ecología, manejo sostenible y conservación*. Biblioteca José Jerónimo Triana No. 25. Instituto de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Colombia. 436 pp. Bogotá
- Lozupone, C. A., Stombaugh, J., Gordon, J. I., Jansson, J. K., & Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. 489(7415), 220–230. <https://doi.org/10.1038/nature11550>
- Lu, J., Rincon, N., Wood, D.E. et al. Metagenome analysis using the Kraken software suite. *Nat Protoc* 17, 2815–2839 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41596-022-00738-y>

- Lu J, Salzberg SL (2018) Removing contaminants from databases of draft genomes. *PLOS Computational Biology* 14(6): e1006277. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006277>
- Li, Z., Lu, G., & Meng, G. (2019). Pathogenic Fungal Infection in the Lung. *Frontiers in Immunology*, 10, 1524. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01524>
- Mackenstedt, U., Jenkins, D., & Romig, T. (2015). The role of wildlife in the transmission of parasitic zoonoses in peri-urban and urban areas. *International journal for parasitology. Parasites and wildlife*, 4(1), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.01.006>
- Mares, M. M., Al-Quraishy, S., Abdel-Gaber, R., & Murshed, M. (2023). Morphological and Molecular Characterization of *Eimeria* spp. Infecting Domestic Poultry *Gallus gallus* in Riyadh City, Saudi Arabia. *Microorganisms*, 11(3), 795. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030795>
- Escolano, J., Marín, C., Rosales, M. J., Tsaousis, A. D., Medina-Carmona, E., & Escolano, R. (2022). An Updated View of the *Trypanosoma cruzi* Life Cycle: Intervention Points for an Effective Treatment. *ACS infectious diseases*, 8(6), 1107–1115. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.2c00123>
- Manzo Sánchez, G., Canto Canché, B., & Kay, A. (2005). Hongos patógenos: Enemigos versátiles https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/56_3/hongos.pdf
- Montoya, V. A., & Barragán, K. B. (2011). Diagnóstico preliminar de la producción y comercialización del chigüiro (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en Latinoamérica con énfasis en Colombia. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 58(I), 20-33.
- McBride, J. A., Gauthier, G. M., & Klein, B. S. (2017). Clinical Manifestations and Treatment of Blastomycosis. *Clinics in chest medicine*, 38(3), 435–449. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2017.04.006>
- Méndez, O. Á., & Barragán, K. B. (2005). Determinación de parámetros fisiológicos, hematológicos y de química sanguínea en chigüiros silvestres (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en el departamento de Casanare. (Issue 25).
- Medina, M., Zuluaga, S., Martínez, M. F., Bermúdez, J. C., Hernández, C., Beltrán, V., Velásquez-Ortiz, N., Muñoz, M., Ramírez, J. D., Triana, O., & Cantillo-Barraza, O. (2022). Interrogating the transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* (Trypanosomatida, Trypanosomatidae) by *Triatoma venosa* (Hemiptera: Reduviidae) after the elimination of

vector transmission by *Rhodnius prolixus* in Boyacá eastern Colombia. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 12, 998202. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.998202>

- Merino, V., Falcón, N., Morel, N., & González, G. (2017). Detección de coproantígenos de *Echinococcus granulosus* en canes de trabajadores de camales y comercializadores de vísceras en Lima metropolitana [Detection of stool antigens of *Echinococcus granulosus* in dogs belonging to slaughterhouse workers and offal merchants in Metropolitan Lima]. *Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health*, 41, e10. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2017.10>
- Montaña Silva, P. A. (2019). Evaluación de las proteínas PIR de *Neurospora crassa* como anclas moleculares para el despliegue de proteínas en hongos filamentosos (Tesis de maestría en Ciencias en Innovación Biotecnológica). CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO, A.C.
- O'Byrne, A. M., Lambourn, D. M., Rejmanek, D., Haman, K., O'Byrne, M., VanWormer, E., & Shapiro, K. (2021). Sarcocystis neurona Transmission from Opossums to Marine Mammals in the Pacific Northwest. *EcoHealth*, 18(1), 84–94. <https://doi.org/10.1007/s10393-021-01536-w>
- O'Donnell, K., Kistler, H. C., Cigelnik, E., & Ploetz, R. C. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(5), 2044–2049. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.2044>
- Organización Mundial de la Salud. (2020, Julio 29). Zoonosis. World Health Organization: WHO. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses>
- Oxford Nanopore Technologies. (2024). Oxford Nanopore Technologies. <https://nanoporetech.com/>
- Parfrey LW, Walters WA, Knight R. Microbial eukaryotes in the human microbiome: ecology, evolution, and future directions. *Front Microbiol*. 2011 Jul 11;2:153. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00153>. PMID: 21808637; PMCID: PMC3135866.
- Perrone, G., Logrieco, A. F., & Frisvad, J. C. (2017). Comments on "Screening and Identification of Novel Ochratoxin A-Producing Fungi from Grapes. *Toxins* 2016, 8, 333" In Reporting Ochratoxin A Production from Strains of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces*. *Toxins*, 9(2), 65. <https://doi.org/10.3390/toxins9020065>

- Pineda Saza, A. M., Crawford, A. J., & Caballero Gaitan, S. J. (2020). Una revisión acerca de Chigüiros (*Hydrochoerus hydrochaeris* y *H. isthmus*), como especies de interés para la cría y el comercio. *Acta Biológica Colombiana*, 17(2), 365-380. Recuperado de: <https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/49275/u834093.pdf?sequence1>
- Queiroz-Telles, F., de Hoog, S., Santos, D. W., Salgado, C. G., Vicente, V. A., Bonifaz, A., Roilides, E., Xi, L., Azevedo, C. M., da Silva, M. B., Pana, Z. D., Colombo, A. L., & Walsh, T. J. (2017). Chromoblastomycosis. *Clinical microbiology reviews*, 30(1), 233–276. <https://doi.org/10.1128/CMR.00032-16>
- Rache-Arce, D. C., Machacado-Salas, M., & Rosero-García, D. (2022). Hydrocarbondegrading bacteria in Colombia: systematic review. *Biodegradation*, 33(2), 99–116. <https://doi.org/10.1007/s10532-022-09976-z>
- Raftery, A & Donnelly, T. (2013). Coccidiosis. *Clinical Veterinary Advisor*, 346–348. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3969-3.00155-4>
- Rincón Acevedo, C. Y., & Parada García, A. S. (2021). Caracterización clínica y epidemiológica de la enfermedad de Chagas en fase aguda en Casanare-Colombia, 2012–2020. Trabajo presentado como requisito para optar por el título de Magister en Salud Pública. Directores: Dr. Juan David Ramírez González y Dr. Mario Javier Olivera Rivero. Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Maestría en Salud Pública, Universidad del Rosario, Bogotá - Colombia.
- Romero-Meza, G., & Mugnier, M. R. (2020). Trypanosoma brucei. *Trends in parasitology*, 36(6), 571–572. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.10.007>
- Salas, V., Pannier, E., Galíndez-Silva, C., Gols-Ripoll, A., & Herrera, E. A. (2004). Methods for capturing and marking wild capybaras in Venezuela. 32(1), 202–208. [https://doi.org/10.2193/0091-7648\(2004\)32\[202:mfcamw\]2.0.co;2](https://doi.org/10.2193/0091-7648(2004)32[202:mfcamw]2.0.co;2)
- Siregar, I.Z., Dwiyanti, F.G., Pratama, R. et al. Generating long-read sequences using Oxford Nanopore Technology from *Diospyros celebica* genomic DNA. *BMC Res Notes* 14, 75 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13104-021-05484-0>
- Taylor, J. B., Turner, E. L., Townsend, J. P., Dettman, J. R., & Jacobson, D. L. (2006). Eukaryotic microbes, species recognition and the geographic limits of species: examples from the kingdom Fungi. 361(1475), 1947–1963. <https://doi.org/10.1098/rstb.2006.1923>

- Teixeira, A. R., Nitz, N., Guimaro, M. C., Gomes, C., & Santos-Buch, C. A. (2006). Chagas disease. *Postgraduate medical journal*, 82(974), 788–798. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2006.047357>
- Tedersoo L, Anslan S, Bahram M, Põlme S, Riit T, Liiv I, Kõljalg U, Kisand V, Nilsson RH, Hildebrand F, Bork P, Abarenkov K (2015) Shotgun metagenomes and multiple primer pair-barcode combinations of amplicons reveal biases in metabarcoding analyses of fungi. *MycoKeys* 10: 1-43. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.10.4852>
- Thomas, D., cassin, L., & Crawford, A. (2021). Identificación de parásitos gastrointestinales de chigüiros silvestres de la especie *Hydrochoerus hydrochaeris* en el municipio de Villavicencio, Meta Colombia. <https://repositorio.uniandes.edu.co/server/api/core/bitstreams/86f0aa82-50e7-4ba9-978a44b559d1bb6f/content0t>
- Trujillo, F. y M. Superina (editores). 2013. *Armadillos de los llanos Orientales*. Fundación macha, ODL, Corporinoquia, Cormacarena, Bioparque Los Ocarros, Corpometa. Bogotá. 176 páginas.
- Uribe, M., Hermosilla, C., Rodríguez-Durán, A., Carlos, J., López-Osorio, S., ChaparroGutiérrez, J. J., & Cortés-Vecino, J. A. (2021). Parasites Circulating in Wild Synanthropic Capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*): A One Health Approach. 10(9), 1152–1152. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091152>
- Uribe, M., Hermosilla, C., Rodríguez-Durán, A., Carlos, J., López-Osorio, S., ChaparroGutiérrez, J. J., & Cortés-Vecino, J. A. (2021). Parasites Circulating in Wild Synanthropic Capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*): A One Health Approach. *Pathogens*, 10(9), 1152–1152. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091152>
- Vega G, F. A., Mendivelso M, L. M., Santos B, A., & Jacome B, K. J. (2017). Análisis de Situación de Salud 2017 (ASIS 2017). Municipio de Paz de Ariporo. Secretaría de Salud Municipal, Paz de Ariporo - Casanare. <https://www.pazdeariporo-casanare.gov.co/Transparencia/BancoDocumentos/ASIS%20ACTUALIZADO%202017.pdf>
- Velásquez-Ortiz, N., Hernández, C., Cantillo-Barraza, O., Ballesteros, N., Cruz-Saavedra,

- L., Herrera, G., ... Ramírez, J. D. (2022). *Trypanosoma cruzi* Parasite Burdens of Several Triatomine Species in Colombia. *Tropical medicine and infectious disease*, 7(12), 445. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed7120445>
- Walker F. (2020). *Phytophthora palmivora*-Cocoa Interaction. *Journal of fungi* (Basel, Switzerland), 6(3), 167. <https://doi.org/10.3390/jof6030167>
 - Warrenfeltz, S., Basenko, E. Y., Crouch, K., Harb, O. S., Kissinger, J. C., Roos, D. S., Shanmugasundram, A., & Silva-Franco, F. (2018). EuPathDB: The Eukaryotic Pathogen Genomics Database Resource. *Methods in Molecular Biology*, 1757, 69–113. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7737-6_5
 - Ziemons, S., Koutsantas, K., Becker, K., et al. (2017). Penicillin production in industrial strain *Penicillium chrysogenum* P2niaD18 is not dependent on the copy number of biosynthesis genes. *BMC Biotechnol*, 17, 16. <https://doi.org/10.1186/s12896-017-0335-8>