



**UNIVERSIDAD ANDINA SIMÓN BOLÍVAR**

**SEDE CENTRAL**

**Sucre-Bolivia**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN  
“ANÁLISIS CLÍNICOS” III VERSIÓN**

**“PRESENCIA DE *Cryptococcus spp.* EN EXCRETAS DE PALOMAS  
EN DISTINTAS ZONAS DEL ÁREA URBANA DE LA CIUDAD DE  
SUCRE 2013-2014”**

**Tesis presentada para obtener el  
Grado Académico de Magister en  
“Análisis Clínicos”**

**MAESTRANTE: ERIKA MAGNE MAYÁN**

**SUCRE-BOLIVIA  
2014**



**UNIVERSIDAD ANDINA SIMÓN BOLÍVAR**

**SEDE CENTRAL**

**Sucre-Bolivia**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN  
“ANÁLISIS CLÍNICOS” III VERSIÓN**

**“PRESENCIA DE *Cryptococcus spp.* EN EXCRETAS DE PALOMAS  
EN DISTINTAS ZONAS DEL ÁREA URBANA DE LA CIUDAD DE  
SUCRE 2013-2014”**

**Tesis presentada para obtener el  
Grado Académico de Magister en  
“Análisis Clínicos”**

**MAESTRANTE: ERIKA MAGNE MAYÁN**

**TUTORA: Dra: CRISTINA IOVANNITTI**

**CO-TUTORA: Dra: MARIA LUISA DE LA CRUZ**

**SUCRE-BOLIVIA  
2014**

## **DEDICATORIA**

A mi madre, por estar a mi lado  
cada instante de mi vida y darme su  
apoyo incondicional en las etapas  
de mi superación profesional.

# **AGRADECIMIENTOS**

**A mis asesoras:**

**Dra. CRISTINA GIOVANNITTI**

Por las enseñanzas transmitidas, en especial por su apoyo, su paciencia y por orientarme y ayudarme en este trabajo siendo mi guía y un ejemplo a seguir.

**Dra. MARIA LUISA DE LA CRUZ**

Por transmitirme sus conocimientos, por ser una guía y apoyo, por brindarme siempre su amistad y consejo

## RESUMEN

**Antecedentes:** Los hongos del género *Cryptococcus* son levaduras capsuladas que ingresan al organismo por inhalación y en los individuos competentes se produce la primo-infección pulmonar. Algunas especies del género *Cryptococcus* se encuentran en excrementos desecados de palomas. Los pacientes inmunocomprometidos infectados con este hongo pueden desarrollar la criptococosis, enfermedad con compromiso meníngeo. El grupo más afectado son los pacientes con SIDA.

**Objetivo general:** Determinar la presencia de *Cryptococcus spp.* en excretas de palomas en distintas áreas urbanas de la ciudad de Sucre

**Metodología:** Se realizó un estudio de corte transversal. Se recolectaron 87 muestras de excretas de palomas en el área urbana de Sucre de lugares públicos: la Plaza 25 de Mayo, La Recoleta, Mercado Central, Cementerio General y la Facultad de Enfermería. El procesamiento de las muestras se inició con la suspensión en solución fisiológica con antibiótico, luego se realizó la siembra en el medio selectivo de Staib para su aislamiento, se identificó al género *Cryptococcus* mediante las características morfológicas macroscópicas y microscópicas de las colonias formadas y pruebas bioquímicas. Una vez obtenida la información se la procesó mediante el paquete estadístico EPIDAT y SPSS, se construyeron tablas simples y tablas de 2x2, se calculó la prevalencia de expuestos y no expuestos, y el Odds Ratio con sus intervalos de confianza.

**Resultados:** Del total de muestras recolectadas de distintas zonas del área urbana de Sucre, se aisló 45,98 % cepas de *Cryptococcus spp.* Se determinó una prevalencia de 45,98 % de *Cryptococcus spp.* en excretas de palomas de distintas zonas del área urbana de la ciudad de Sucre como focos de primo-infección de esta levadura. La probabilidad que exista levaduras del género

*Cryptococcus* es 3,21 veces en las excretas de palomas expuestas al sol en relación a los que están bajo sombra (OR= 3,21 IC 95% 1, 12- 9, 20), por lo que las excretas expuestas al sol son un factor de riesgo para la presencia de *Cryptococcus spp*. La probabilidad que exista *Cryptococcus spp* es 17,14 veces más en las excretas de palomas de las zonas del Mercado Central y de la Facultad de Enfermería, en relación a las excretas que están en otras zonas de la ciudad, por tanto la ubicación de las excretas en estos lugares son un factor de riesgo para la presencia de este hongo.

**Conclusiones:** Las zonas dentro del área urbana con excretas de palomas de donde se obtuvo mayor cantidad de aislamientos de levaduras del Género *Cryptococcus* fue el Mercado Central, seguido de la Facultad de Enfermería. La presencia de *Cryptococcus spp* en excretas de palomas está asociado a la exposición de estas frente a rayos solares.

## ABSTRACT

**Background:** Fungi of the genus *Cryptococcus* are encapsulated yeast that enter the body by inhalation and competent individuals pulmonary primary infection occurs. Some species of the genus *Cryptococcus* are in dried pigeon droppings. Immunocompromised patients infected with this fungus can develop cryptococcal disease with meningeal involvement. The most affected group are patients with AIDS.

**Overall objective:** To determine the presence of *Cryptococcus* spp. in excreta of pigeons in different urban areas of the city of Sucre.

**Methodology:** A cross sectional study was performed. 87 pigeon excreta samples were collected in the urban area of Sucre in public places: the Plaza 25 de Mayo, La Recoleta, Central Market, General Cemetery and the School of Nursing. The sample processing began with the suspension in saline with antibiotic after sowing was performed in selective medium for isolation Staib, the genus *Cryptococcus* was identified through macroscopic and microscopic morphological characteristics of the colonies formed and biochemical tests. Once the information is processed by the SPSS statistical package EPIDAT and simple tables and 2x2 tables were constructed, the prevalence estimate was exposed and unexposed, and odds ratio with confidence intervals.

**Results:** Of the samples collected from different parts of the urban area of Sucre, 45.98% strains of *Cryptococcus* spp was isolated. A prevalence of 45.98% of *Cryptococcus* spp pigeon excreta in different parts of the urban area of the city of Sucre as foci of primary infection of the yeast was determined. The probability that there *Cryptococcus* is 3.21 times in excreta of pigeons exposed to the sun in relation to those who are under shade (OR = 3.21 95% CI 1.12-9.20), so sun-exposed excreta are a risk factor for the presence of *Cryptococcus* spp. The probability that there is *Cryptococcus* spp 17.14 times in excreta of

pigeons areas of the Central Market and the School of Nursing, in relation to excreta that are in other areas of the city, so the location of the excreta in these places are a risk factor for the presence of this fungus.

**Conclusions:** The areas within the urban area with pigeon excreta where as many isolates of *Cryptococcus* was the Central Market, followed by the School of Nursing was obtained. The presence of *Cryptococcus* spp in pigeon excreta is associated with exposure of these against sunlight.

## INDICE

### **CAPÍTULO I.**

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes	1
1.1.1. Problema	2
1.2. Justificación	3
1.1.3. Objetivos	4

### **CAPÍTULO II.**

2. MARCO TEÓRICO Y CONTEXTUAL	5
2.1. MARCO TEÓRICO	5
2.1.1. HONGOS	5
2.1.1.1. Clasificación de los hongos	8
2.1.1.2. Levaduras	9
2.1.2. LEVADURAS DEL GÉNERO <i>Cryptococcus</i>	11
2.1.2.1. Historia	11
2.1.2.2. Clasificación taxonómica	14
2.1.2.3. Descripción	15
2.1.2.4. Morfología	15
2.1.2.5. Factores de virulencia.	16
2.1.2.6. Características de la Cápsula.	17

2.1.2.7. Características de crecimiento	18
2.1.2.8. Distribución en la naturaleza	20
2.1.3. CRIPTOCOCOSIS	21
2.1.3.1. Criptococosis humana	21
2.1.3.1.1. Mecanismo de infección	23
2.1.3.1.2. Formas clínicas	26
2.1.3.2. Diagnóstico Micológico	33
2.1.3.3. La paloma y <i>Cryptococcus neoformans</i> .	39
2.1.4. RESULTADOS DE ALGUNOS AISLAMIENTOS DE <i>Cryptococcus neoformans</i>	42
2.2. HIPÓTESIS	43
2.3. MARCO CONTEXTUAL	43
<b>CAPÍTULO III</b>	
3. MARCO METODOLÓGICO	47
3.1. Enfoque, tipo y diseño de investigación	47
3.2. Población y Muestra	47
3.3. Variables de Estudio	48
3.4. Criterios de inclusión y exclusión	49
3.5. Procedimientos para la Recolección de la Información	49
3.6. Procesamiento y análisis de los datos	51
3.7. Delimitaciones de la Investigación	51

**CAPÍTULO IV.**

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
4.1. RESULTADOS	52
4.2. DISCUSIÓN	67

**CAPÍTULO V.**

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	69
5.1. CONCLUSIONES	69
5.2. RECOMENDACIONES	70
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

**ANEXOS**

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> <i>Cryptococcus neoformans</i> .	16
<b>Figura 2.</b> <i>Cryptococcus albidus</i> .	16
<b>Figura 3:</b> Esquema de la levadura <i>Cryptococcus neoformans</i>	18
<b>Figura 4:</b> Las colonias de <i>Cryptococcus neoformans</i> y <i>Candida</i> , sembradas en agar <i>Guizotia abyssinica</i>	19
<b>Figura 5:</b> Crecimiento de <i>Cryptococcus gattii</i> en la parte superior del agar L-canavanina-glicina-azul de bromotimol.	20
<b>Figura 6.</b> Mecanismo de infección de <i>Cryptococcus</i> .	23
<b>Figura 7:</b> Aspecto de la afectación cerebral con extensa destrucción cortical y de la sustancia blanca subcortical.	28
<b>Figura 8:</b> Lesión nodular solitaria, redondeada y radiodensa correspondiente a una Criptococosis granulomatosa nodular, en el pulmón.	30
<b>Figura 9:</b> Criptococosis pulmonar del hilio izquierdo con bandas fibrosas.	30
<b>Figura 10:</b> Lesiones de piel causadas por <i>Cryptococcus</i> .	31
<b>Figura 11:</b> <i>Cryptococcus neoformans</i> observado al microscopio con tinta china.	34
<b>Figura 12:</b> Observación de la cápsula del <i>Cryptococcus neoformans</i> mediante la técnica musicarmín de Mayer	34
<b>Figura 13.</b> Tejido teñido con hematoxilina-eosina.	35
<b>Figura 14.</b> <i>Cryptococcus neoformans</i> . Cultivo agar dextrosa Sabouraud	35
<b>Figura 15.</b> <i>Cryptococcus neoformans</i> . Derecha: Ureasa +	36
<b>Figura 16.</b> Crecimiento en agar Níger a 25°C.	37
<b>Figura 17.</b> Crecimiento en agar CGB (canavanina-glicina-azul de bromotimol).	37

## CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

### 1.1. Antecedentes

*Cryptococcus spp.* es un hongo levaduriforme capsulado del que se conocían pocos casos de criptococosis antes de 1955 y que se transformó en un microorganismo oportunista en todo el mundo en la medida que aumentó la población de personas inmunocomprometidas. El hongo penetra al organismo por vía respiratoria donde hace una primo infección, cuando se disemina, tiene especial predilección por afectar el sistema nervioso central. La meningitis criptococócica es la principal manifestación clínica asociada a una alta mortalidad en los pacientes inmunosuprimidos. (1)

Antes del descubrimiento del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida Humana (SIDA), se diagnosticaba la criptococosis en pacientes con enfermedades linfoproliferativas, afecciones autoinmunes, embarazo y tratamiento prolongado con corticosteroides. A partir de 1980 y como consecuencia de la alteración de la inmunidad celular de pacientes con SIDA, se ha observado un incremento mundial de la incidencia de esta micosis. (2)

Hace mucho tiempo se sabe que las especies del género *Cryptococcus* como el *C. neoformans* se encuentra en la naturaleza, en excrementos desecados de aves fundamentalmente de palomas en los que hay pH alcalino y rico en sustancias nitrogenadas; también se lo aisló de frutas cítricas, verduras, leche. Mientras que el *C. gattii* se ha aislado de desperdicios que rodean a eucaliptos de las especies *Eucalyptus camaldulensis* y *Eucalyptus tereticornis*. (2,3)

La viabilidad de las levaduras capsuladas en las excretas de las aves se debe a factores como la humedad, la alcalinidad y presencia de productos nitrogenados, que les permite permanecer viables hasta más de dos años. (3)

Por ese motivo se ha aislado el *C. neoformans* de sitios donde se acumula el

excremento de las palomas, como cornisas, cúpulas y áticos de edificios viejos, en pajares de establos y segadoras de heno. (3)

Los individuos inmunocomprometidos que pueden desarrollar la enfermedad padecen de desnutrición, sarcoidosis, enfermedades del colágeno como lupus eritematoso sistémico, leucemia, linfoma, diabetes o han recibido trasplante. Sin embargo, también hay casos sin compromiso inmunológico. (3)

La criptococosis es la cuarta enfermedad oportunista que afecta a personas con SIDA, debido a que la inmunosupresión celular es el factor predisponente y su frecuencia ha aumentado conjuntamente con el número de individuos con alteraciones inmunitarias. La mortalidad oscila entre 15% a 30% (4)

La prevalencia de meningitis por *Cryptococcus spp.* en niños con SIDA es menor que en adultos, se estima que en la población pediátrica sería de 1% en tanto que en adultos llegaría a 6 - 8%. (1)

En los últimos años se ha observado un incrementado en el número de casos de criptococosis asociados a pacientes trasplantados. Por otra parte, existen casos registrados de personas sin ninguna inmunodeficiencia identificada, lo que indica que los factores de riesgo frente a este tipo de infecciones no están lo suficientemente delimitados. (5)

La mayor prevalencia de infecciones causadas por este agente se da en países en vías de desarrollo, fundamentalmente en África y el Sudeste Asiático, superando los fallecidos por esta causa a un millón de personas. (5)

### **1.1.1. Problema**

¿Cuál será la frecuencia de *Cryptococcus spp* en excretas de palomas de distintas áreas urbanas de la Ciudad de Sucre 2013 - 2014?

## 1.2. Justificación

En la ciudad de Sucre existen palomares en varias zonas de tránsito diario de la población, por ejemplo en la plaza principal donde juegan niños y asiste gran parte de la población. Las palomas están constantemente en busca de alimento y entran cada vez más en contacto con la población urbana.

Actualmente estas aves tienden a alojarse y formar sus nidos en los tejados de las casas causando daños, tapando canales de desagüe por la formación de sus nidos y sus excretas.

Está comprobado científicamente que la inhalación de heces de palomas contaminadas con *Cryptococcus neoformans/gattii*, *Histoplasma capsulatum* o *Chlamydophila psittaci* producen en el ser humano tres infecciones como son la criptococosis, histoplasmosis y psitacosis respectivamente. Las heces una vez secadas por el sol, son dispersadas por el viento contaminando el aire e ingresando al organismo a través de las vías respiratorias. (3)

Las levaduras de *Cryptococcus spp.* al ser inhaladas por personas con el sistema inmunológico deprimido corren el riesgo de desarrollar la criptococosis en especial los pacientes con SIDA, que según el Ministerio de Salud hasta el año 2013 aumentaron 332 nuevos casos de personas con Virus de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), y el Programa Nacional de ITS/VIH/SIDA tiene registrado a nivel de Bolivia 10.580 casos desde 1984 hasta finales del 2013. Asimismo en Chuquisaca en el 2013 se registraron 54 casos de VIH; dos casos por encima de lo detectado en 2012. Siendo estos pacientes la población que corre más riesgo de adquirir esta micosis, principalmente en aquellos cuya cuenta linfocitaria de CD4 es menor a 50 células/ml (6, 7,17).

También pueden adquirir la criptococosis las personas con Diabetes, que en Bolivia se estima son 800 mil personas, siendo altamente susceptibles de desarrollar enfermedades micóticas. (3,8).

El aislamiento del *Cryptococcus spp* de los palomares de la ciudad de Sucre nos ayudara a determinar si estos lugares son fuentes de levaduras viables de *Cryptococcus* que pueden producir una infección de ser inhalados por la población tanto sana como inmunodeficientes. (3)

En la bibliografía a nuestro alcance no existen datos sobre el aislamiento de levaduras del género *Cryptococcus* en deyecciones de palomas en el país.

### **1.1.3. Objetivos**

#### **a. Objetivo General**

Describir la presencia de *Cryptococcus spp.* en excretas de palomas en distintas áreas urbanas de la ciudad de Sucre

#### **b. Objetivos Específicos**

- ◆ Aislar e identificar la presencia de levaduras de *Cryptococcus spp.* en excretas de palomas dentro del área urbana de la ciudad Sucre.
  
- ◆ Identificar las áreas urbanas de la ciudad de Sucre que contiene mayor aislamiento de levaduras de *Cryptococcus*.
  
- ◆ Identificar la presencia de *Cryptococcus spp.* en excretas según las condiciones de humedad.
  
- ◆ Identificar la presencia de *Cryptococcus spp* en excretas según su exposición a rayos solares.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO Y CONTEXTUAL

#### 2.1. MARCO TEÓRICO

##### 2.1.1. HONGOS

Los hongos son un grupo de seres vivos diferentes de los animales y plantas, razón por la cual se clasifican en un reino aparte llamado *Fungi*. Difieren de las plantas, porque no elaboran su propio alimento mediante la fotosíntesis viven de sustancia orgánicas en descomposición. Se diferencian de los animales porque no forman tejidos ni órganos ni sistemas. (9)

Son organismos eucariotas, heterótrofos, con nutrición por absorción, que pueden ser unicelulares o pluricelulares, no forman tejidos, inmóviles, aerobios o aerobios facultativos y cada célula puede generar por simple mitosis un nuevo organismo de la misma especie (9,10).

La ciencia que los estudia se llama Micología (*Mykes*=Hongo y *Logos*=Estudio). Los hongos poseen gran capacidad de adaptación y pueden desarrollarse sobre cualquier medio o superficie, tanto en los bosques como en las ciudades. Se reproducen por medio de esporas, las cuales son diseminadas principalmente por el viento y por el agua. (9)

En la mayoría de los casos, sus representantes son poco conspicuos debido a su pequeño tamaño; suelen vivir asociados a suelos y material en descomposición y como simbioses de plantas, animales u otros hongos. Realizan una digestión externa de sus alimentos, secretando enzimas, que absorben luego las moléculas disueltas resultantes de la digestión. A esta forma de alimentación se le llama osmotrofia, la cual es similar a la que se da en las plantas, pero, a diferencia de aquéllas, los nutrientes que toman son orgánicos. Los hongos son los descomponedores primarios de la materia muerta de plantas y de animales en muchos ecosistemas, y como tales poseen un papel ecológico muy relevante en los ciclos biogeoquímicos, transformando la

materia orgánica en sustancias más simples y asimilables por otros seres vivos. (9,10)

También pueden desarrollarse formando asociaciones de beneficio mutuo con raíces de plantas (micorrizas) y con algas dando origen a los líquenes --que son organismos totalmente diferentes a las plantas y a los mismos hongos--, mientras que algunos crecen sobre otros seres vivos produciéndoles enfermedad o incluso la muerte.(9)

Los hongos tienen una gran importancia económica para los humanos, han jugado y juegan un papel muy importante en la medicina, la industria y la alimentación. Las levaduras son las responsables de la fermentación de la cerveza y el pan, y se da la recolección y el cultivo de setas como las trufas. Desde 1940 se han empleado para producir industrialmente antibióticos, así como enzimas (especialmente proteasas). Algunas especies son agentes de biocontrol de plagas. Otras producen micotoxinas, compuestos bioactivos (como los alcaloides) que son tóxicos para humanos y otros animales. (10)

La era de los antibióticos se inicia con el descubrimiento de la penicilina, obtenida a partir del hongo *Penicillium notatum*; asimismo algunos hongos son importantes en la industria de quesos, cerveza, vinos y otros; además de la excelente fuente de vitaminas, proteínas, fibra y minerales que constituyen los hongos (9)

Aunque no se conoce con exactitud el número de especies, hasta ahora se han descrito aproximadamente 80.000 en todo el mundo. (9)

Las enfermedades fúngicas afectan a humanos, animales y plantas; en estas últimas, afecta a la seguridad alimentaria y al rendimiento de los cultivos. (10)

Los hongos se originan a partir de esporas, que son células especializadas que tienen la misma función que las semillas en las plantas. Cuando las esporas

encuentran las condiciones adecuadas de humedad, temperatura, luz y nutrientes, entre otras, germinan y producen hifas, que son unas estructuras filamentosas que constituyen la unidad estructural fundamental de la mayoría de los hongos. (9)

Las hifas se ramifican y forman una masa algodonosa llamada micelio, que se extiende sobre el medio o superficie (como tierra o madera, entre otros) y produce cuerpos fructíferos. En realidad, el hongo lo constituye el micelio y los cuerpos fructíferos. Los cuerpos fructíferos son las estructuras que se ven a simple vista sobre un sustrato, medio o superficie y su función es producir esporas que serán dispersadas por el agua, el viento, insectos u otros elementos. Los cuerpos fructíferos son estacionales y aparecen sólo en ciertas épocas del año, pero el micelio permanece sobre el sustrato, incluso durante cientos de años. (9)

Debido a que poseen una capacidad extraordinaria de adaptarse y desarrollarse sobre cualquier medio o superficie, tanto terrestre como acuática, no sólo en bosques sino en ciudades y otros ambientes humanos, los hongos se pueden encontrar por todo el mundo y en todos los medios. Poseen la capacidad de crecer tanto en ambientes naturales, como en tela, cuero, plástico, hule, metales, vidrio, papel, carbón, alimentos o cualquier otra sustancia o residuo. Por ello, en algunos casos pueden resultar muy destructivos, como por ejemplo cuando atacan alimentos almacenados o cultivos de valor económico o causan enfermedades (micosis) en plantas o animales, incluyendo humanos. (9)

Algunos hongos tienen cuerpos fructíferos visibles a los ojos humanos, son los llamados macrohongos, también conocidos como setas o champiñones. Otros, llamados microhongos, se pueden observar con un microscopio óptico con objetivo 10x. (9)

### **2.1.1.1. Clasificación de los hongos**

De acuerdo con el Diccionario de Hongos (Hawksworth et al, 1995), este reino tiene aproximadamente 103 órdenes, 484 familias, 4.979 géneros y unas 80.000 especies descritas. Se divide en cuatro grupos o filos: Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota y Zygomycota (9)

#### **- Ascomycota**

Es el grupo más grande. Estos hongos poseen formas muy variadas: de copa, botón, disco, colmena y dedos, entre otras. Agrupa una gran cantidad de hongos patógenos de plantas y animales y aquellos que crecen sobre alimentos, además algunos que se pueden encontrar sobre cuero, tela, papel, vidrio, lentes de cámaras, paredes, etc. (9)

La característica principal, además de su forma, es la presencia de estructuras reproductoras microscópicas llamadas ascas, que dan origen a las esporas. Las ascas están formadas por una célula especializada con forma de saco en cuyo interior se forman las esporas. A las esporas producidas por los ascos se les llama ascosporas. (9)

#### **- Basidiomycota**

Incluye aquellos hongos con forma de sombrilla, de coral, las orejas de palo, los gelatinosos, globosos y algunas levaduras, entre otros. También incluye los que tienen aspecto polvoriento o como manchas y crecen sobre diversas estructuras de las plantas (flores, frutos, hojas, tallo o raíces). Algunos tienen importancia económica, como las royas y los carbones. (9)

A nivel microscópico su característica principal es la presencia de estructuras reproductoras especializadas o basidios, las cuales dan origen a las esporas pero en forma externa, generalmente en grupos de cuatro, aunque en algunas especies pueden encontrarse dos y seis esporas por basidio. Las esporas se conocen como basidiósporas. (9)

### - Chytridiomycota

Grupo formado principalmente por hongos acuáticos microscópicos, aunque algunos pueden crecer también sobre materia orgánica en descomposición u organismos vivos como gusanos, insectos, plantas y otros hongos. En este caso, las esporas, llamadas "zoosporas", poseen flagelos que les permiten moverse en medios líquidos. (9)

### - Zygomycota

Compuesto por hongos microscópicos que poseen micelio hialino o pigmentado sin tabiques (cenocíticos) que pueden desarrollarse sobre materia orgánica en descomposición, aunque también se pueden encontrar en el tracto digestivo de algunas especies de artrópodos, como los insectos. (9)

#### 2.1.1.2. Levaduras

Las levaduras son hongos unicelulares, heterotróficos por el hecho de que solo pueden alimentarse de materia ya preformada. Las levaduras están distribuidas en casi todos los hábitats naturales. (11)

Las levaduras forman sobre los medios de cultivo colonias pastosas, constituidas en su mayor parte por células aisladas que suelen ser esféricas, ovoideas, elipsoideas o alargadas; unas pocas presentan hifa. Las dimensiones pueden oscilar de 2 a más de 50  $\mu$  de diámetro según la especie. (12)

Las células de las levaduras son conidios (esporos) formados según diferentes tipos de conidiogénesis. En *Saccharomyces* una célula madre da lugar a la formación de yemas en diferentes puntos de la superficie produciendo en cada uno sólo una célula hija (blastoconidio o blastospora), en *Rhodotorula* o *Cryptococcus* todos los brotes surgen desde un solo punto. En el caso de *Schizosaccharomyces* la célula es casi cilíndrica y los conidios tienen una base muy ancha. Las levaduras hifales, como *Trichosporon* o *Geotrichum* producen artroconidios (o artrosporas) por formación de septos dobles en las hifas, que luego se escinden (12).

Las levaduras pertenecen a dos clases de hongos: ascomicetos o basidiomicetos. Las levaduras ascomicéticas forman ascas libres, con 1 a 8 ascosporas, y en las especies hifales las ascas están desnudas. Las ascosporas de las levaduras son algo más resistentes al calor y la desecación que las células vegetativas, si bien tienen mucha menor resistencia térmica que las esporas bacterianas, por lo que mantienen la viabilidad de la especie durante los cambios adversos del medio ambiente. Son organismos aerobios y aunque muchas especies son fermentadoras otras no lo son (12).

Entre las levaduras basidiomicéticas se encuentran *Filobasidium* (forma sexuada del de *Cryptococcus*) que forma hifas con fíbulas, *Sporobolomyces* que produce esporas exógenas en la punta de una protuberancia de la célula y las descarga con fuerza, y *Rhodotorula* que como la anterior, forma un pigmento carotenoide rojo. Ambas levaduras tienen la particularidad de poseer ureasas. (12)

Las levaduras se encuentran con frecuencia en las hojas y las flores, aunque en número muy pequeño, siendo los insectos un importante vector de diseminación de las mismas. Están sobre la epidermis de frutas y pueden penetrar a los tejidos subyacentes como resultado de un daño mecánico. También se encuentran en la superficie de la piel y en el tracto intestinal de los animales de sangre caliente donde pueden vivir en simbiosis o como parásitos. Se encuentran en los suelos y en el agua salada donde contribuyen a la descomposición de plantas y algas, pero también suelen hallarse en el agua de lagos y ríos. Su presencia depende de la temperatura, el pH, la humedad y la disponibilidad de azúcares simples (11,12)

Las levaduras de las pasturas y suelo de los corrales pueden ser transportadas a los mataderos y de allí a las carcasas. *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus lentulus*, *Rhodotorula mucilaginosa* y *Debaryomyces hansenii* suelen hallarse en carcasas de cordero y cerdo. (12)

Las levaduras se multiplican asexualmente como células individualizadas que se multiplican por gemación o por tabicación, hay especies que pueden crecer como filamentos formando el micelio típico de los hongos. (11)

## **2.1.2. LEVADURAS DEL GÉNERO *Cryptococcus***

### **2.1.2.1. Historia**

En 1894, el científico italiano Sanfelice, aisló una levadura capsulada y mucoide a partir del jugo de un melocotón fermentado a la que clasificó como *Saccharomyces neoformans*. (13)

Los primeros informes de infección en humanos surgieron en Alemania Otto Busse (1894) y Abraham Buschke (1895), notificaron por separado, el primer aislamiento de un hongo de características similares a partir de una lesión pseudosarcomatosa de la tibia (osteomielitis) de una mujer de 31 años. El patólogo Busse descubrió formaciones redondeadas en la lesión y aisló por cultivo una levadura. La paciente murió de una enfermedad diseminada y el hongo fue denominado como *Saccharomyces hominis*. (3,13)

Casi simultáneamente (1894) el italiano Sanfelice aisló una levadura capsulada y mucoide a partir del jugo de un durazno fermentado con la que provocó lesiones en animales y clasificó como *Saccharomyces neoformans*. (3,13)

Ferdinand Curtis, en 1896 aisló en un absceso inguinal de un joven francés de Lille una especie de levadura que parecía causar tumores mixomatosos. Curtis obtuvo al inocular subcutáneamente diversos animales de experimentación, la formación de enormes lesiones tumorales en pulmones, bazo y riñones. Curtis nombró esta cepa como *Saccharomyces subcutaneous tumefaciens*. (13)

En 1901 Jean Paul Vuillemin, en Francia al estudiar esta levadura señaló que no formaban las típicas ascosporas del género *Saccharomyces*. Observó, además que no fermentaba los carbohidratos y la clasificó en el género *Cryptococcus*. Nombró al primer aislado clínico de Busse como *Cryptococcus*

*hominis* y *Cryptococcus neoformans* para el aislamiento de Sanfelice. (3,13)

En 1916, Stoddard y Cutler, autores americanos, describieron los aspectos clínicos de la enfermedad y le dieron el nombre de *Torula histolytica* ya que observaron una zona lítica alrededor de los tejidos del huésped que en realidad correspondía al material capsular de la levadura. Este término de *Torula* se usó durante un largo período de tiempo. (13)

En 1935, Rhoda Benham definió los caracteres morfológicos, serológicos y los criterios de identificación de más de 40 cepas que incluían las originales de Sanfelice, Busse y Curtis. Ella concluyó que todos los aislamientos humanos procedían probablemente de una misma especie y propuso conservar el nombre de *Cryptococcus neoformans* dado por Vuillemin. (13)

En 1950, E. Evans y col. de la Universidad de los Ángeles en California, prosiguiendo los estudios de Benham, encontraron diferencias serológicas en los aislados e identificó tres serotipos A, B y C. No fue hasta 20 años más tarde que Wilson, Bennett y Bailey identificaron el serotipo D cuya base eran las diferencias antigénicas del mucopolisacárido capsular. (13)

Chester E. Emmons, en 1951, hizo un importante descubrimiento en la epidemiología de *Cryptococcus neoformans*, al aislarlo de la tierra, de los nidos y heces de las palomas. (13)

El hongo recibió no menos de 37 denominaciones adicionales hasta 1952 cuando el estudio taxonómico monumental de Lodder y Kreger-Van Rij lo definió con su nombre actual, *Cryptococcus neoformans*. (13)

Emmons en 1955, aisló el hongo en las heces de palomas y gallinas, que son la fuente principal de infección. Desde su descripción inicial la criptococosis fue considerada como una infección mortal. La mayoría de los informes se refería a pacientes con cáncer, enfermedades sistémicas o infección meníngea. Antes

del descubrimiento de la anfotericina B, la mortalidad era de 80 a 90%. (3)

En 1962, Staib descubrió que *Cryptococcus neoformans* producía colonias de color marrón en un medio que contenía un extracto de *Guizotia abyssinica* (semilla de negrillo). Este es un medio selectivo muy usado para aislar e identificar *Cryptococcus neoformans*. (13)

En 1963, Staib indicó que las excretas de palomas favorece el crecimiento de *Cryptococcus neoformans* por el alto contenido de creatinina, ácido úrico, guanina y xantina. Sin embargo, el suelo y las excretas pueden ser ambientes hostiles para *Cryptococcus neoformans* cuando están expuestas a la radiación solar, temperaturas extremas, condiciones anaeróbicas, baja humedad y extrema acidez. Las altas concentraciones de amoníaco en excretas frescas inhiben el crecimiento de la levadura, mientras que las altas concentraciones de levaduras se encuentran en las excretas secas de paloma porque es un ambiente desfavorable para el crecimiento de la mayoría de los otros microorganismos. (13)

En 1970 Lodder y Kreger-Van Rji fueron quienes primero usaron el nombre *Cryptococcus neoformans*. Benham describió cuatro serotipos de *Cryptococcus neoformans*: A, B, C y D. Existen dos especies: *Cryptococcus neoformans* (serotipos A y D) y *Cryptococcus gattii* (serotipos B y C) que antes eran conocidas como variedades. (3)

En 1982, Know-Chung y otros propusieron un medio de cultivo que permitía la diferenciación de ambas variedades con alta especificidad, se basaba en la capacidad de la var. *gattii* de resistir y crecer en presencia de L-canavanina y utilizar la glicina como única fuente de carbono. Desde entonces, éste medio de cultivo ha sido empleado por diversos autores para la diferenciación sencilla y específica de las dos variedades. Esta autora clasificó a la fase teleomorfa del género *Cryptococcus* en el género *Filobasidiella*. (13)

En 1990, Ellis y Pfeiffer propusieron que el nicho ecológico de *Cryptococcus*

*neoformans* var. *gattii* podía estar relacionado con unas determinadas especies de Eucaliptos como *Eucaliptus camaldulensis* y *Eucaliptus tereticornis*. Actualmente en Brasil se ha reportado el aislamiento de *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* de detritos de árboles como *Moquilea tomentosa* y en árboles diferentes a los Eucaliptos en Buenos Aires, Argentina. (13)

En 1999, Franzot apoyado en aspectos clínicos, moleculares y biológicos indicó que el serotipo A es significativamente diferente del serotipo D y propuso que el serotipo D debería ser llamado *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*. (13)

### 2.1.2.2. Clasificación taxonómica

Reino: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Orden: Tremellales

Familia: Tremellaceae

Género: *Cryptococcus*

- **Especies:** El género *Cryptococcus* incluye alrededor de 100 especies, de las cuales el *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii* son consideradas patógenas para los humanos, y existen referencias en la literatura de otras especies que causan enfermedad esporádicamente *C. albidus*, *C. laurentii*, *C. uniguttulatus*, *C. humicola*, *C. curvatus*, *C. Luteolus*) (14,15)

La especie *C. neoformans* está dividido en variedades: *C. neoformans* var. *grubii*, *C. neoformans* var. *neoformans* (15)

- **Serotipos:** En la composición de la cápsula del *C. neoformans*, existen cuatro serotipos: A, B, C y D. (15)

### 2.1.2.3. Descripción

*Cryptococcus* es una levadura saprofita que presenta una baja virulencia en individuos inmunocompetentes, pero que puede comprometer seriamente la vida de los pacientes inmunodeprimidos, que se desarrolla en heces de aves y en el suelo (13)

Las cepas de *Cryptococcus* presentan una cápsula polisacárida, ésta cápsula, puede ser muy voluminosa con un diámetro que varía de tamaño de 1-30 micras. En cambio, el diámetro de la cápsula se reduce cuando se realizan cultivos sucesivos e incluso se puede llegar a perder. (13)

### 2.1.2.4. Morfología.

#### - **Estado anamorfo o mitospórico.**

La reproducción asexual representa el estado anamórfico, el cual está caracterizado por la producción de células levaduriformes gemantes (propágulos asexuales), que típicamente desarrollan una gran cápsula compuesta por polisacáridos. La estructura inmunoquímica de la cápsula polisacárida de *Cryptococcus neoformans*, ha permitido definir los serotipos de esta levadura, los cuales han sido designados A, B, C y D. (16)

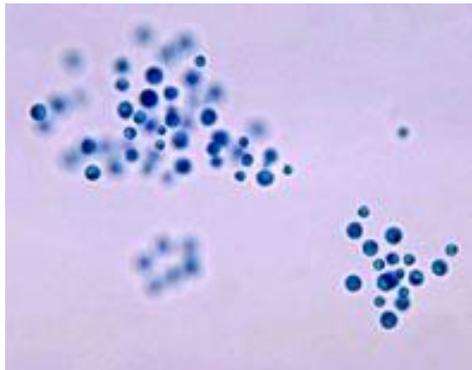
Las levaduras son redondas (4-6  $\mu\text{m}$  de diámetro) o en ocasiones globular a ovaladas y excepcionalmente formadoras de pseudomicelio, gram positivo y de unas 3 a 7 micras de diámetro, se reproduce de forma sexual. Tanto las levaduras madre, como los blastoconidios se caracterizan por la presencia de cápsula. (13,14)

En los aislamientos de fuentes ambientales, son por lo general pequeños (4  $\mu\text{m}$ ) con capsula prácticamente inaparente mientras que en los de origen clínico sucede lo contrario (15)

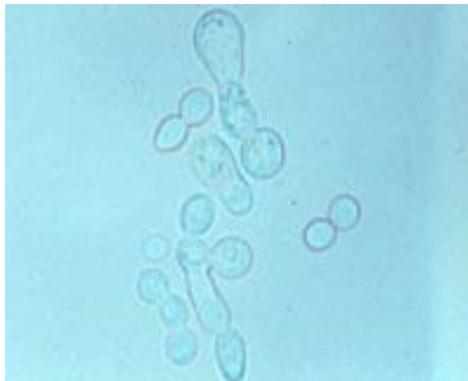
#### - **Estado Teleomorfo.**

El estado sexual del hongo está caracterizado por la producción de

basidiosporas (propágulos sexuales). *Filobasidiella neoformans* es el teleomorfo de *C. neoformans* y *F. bacillispora*, lo es de *C. gattii*. El género *Filobasidiella* es un basidiomiceto, con dos tipos sexuales: "a" y "alfa" caracterizados por tener el micelio hialino, consistente en hifas dicarióticas y un basidio alargado, portando basidiosporas sésiles y en cadena (gemación basípeta). (3, 14,15)



**Figura 1.** *Cryptococcus neoformans*. (17)



**Figura 2.** *Cryptococcus albidus*. (17)

#### **2.1.2.5. Factores de virulencia.**

Las características más estudiadas sobre *C. neoformans* son la presencia de la cápsula polisacárida y la producción de melanina. El polisacárido capsular puede: impedir la fagocitosis y la actuación del complemento, inhibir la producción de ciertas linfocinas impidiendo las respuestas tanto celular como humoral, enlazar e inmovilizar parcialmente a los anticuerpos dirigidos contra la

pared celular y la cápsula del hongo y además enmascarar a los anticuerpos, la enzima fenil-oxidasa contribuye al especial neurotropismo del hongo. (14,17)

La presencia de la melanina funciona como un escudo que protege al hongo contra: anticuerpos del hospedero, agentes oxidantes y la anfotericina B. Otros parámetros que pudiesen estar relacionados con la patogenicidad de este hongo son: el tipo sexual, la biosíntesis de adenina, producción de manitol y ureasas y presencia de miristoil-transferasas. (14)

#### **2.1.2.6. Características de la Cápsula.**

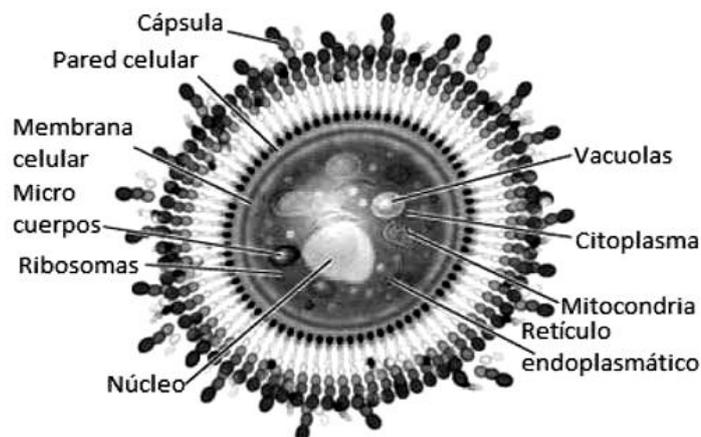
La cápsula interviene como factor de virulencia y determina también los diferentes serotipos. El polisacárido principal está constituido por glucuronoxilomanano (GXM), que es un complejo de ácido glucurónico, xilosa y manano. Este antígeno determina los serotipos y se acumula en los fluidos corporales. (13)

El GXM de todos los serotipos contiene manosa, xilosa y ácido glucurónico, por lo que los cuatro serotipos tienen determinantes antigénicos comunes. El factor antigénico 1 es común a los cuatro serotipos y nos permite definir la especie de *neoformans*, el 2 se encuentra en los serotipos A, B y C, el 3 en él A y D, el 4 en el B y C, el 5 solo se halla en el serotipo B, el 6 en el C, el 7 en él A y el 8 en el D. Algunas cepas pueden aglutinar con los antisueros A y D y estos definen un quinto serotipo llamado AD. El serotipo AD es una cepa genotípicamente intermedia entre el serotipo A y D que se diferencia por la composición química de la cápsula polisacárida y por la reacción de aglutinación con antisuero. A nivel molecular se ha determinado que cepas de serotipo AD contienen genomas aneuploides o diploides y que este serotipo es el resultado de un cruce genético entre cepas haploides de serotipo A y serotipo D. (13)

Los serotipos A y D se identifican como *C. neoformans* y los B y C como *C. gattii*. Hay marcadas diferencias entre las dos especies, tanto desde el punto de vista patogénico como de distribución geográfica, de tal manera que *C.*

*neoformans* se ha relacionado con la infección en pacientes inmunodeprimidos y su distribución es mundial. El *C. gattii* se ha descrito en infecciones de pacientes inmunocompetentes y su distribución se limita a países tropicales y subtropicales. (3)

También hay diferencias bioquímicas entre los serotipos: los B y C, asimilan los ácidos málico, fumárico y succínico; producen un pigmento verde cuando se cultivan en agar Níger y en agar con L-canavanina- glicina-azul de bromotimol; utilizan la glicina como fuente de carbono. Los serotipos A y D, no presentan estas reacciones. También existen diferencias genéticas demostradas mediante hibridación de DNA. (3,14)



**Figura 3:** Esquema de la levadura *Cryptococcus neoformans*, donde se puede apreciar la cápsula y todos sus componentes. (14)

#### 2.1.2.7. Características de crecimiento

Los *Cryptococcus* producen colonias mucosas, de coloración blanco amarillenta en medios tradicionales como agar Sabouraud, crece bien a 37° C, asimila la glucosa, galactosa, celobiosa, rafinosa, inositol, trealosa y dulcitol, utiliza el nitrato de potasio y produce ureasa y feniloxidasas, no produce pseudomicelio, ni micelio en el estado haploide. (13)

Una característica que diferencia las cepas de *Cryptococcus* patógenas

(*Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii*) de las no patógenas y otras especies de *Cryptococcus*, es su habilidad para formar un pigmento marrón (melanina) a partir de componentes difenólicos. Esto se debe a la producción por parte de la levadura de una enzima, la fenoloxidasa, que convierte los sustratos hidroxibenzoicos en pigmentos marrones que imparten el color oscuro a las colonias y al medio. (13)

Estos medios son ideales cuando se hacen estudios ambientales donde se quiere diferenciar la especie *neoformans* y *gattii* de otras levaduras. (13)



**Figura 4:** Colonias de color marrón corresponden a *Cryptococcus neoformans*, colonias de color blanco corresponden a *Cándida*, sembradas en agar *Guizotia abyssinica*. (13)

*Cryptococcus gattii* a temperatura de 25° C produce levaduras atípicas de forma alargada, a parte de las típicas células redondeadas. La temperatura óptima de crecimiento es de 2° C, aunque tolera temperatura de 37° C. Al igual que *Cryptococcus neoformans* produce colonias de color marrón en los medios con compuestos difenólicos. (13)

Ambas especies tienen particularidades bioquímicas que permiten diferenciarlas como el metabolismo de la creatinina, la capacidad de crecer en el medio L-canavanina-glicina–azul de bromotimol (CGB), el metabolismo de la glicina y la asimilación de D-prolina y D-triptofano, como únicas fuentes de nitrógeno. (13)

*Cryptococcus gattii* crece en el medio CGB ya que es resistente a la L-canavanina. La L-canavanina actúa como un inhibidor metabólico de aquellas enzimas que contienen L-arginina, altera sus estructuras terciarias y cuaternarias, por consiguiente la actividad metabólica de tales proteínas. De esta forma la L-canavanina resulta tóxica para *Cryptococcus neoformans*, pero la resistencia de *Cryptococcus gattii* se ha atribuido a la presencia de un sistema capaz de degradar la L-canavanina y convertirla en compuestos no tóxicos. (13)

La utilización de la glicina como única fuente de carbono y nitrógeno produce la alcalinización del medio y hay un cambio de color que pasa de amarillo a azul por cambio del indicador de ph (azul de bromotimol). Esta prueba resulta negativa para la *C. neoformans* (Polacheck *et al.*, 1980). (13)



**Figura 5:** Crecimiento de *Cryptococcus gattii* en la parte superior del agar L-canavanina-glicina-azul de bromotimol. Observar el cambio de color del medio de amarillo a azul intenso. (13)

#### 2.1.2.8. Distribución en la naturaleza

Esta levadura posee una peculiar distribución geográfica de sus variedades y serotipos, habiéndose encontrado una incidencia muy elevada de *C. neoformans* tanto en Europa como en el norte de América, mientras que en zonas tropicales o subtropicales, la variedad *C. gattii* es la que predomina. (3)

El *C. neoformans* se ha aislado a partir de varias fuentes naturales (vegetales, frutas, jugos de frutas, madera, productos lácteos y suelo), pero es notoria su asociación con desechos aviarios (pericos, loros, canarios) y especialmente con excrementos de palomas. Las palomas y otras aves son reservorios del hongo y fuentes de infección, ya que albergan en su organismo al *C. neoformans* sin desarrollar la enfermedad debido a que su elevada temperatura corporal es de aproximadamente 42° C. En estas condiciones el microorganismo sobrevive pero no se desarrolla. (3)

Por otro lado, los aislamientos ambientales de *C. gattii* (serotipos B y C), han establecido que esta variedad tiene una asociación ecológica estrecha con algunas especies de árboles de eucalipto en Australia como eucaliptos (*Eucalyptus camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. rudis* y *E. gomphocephala*, así como *Terminalia catappa* en Colombia y *Moquilea tomentosa* en Brasil) y en los koalas de Australia. (5,14)

### **2.1.3. CRIPTOCOCOSIS**

La criptococosis conocida antiguamente como: torulosis, blastomicosis europea, enfermedad de Busse-Buschke es una zoonosis que corresponde a una micosis sistémica de curso subagudo o crónico que puede afectar el tracto respiratorio, la piel o al sistema nervioso central, tanto de animales como de humanos. No se encuentra entre las consideradas “Enfermedades de Declaración Obligatoria” en ningún país del mundo por lo tanto existe poca información acerca de su incidencia en grupos de riesgo como son los enfermos de SIDA, pacientes con cáncer o individuos receptores de trasplantes. (13)

#### **2.1.3.1. Criptococosis humana**

La infección causada por levaduras del género *Cryptococcus* se llama criptococosis. (3)

El *Cryptococcus neoformans* es responsable de la mayoría de las infecciones, principalmente en pacientes inmunocomprometidos. Aunque puede ocurrir en pacientes aparentemente inmunocompetentes. En cambio el *Cryptococcus gattii* se ha relacionado más con infecciones en individuos inmunocompetentes.(3,14)

Entre los criadores de palomas, trabajadores de establos y gallineros no es más frecuente la enfermedad; sólo tienen títulos elevados de anticuerpos específicos. Aunque algunas bibliografías indican que afecta preferentemente a criadores de palomas, aficionados a aves y trabajadores de laboratorio (3,17)

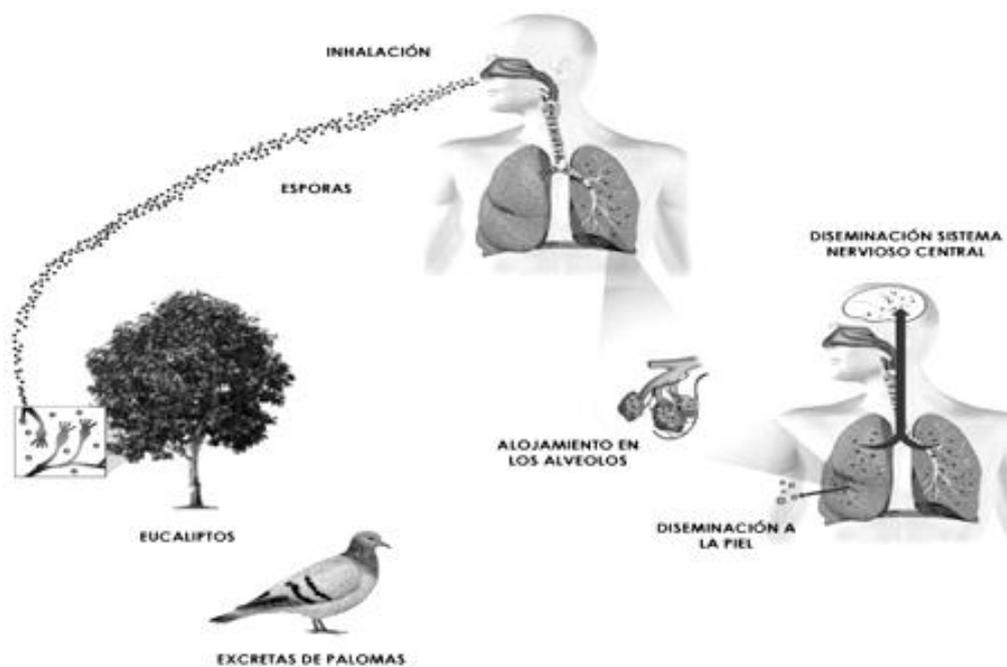
Los individuos inmunocomprometidos que pueden desarrollar la infección padecen desnutrición, sarcoidosis, enfermedades de la colágena como lupus eritematoso sistémico, leucemia, linfoma, diabetes o han recibido trasplante. Sin embargo, también hay casos sin compromiso inmunológico, sólo el 1 % de la población menor de 13 años infectada por el VIH contrae la enfermedad. (3)

Actualmente, debido al VIH, el grupo más afectado es el de pacientes con SIDA: se enferman 5 a 10% de los adultos y el 90% de éstos desarrolla meningitis. La infección ocurrió en 6.2% de 274,150 casos con SIDA informados al CDC (Center for Disease Control) hasta septiembre de 1993. Es más frecuente en hombres y en pacientes con SIDA, con relación de 4:1, tal vez debido a la mayor exposición de los hombres a este microorganismo. En niños el CDC señala que sólo el 1 % de la población menor de 13 años infectada por el VIH contrae la enfermedad. (3)

La criptococosis tiene una distribución geográfica amplia. Los casos causados por *C. neoformans* var. *grubii* predominan en lugares de clima templado, principalmente en EUA (excluyendo sur de California y Hawai) y Japón y *C. neoformans* var. *neoformans* (serotipo D) en Europa. Por otra parte, los casos provocados por *C. gattii* provienen principalmente de África, Latinoamérica, Sur de EUA (California), Australia y Canadá. (14)

### 2.1.3.1.1. Mecanismo de infección

El hongo ingresa al organismo principalmente por inhalación de esporas de las levaduras desecadas que existen en la naturaleza (excremento principalmente de las palomas), lo que ocasiona una primoinfección pulmonar, usualmente asintomática o puede resultar en una neumonía autolimitada que se puede resolver en algunas semanas o meses aun en ausencia de tratamiento, produce lesiones que se caracterizan por inflamación granulomatosa intensa que puede formar lesiones pseudotumorales o diseminarse por vía hematógica al sistema nervioso central, hueso, prostata y la piel. La meningitis o las lesiones focales cerebrales constituyen el cuadro clínico más típico suele ser de curso crónico (13, 15)



**Figura 6.** Mecanismo de infección de *Cryptococcus*. (15)

La transmisión de persona a persona no existe, pero sí ocurre a través de órganos trasplantados. No se conocen casos de transmisión directa de los animales al hombre (3)

Excepcionalmente, se presentan casos cutáneos primarios, ocasionados por la entrada del agente mediante una solución de continuidad. (14)

La respuesta del organismo ante la infección depende principalmente de la inmunidad celular. (15)

Al entrar por las vías respiratorias altas, la resistencia a la infección parece que depende de la activación de los macrófagos y neutrófilos por los linfocitos más sensibilizados, siendo además necesaria una buena respuesta humoral con anticuerpos opsonizantes de la clase IgG e IgM. La infección se resuelve por sí sola en el 90% de los casos. (3,14)

Cuando el *Cryptococcus* llega a los alveolos pulmonares se desencadena una respuesta de la inmunidad celular y humoral del huésped, que en condiciones normales es suficiente para controlar la infección (17).

Debido a que los pacientes más susceptibles a la infección por este hongo presentan una alteración de la inmunidad celular o humoral, el microorganismo no es eliminado por los mecanismos de defensa apropiados cuando penetra en las vías respiratorias. (14,17)

El hongo coloniza el árbol bronquial, así progresa hacia el pulmón, donde la evidencia sugiere que inicia la criptococosis, se disemina por vía hematógena a la piel, huesos, vísceras abdominales y particularmente hacia el sistema nervioso central (SNC), siendo ésta la localización más frecuente produciendo cuadros de meningitis o meningoencefalitis. (17)

Generalmente, las lesiones pulmonares se resuelven espontáneamente y son asintomáticas. La criptococosis pulmonar primaria, probablemente representa una ligera o mínima exposición y se llega a identificar un granuloma subpleural encapsulado. (14)

Las lesiones activas son granulomatosas o mixomatosas y pueden estar caracterizadas por masas de células de *C. neoformans* que debido a su crecimiento y cápsula producen desplazamiento mecánico de tejidos del hospedero. Si las lesiones de este tipo penetran la pared de un bronquio, se descarga un gran número de células fúngicas en el esputo. Las lesiones pulmonares de criptococosis no calcifican y es probable que la mayoría de ellas curen sin dejar evidencia. (14)

En pulmones con infección criptococal progresiva, las lesiones se aprecian como granulomas miliares, pequeños abscesos, o lesiones mucoides grandes y sólidas de neumonitis incluyendo uno o más lóbulos. (14,17)

Posteriormente, el hongo se disemina por el torrente sanguíneo, vía de infección habitual al sistema nervioso central y de otros órganos. (14,17)

En el sistema nervioso central, se desarrolló lesiones granulomatosas en las meninges. La respuesta inflamatoria cerebral es de magnitud variable pero de menor intensidad a la que ocurre en la meningitis bacteriana, en el infiltrado inflamatorio predominan los mononucleares, mientras que los polimorfonucleares son escasos. Pueden formarse granulomas pequeños y quistes en la corteza cerebral; ocasionalmente los granulomas y nódulos quísticos de gran tamaño. Los quistes están constituidos por un material gelatinoso con gran número de levaduras capsuladas en su interior. También pueden aparecer nódulos sólidos formados por fibroblastos, células gigantes, agregados de levaduras y zonas de necrosis. (3)

En la necropsia, la reacción meníngea se hace notoria en la base del cerebro y la parte dorsal del cerebelo, con membranas espesas y opacas. En el espacio subaracnoideo se presenta, de forma característica, un exudado mucoso adherente semejante a pequeñas "burbujas de jabón". Quitando la membrana, en la superficie de la corteza pueden observarse múltiples y finos hoyuelos. Se aprecian focos quísticos con masas de levaduras, predominantemente

localizados en la materia gris, los cuales pueden estar en comunicación con la superficie. (14)

El mismo patrón de lesiones granulomatosas, visto en pulmones y sistema nervioso central se da en los tejidos de cualquier órgano afectado. (14)

La apariencia mucoide causada por *Cryptococcus* es consecuencia de las numerosas células de *C. neoformans* y de reacción celular tenue. Cuando *C. neoformans* exhibe una reacción celular marcada, las lesiones no pueden ser distinguidas histopatológicamente de aquellas de otras enfermedades granulomatosas. (14)

Debido a la encapsulación del hongo, la reacción de defensa del hospedero es relativamente tardía. Dependiendo del grado de desarrollo capsular, las reacciones celulares (granulomas y ocasionalmente necrosis) generalmente aparecen en infecciones avanzadas. (14)

#### **2.1.3.1.2. Formas clínicas.**

El curso de la criptococosis en un paciente depende de la cantidad del inoculo, de su estado inmunológico y de la virulencia de la cepa infectante. (3)

En individuos inmunocompetentes la infección es autolimitada y poco sintomática. (13)

La enfermedad diseminada ocurre en huéspedes con alteraciones inmunológicas o con enfermedades debilitantes como linfomas, leucemias, Hodgkin, lupus eritematoso sistémico, diabetes mellitus descompensada y especialmente en pacientes con SIDA; se presenta en forma aguda en pacientes con VIH, en pacientes bajo tratamiento con corticoides o en pacientes con neoplasias hematológicas; en otro tipo de enfermos la infección puede tener una evolución crónica. (3,14)

La mayoría de los pacientes tiene síntomas como cefalea, fiebre y malestar general. Los hallazgos físicos son escasos y no orientan el diagnóstico; los signos meníngeos, neurológicos focales o las convulsiones son infrecuentes. Es importante que el médico mantenga una alta sospecha de esta enfermedad para llegar al diagnóstico. De acuerdo al órgano afectado la enfermedad puede ser pulmonar, cerebral, cutánea, ósea o diseminada (3,14)

La infección por *Cryptococcus* afecta con mayor frecuencia al sistema nervioso central y en segundo lugar al pulmón (13)

- **Criptococosis del sistema nervioso central (SNC).** Es la forma clínica de criptococosis diagnosticada con mayor frecuencia y la causa más común de muerte. Las manifestaciones corresponden a una meningitis cuadro más frecuente en inmunodeprimidos, meningoencefalitis o lesiones focales llamadas también lesiones granulomatosas (criptococoma) o pseudoquistes intraparenquimatosos, con cefalea intermitente. (3, 13,14)

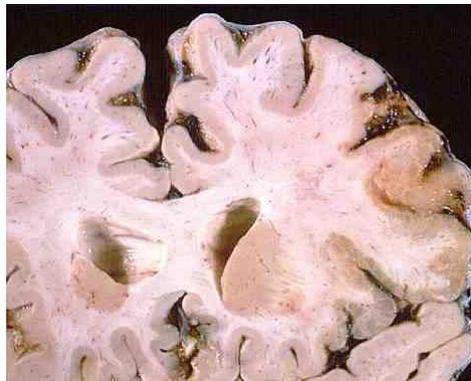
EL paciente puede sufrir cefalea de predominio frontal, temporal; aunque el resultado usualmente es insidioso y el curso crónico, el paciente puede desarrollar súbitamente vértigo, cefalea frontal severa, temporal o postorbital puede ser pulsátil y acompañarse de visión borrosa, fiebre intermitente de 38°C acompañada de escalofrío y sudación que dura el mismo tiempo que la cefalea, síndrome de hipertensión intracraneana con cefalea, papiledema, diplopía, náusea y vómito. También puede haber alteraciones de la conciencia como alucinaciones, desorientación, irritabilidad, pérdida de la memoria y convulsiones (3, 13,14)

El curso agudo y severo puede indicar la presencia de lesiones cerebrales de rápida diseminación. Los datos clínicos corresponden a los de una lesión intracraneal extensa o meningitis cerebroespinal con fiebre elevada, rigidez de nuca moderada; cambios de personalidad, pérdida de la memoria, letargia, irritabilidad o apatía, incoherencia y coma se desarrollan en promedio en cuatro

a seis semanas; los reflejos de rótula y talón pueden estar disminuidos pero algunos pacientes muestran hiperreflexia. Puede existir presencia de papiledema que requiere de frecuentes drenajes espinales para prevenir un daño óptico irreversible. También puede ocurrir ambliopía, diplopía, estrabismo, nistagmus, fotofobia, neurorretinitis, hemorragia retinal y atrofia del nervio óptico. (14)

La duración de la criptococosis del SNC varía de pocos meses a 15 - 20 años, aunque el curso usual es rápido y marcado por un deterioro progresivo. En la mayoría de los casos crónicos, hay períodos de remisión y eventualmente se presenta la recurrencia a la enfermedad progresiva. (14)

La lesión característica en el cerebro son grupos de quistes de hongos sin reacción inflamatoria, esta forma de presentación produce coma profundo y muerte del paciente. (13)



**Figura 7:** Aspecto de la afectación cerebral con extensa destrucción cortical y de la sustancia blanca subcortical, que adoptan una apariencia gelatinosa. (13)

• **El criptococoma o granuloma coccidoidal.** Es infrecuente. Se localiza en el cerebro y puede causar cefalea, náusea, vómito, somnolencia, diplopía, visión borrosa, fotofobia, nistagmo, vértigo, deterioro mental variable, convulsiones, desde irritabilidad hasta psicosis, estado de coma y hemiparesia. (3,14)

- **Criptococosis pulmonar.** Generalmente las lesiones pulmonares se encapsulan y sanan en pacientes inmunocompetentes la infección pulmonar puede progresar, remitir espontáneamente o permanecer estable y asintomática por períodos prolongados. (3)

En pacientes inmunodeprimidos, la enfermedad varía desde asintomática a grave. En estos casos las lesiones son pequeñas y pueden pasar inadvertidas; además, algunas lesiones curan sin formar granulomas. La criptococosis pulmonar crónica ha sido reportada ocasionalmente. Las manifestaciones clínicas no son específicas; los principales signos y síntomas son: tos y escaso esputo mucoso con o sin hemoptisis, febrícula, malestar general y pérdida de peso, algunos tienen dolor pleural y alteraciones radiológicas (14)

En la criptococosis pulmonar fulminante hay fiebre continua elevada, consolidación pulmonar y dificultad respiratoria que evoluciona hacia la insuficiencia respiratoria. Las lesiones pulmonares pueden afectar un solo lóbulo o ser bilaterales. (3)

En la radiografía de tórax se observan infiltrados intersticiales densos con tendencia a la organización; también puede observarse linfadenopatía hilar. Si curan, estas lesiones desaparecen o forman un pequeño granuloma que a veces se calcifica. Al progresar la enfermedad, aparece un infiltrado más amplio y difuso que afecta las áreas apicales y basales pulmonares. Se observan claramente los vasos y sombras nodulares. En enfermos con SIDA o inmunocomprometidos, la infección se exagera; se extiende a todo el pulmón y puede causar una neumonía intersticial bilateral. Otros pacientes tienden hacia la consolidación segmentaria o cavitaria, o bien a la producción de derrame pleural. Los infiltrados peribronquiales son extensos; la producción de fibrosis es mínima; la necrosis por caseificación y las calcificaciones son excepcionales y raramente se advierten bandas fibrosas. (3,13)

En los enfermos con linfomas y leucemia la criptococosis miliar se asemeja a la tuberculosis. Las lesiones están formadas por pequeños gránulos gelatinosos en todo el campo pulmonar. Posteriormente pueden formar granulomas. (3)



**Figura 8:** En la base del pulmón se observa una lesión nodular solitaria, redondeada y radiodensa correspondiente a una Criptococosis granulomatosa nodular. (13)



**Figura 9:** Criptococosis pulmonar del hilio izquierdo con bandas fibrosas. El diagnóstico se confirmó con una biopsia endobronquial. (13)

- **Criptococosis cutánea primaria.** Este padecimiento ocurre en forma regular en pacientes inmunosuprimidos. Suele ser una manifestación de la enfermedad diseminada. En algunos pacientes la vía de entrada del microorganismo es por una solución de continuidad en la piel. Las lesiones se desarrollan alrededor de una herida de donde el *Cryptococcus* puede diseminarse internamente. Tienen

forma de pápulas, pústulas acneiformes o abscesos subcutáneos con superficies irregulares y granulomatosas que con el tiempo se ulceran. En pacientes inmunocompetentes las lesiones son chancriformes y limitadas; generalmente involucionan espontáneamente; en otros casos dejan lesiones nódulo-granulomatosas. (3,14)

La criptococosis mucocutánea es menos frecuente que la cutánea. Las lesiones se presentan en forma de nódulos, granulomas o úlceras profundas o superficiales, y no están consideradas como sitios primarios de inoculación, a menos que exista linfadenopatía regional, pero es factible la diseminación hematógena o extensión de una lesión cutánea. (3,14)



**Figura 10:** Estas son lesiones de piel causadas por *Cryptococcus* (a la izquierda se observan lesiones en la frente y a la derecha lesiones en una mano). (13)

- **Criptococosis cutánea secundaria.** Es más común que la primaria; se presenta por diseminación hematógena a partir de un foco meníngeo o pulmonar. Afecta principalmente cara, cuello y miembros. Las lesiones son ulceraciones superficiales con necrosis y formación de escaras, o bien lesiones trombóticas profundas muy destructivas; se inician como un absceso frío que se desarrolla en un área amplia y profunda de necrosis con formación de costras y esfacelo. Las lesiones deben diferenciarse de la celulitis bacteriana y

de las lesiones herpéticas. En los pacientes con SIDA las lesiones aparecen en la cara y el cuello; tienen el aspecto de molusco contagioso. (3)

- **Criptococosis ósea.** Esta forma clínica, es secundaria a la diseminación de un foco pulmonar, un foco meníngeo o de ambos. Los *Cryptococcus* tienen predilección por las prominencias óseas, los huesos del cráneo y las vértebras. En la radiología se detectan lesiones múltiples, discretas, ampliamente diseminadas, destructivas, de evolución crónica. Los síntomas más frecuentes son inflamación y dolor de la zona afectada. Una lesión ósea aislada puede ser la única manifestación de la enfermedad. Puede haber periostitis, osteofibrosis y osteolisis. Ocasionalmente se ven fístulas que drenan material mucoso o seropurulento hacia la piel. (3,14)

- **Criptococosis visceral.** Cualquier órgano o tejido del cuerpo es susceptible de invasión. Las lesiones granulomatosas son habitualmente sintomáticas, con parecido histológico a cáncer maligno. Las lesiones del ojo incluyen papiledema, uveítis, retinitis y queratitis. (14)

- **Criptococosis diseminada.** Es una forma infrecuente que generalmente es secundaria a un foco infeccioso pulmonar. Los sitios que más afecta son los ojos, el corazón, la próstata y los testículos; menos frecuentemente el hígado, donde el dolor puede simular un abdomen agudo. La infección masiva de las suprarrenales puede dar signos de enfermedad de Addison. La coriorretinitiscriptococósica puede ocurrir por diseminación hematogena o por extensión directa a partir del espacio subaracnoideo. (3)

La próstata puede ser un reservorio de *C. neoformans* y ser causa de recidivas en pacientes tratados aparentemente con éxito con anfotericina B. Rara vez, ciertas lesiones extraneurales pueden deberse a la inoculación directa de esta levadura, incluyendo la linfadenitis esporotricócica, la queratitis o la peritonitis como complicación de una diálisis peritoneal. (3)

### 2.1.3.2. Diagnóstico Micológico

El líquido cefalorraquídeo es el espécimen en donde con mayor frecuencia se hace el diagnóstico de criptococosis; sin embargo otros productos como esputo, pus, orina, material fecal y muestras de tejido también pueden ser analizados. (14,17)

#### **Métodos Directos:**

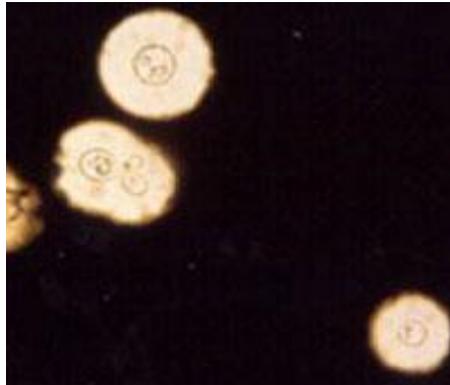
- Examen microscópico:

Examen directo en fresco con tinta china o nigrosina, es más frecuente para su visualización es por el medio de tinta china que confiere un contraste oscuro sobre el que destaca la célula con su cápsula. (13,14)

El tamaño de *C. neoformans/C. gattii* (4 – 20  $\mu\text{m}$  de diámetro) permite una fácil observación con tinción negativa, y ayuda a diferenciar al hongo de los linfocitos. Este estudio en fresco solo requiere agregar tinta china al producto patológico, lo que revela una clara aureola, imagen debida a la cápsula, en torno a las células de *Cryptococcus*. Colocando en un portaobjetos una gota de sedimento y otra de tinta china comercial; se le pone un cubreobjetos y se observa al microscopio con un objetivo seco. Muy ocasionalmente pueden observarse seudomicelios. Hay que examinar el porta-objetos completo. La sensibilidad de la tinción oscila entre el 25-50% en los casos de meningitis, aunque en los pacientes con sida puede ser mayor. Pueden producirse falsos resultados positivos en presencia de levaduras de los géneros *Rhodotorula* y *Candida*, de otras especies de *Cryptococcus*, *Klebsiella pneumoniae*, así como por artefactos. Es importante diferenciar bien la célula con doble pared refringente, con su cápsula, y hay que buscar células en fase de gemación.(14,17)

Ante un examen directo negativo, es de gran utilidad centrifugar el líquido cefalorraquídeo o la orina, a 3000 rpm/10 min, reservando el sedimento para su examen al microscopio y cultivo. El esputo y el pus, pueden mezclarse con una solución al 10% de hidróxido de sodio antes del examen. En un espécimen

apropiadamente preparado, las células del pus y desechos celulares digeridos delinean la cápsula, la cual es resistente al hidróxido. (14,17)

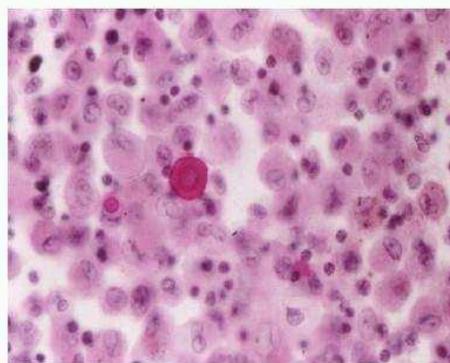


**Figura 11:** *Cryptococcus neoformans* observado al microscopio con tinta china. Se aprecian la cápsula y gemación de las levaduras (14)

### Tinciones

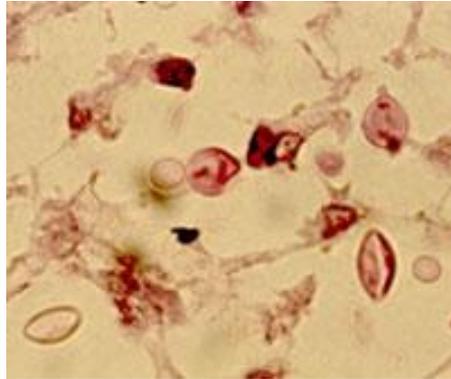
Se usan generalmente en histopatología. Los preparados histológicos del material de biopsia se tiñen con ácido peryódico de Schiff (PAS) con la cual las células fúngicas adquieren aspecto rojo, o tinción de metenamina-plata ambas tinciones permiten identificar el *C. neoformans* por el tamaño y la gemación con base estrecha. (14,17)

La técnica de Grocott-Gomori las células de *Cryptococcus* se observan negras y para identificar cápsula, se recomienda la técnica de mucicarmín de Mayer que colorea la cápsula de rojo rosáceo. (14,17)



**Figura 12:** Observación de la cápsula del *Cryptococcus neoformans* mediante la técnica mucicarmín de Mayer. (13)

En secciones teñidas con hematoxilina-eosina, las células fúngicas aparecen de color azul pálido, frecuentemente de pared delgada, cuerpos ovaes o esféricos sin estructuras internas visibles o mal definidas. (14)



**Figura 13.** Tejido teñido con hematoxilina-eosina con las levaduras redondas y ovoides y cápsulas que se manifiestan como áreas no teñidas. (14)

#### **Cultivo e identificación.**

*Cryptococcus neoformans* es fácil de cultivar en los medios convencionales (Sabouraud dextrosa, malta dextrosa, papa dextrosa), adicionados con cloranfenicol y sin cicloheximida. Los cultivos se mantienen a 30° C y a 37° C, al menos durante una semana. El cultivo levaduriforme es inicialmente blanco, pero posteriormente se torna beige y marrón-amarillo. Si las levaduras poseen grandes cápsulas, esto se verá reflejado en la presentación de una morfología colonial de aspecto brillante, mucoide y escurrente; por el contrario, si el material capsular es escaso, la morfología macroscópica se traducirá en colonias secas y opacas. (14)



**Figura 14.** *Cryptococcus neoformans*. Cultivo Agar dextrosa Sabouraud (14)

El medio de Níger (Staib agar) con alpiste, es aconsejable como primocultivo, sobre todo en los casos del aislamiento del hongo a partir de especímenes muy contaminados, como esputo o materia fecal. En este medio, las colonias de *C. neoformans* crecen de color marrón oscuro, distinguibles de otras levaduras como *Candida* spp, *Trichosporon* spp o *Rhodotorula* spp. (3,14)



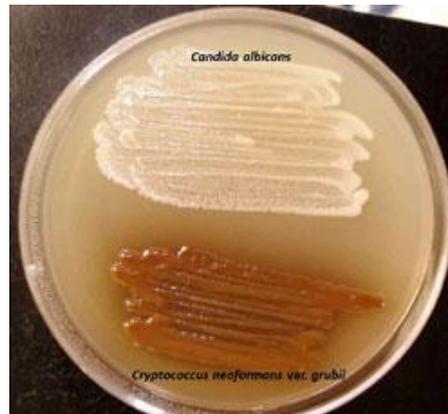
**Figura 15.** *Cryptococcus neoformans*. Derecha: Ureasa +. (14)

En el caso de una criptococemia, que se produce especialmente en pacientes con SIDA, el hemocultivo es el método mejor para el diagnóstico, aún a sabiendas de que el 50% de los casos quedan sin diagnosticar. De todos los sistemas, el de la lisis-centrifugación, se consideraba hasta hace poco como la técnica de elección para el diagnóstico de las fungemias. Sin embargo, según datos recientes, no parece que este método ofrezca grandes ventajas en cuanto a sensibilidad respecto a los hemocultivos habituales. (14)

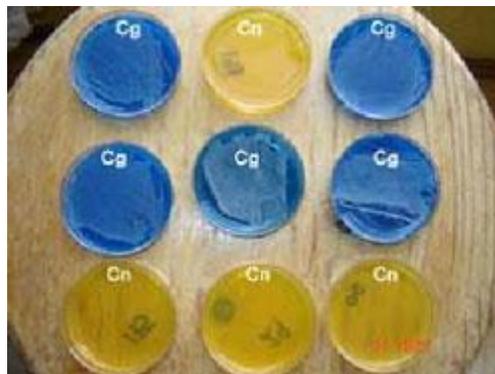
### **Bioquímica.**

*C. neoformans/C. gattii*, comparten con el resto de los miembros del género, las siguientes características: son levaduras ureasa positivos, no reductores de nitratos a nitritos, no fermentadores de azúcares, pero son las únicas especies que crecen bien a 37° C y manifiestan la presencia de lactasas (productoras de melanina) cuando crecen sobre sustratos que contienen compuestos polifenólicos como el agar Níger o el agar-DOPA. *C. neoformans* se diferencia

con facilidad de *C. gattii* pues en agar CGB es sensible a la L-canavanina y no utiliza la glicina como única fuente de carbono y nitrógeno, asimila la D-prolina y sus ureasas son resistentes a la acción del EDTA; *C. gattii* presenta las propiedades inversas. (14)



**Figura 16.** Crecimiento en agar Níger a 25°C. Se observa producción de pigmento melánico que da un color marrón oscuro a las colonias de *C. gattii* y *C. neoformans* (14)



**Figura 17.** Crecimiento en agar CGB (canavanina-glicina-azul de bromotimol), útil para diferenciar a los agentes etiológicos de la criptococosis: *C. neoformans* y *C. gattii*. (14)

### Otras pruebas de identificación.

En el año 2007 fue formado el Grupo de Trabajo Genotyping of *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii*, bajo el cobijo de la International Society of Human and Animal Mycology. El grupo seleccionó la Tipificación por Secuencias Multi-locus (MLST por sus siglas en inglés), por su poder discriminatorio y

reproducibilidad, para genotipificar mundialmente cualquier aislado de *C. neoformans*/*C. gattii*. El consenso del esquema MLST es usar siete loci genéticamente diferentes que incluyen los genes estructurales de cápsula, laccasas, superóxido dismutasas y pirofosforilasas: CAP59, GPD1, LAC1, PLB1, SOD1, URA5 y la región IGS1. (17)

### **Detección del antígeno capsular**

Entre las técnicas basadas en la detección de componentes fúngicos, está la detección del antígeno capsular del *C. neoformans* por una técnica de látex, que consiste en aglutinación con látex sensibilizado con anticuerpos anti-*Cryptococcus*, es la prueba diagnóstica de elección, útil en las muestras de suero, LCR, orina e incluso en muestras respiratorias. (14,17)

La prueba tiene alta sensibilidad y especificidad para reconocer al antígeno polisacárido. También se correlaciona con los ascensos y descensos de los títulos de anticuerpos durante el curso de la enfermedad y la respuesta al tratamiento, hay que ser cautos en su interpretación. Se han descrito resultados falsos positivos debidos a la presencia de factor reumatoide, *Trychophyton beigelii*, *Capnocytophaga canimorsus*, y en el suero de enfermos con septicemia o neoplasias. Las placas donde se realiza la prueba deben estar libres de restos de desinfectantes y detergentes. También se conocen falsos negativos, a veces por el fenómeno de prozona, que se puede corregir diluyendo la muestra o tratándola con pronasa. La sensibilidad es superior al 90%; en los pacientes con sida es incluso mayor. Sin embargo, en este tipo de enfermos, se han descrito cepas de *C. neoformans* con poca cápsula en los que la concentración de antígeno puede ser anormalmente baja. La cuantificación del antígeno del *C. neoformans* es útil para controlar la evolución de la enfermedad, ya que el título desciende si la respuesta terapéutica es buena y aumenta días antes de que se produzca una recaída, especialmente en el LCR. (14,17)

La prueba de aglutinación con látex es útil para efectuar el diagnóstico, e

identifica a los diferentes serotipos (A, B, C y D) que conforman al complejo *C. neoformans/C. gattii*. (17)

### **Diagnóstico molecular**

Es una alternativa válida para el diagnóstico de las infecciones fúngicas, especialmente para aquellas cuyo diagnóstico es difícil con las técnicas convencionales. En el caso de la criptococosis ya se han mencionado las limitaciones de las técnicas de detección de antígeno. El cultivo sobre Agar Sabouraud dextrosa sin cicloheximida se considera el método de referencia, aunque requiere al menos 3-4 días de incubación. Las técnicas de biología molecular podrían obviar algunos de estos inconvenientes y, en este sentido, hay algunos estudios recientes que refieren una buena sensibilidad y especificidad en muestras pulmonares y de LCR. Queda aún mucho camino por andar para que estas técnicas puedan ser utilizadas como métodos habituales en un laboratorio de Micología. (14)

#### **2.1.3.3. La paloma y *Cryptococcus neoformans***

El papel de la paloma como portadora de hongos patógenos fue establecido por Emmons en 1955, el cual aisló *C. neoformans* de las excreciones de palomas urbanas, siendo el primero en establecer la relación existente, y actualmente consolidada, entre el microorganismo y las heces de estas aves. Estudios posteriores realizados por el propio Emmons y por otros investigadores muestran que las excreciones viejas de palomas son la fuente conocida más abundante de dicho microorganismo. (18)

Tras el descubrimiento de Emmons, investigadores de casi todo el mundo han demostrado que las deposiciones de paloma son un importante reservorio de *C. neoformans*. Según algunos autores, este hongo no suele aislarse en deyecciones recientes, pero sí en las acumuladas y secas existentes en palomares, aleros de edificios, áticos o balcones de casas abandonadas donde duermen las palomas. (18)

Este hábitat desecado, alcalino, rico en sales y nitrógeno, es ecológicamente restrictivo pero no es infrecuente en el medio ambiente urbano. Otros estudios no muestran diferencias significativas en la frecuencia de aislamiento entre los excrementos secos y los frescos, o incluso aíslan el microorganismo con más facilidad de heces frescas. Parece que la alta concentración de creatinina en el estiércol de paloma favorece el crecimiento de los *Cryptococcus*, pero además, las heces de pichón, brindan otras características: ambiente alcalino, hiperosmolar y rico en muchos compuestos nitrogenados, además de la creatinina. Las concentraciones de esta levadura en el excremento de paloma a menudo exceden organismos viables por gramo, su alta concentración en este substrato puede estar también relacionada con su habilidad para asimilar no sólo la creatinina, sino también la xantina, la urea y el ácido úrico, compuestos abundantes en los excrementos de las aves. Aun así, *C. neoformans* puede desaparecer cuando los detritos de estas aves se mezclan con el suelo. (18)

Se ha estimado que la permanencia de la levadura en deyecciones de palomas a la sombra, húmedas o desecadas, puede ser de hasta más de dos años. Aunque hasta hace poco se consideraba que la exposición directa al sol destruía el hongo o inhibía su crecimiento, actualmente parece que la capacidad de las especies patógenas de *Cryptococcus* para producir pigmentos melanoideos no sólo les permite sobrevivir a la radiación solar, sino que pueden llegar a usar las radiaciones como energía metabólica. (18)

Este hecho, posiblemente, les permite sobrevivir hasta que los excrementos se convierten en polvo. El polvo vehicula levaduras de solo 1-2 micras de diámetro y capsuladas, lo que les permite alcanzar fácilmente el espacio alveolar al ser inhaladas. Además de las características propias de las heces de las aves, otros factores pueden determinar la probabilidad de encontrar a esta levadura en las excreciones de palomas. (18)

De hecho, el sistema de anidación resulta crucial para el aislamiento de *C.*

*neoformans* de estas muestras, resultando mayor cuando se acumulan excrementos de más de 15 palomas en un mismo lugar, con lo que se subraya la importancia de evitar la acumulación de deyecciones de palomas, ya que si el grado de contaminación ambiental por *C. neoformans* fuese elevado, este podría convertirse en un peligro para la salud pública, y más concretamente para las personas dedicadas al cuidado, cría y limpieza de las palomas y palomares, así como para aquellos que han de remover la tierra contaminada con heces de paloma y los que alimentan a palomas salvajes o en libertad. (18)

El aislamiento de *C. neoformans* del buche de paloma ha sido descrito en múltiples ocasiones, así como su persistencia en otras localizaciones del cuerpo de las aves (cloaca, plumas, patas, pico). (18)

Sin embargo, es frecuente que los autores concluyan que, si bien la paloma es portadora de *C. neoformans*, estas aves no deben considerarse reservorios de la misma. Littman y Borok demostraron que la concentración de *Cryptococcus* en el pico, buche, patas y muestras de cloaca de estas aves es baja, y afirman que es poco probable que la paloma en sí sea la principal fuente de *Cryptococcus* en la Naturaleza. Abou-Gabal y Atia confirman que la paloma no juega un papel biológico activo en la diseminación de *C. neoformans* en la naturaleza porque no favorece la multiplicación del hongo en su buche. (18)

Parece sobradamente demostrado que hay una estrecha relación entre la paloma y la especie *C. neoformans* y que esta es la portadora por excelencia de la levadura. (18)

No obstante el hongo ha podido aislarse de otras muchas especies de aves. En cualquier caso, la mera presencia de las aves no debe considerarse un riesgo sanitario. *Cryptococcus neoformans* es un saprofito del tubo digestivo de un buen número de especies aviarias, pero parece que son los excrementos de estos animales los que constituyen un hábitat importante para la levadura patógena. La elevada capacidad de supervivencia del microorganismo en estos

sustratos aún desecados e insolados, los convierte en potenciales fuentes de infección, aunque deben existir factores externos que aún no conocemos bien que influyen en la persistencia de *Cryptococcus* en este ambiente. (18)

#### 2.1.4. RESULTADOS DE ALGUNOS AISLAMIENTOS DE *Cryptococcus neoformans*

País	Investigación	Resultados
España	Aislamiento de <i>Cryptococcus neoformans</i> en muestras de medio ambiente de Alicante en muestras de medio ambiente de las ciudades de Alicante y Santa Pola	La búsqueda se realizó en heces de palomas urbanas y palomas en cautiverio, así como en estructuras vegetales de <i>Eucalyptus camaldulensis</i> . Aislaron un total de 92 cepas pertenecientes al género <i>Cryptococcus</i> correspondiendo un 79,3% de ellas a <i>C. Neoformans</i> (73 aislamientos). La distribución de las cepas en los distintos sustratos y puntos de muestreo mostró un elevado número de aislamientos en heces de palomas en cautiverio (75/92), siendo muy bajo para las muestras de heces de zonas urbanas (15/92). La recuperación de la levadura a partir de estructuras vegetales de <i>E. Camaldulensis</i> fue muy escasa, ofreciendo únicamente dos cepas de la especie <i>C. Laurentii</i> .(12)
México	Criptococosis. Historia natural y estado actual del tratamiento	En México, el hongo se ha aislado en el 20.7% de las muestras de excrementos de palomas colectados en áreas urbanas; en menor proporción de verduras, frutas y excremento de otras aves.(3)
Colombia	Distribución ambiental de <i>Cryptococcus neoformans</i> en el departamento de Cundinamarca-Colombia	Se recolectaron un total de 765 muestras, provenientes de 26 municipios; de éstas, 146 correspondían a excrementos de paloma, 437 a detritos de eucaliptos ( <i>Eucalyptus camaldulensis</i> y especies afines) y 182 a detritos de almendros de la India ( <i>Terminalia cattapa</i> ). Se aisló <i>C. neoformans</i> del 46% de los municipios estudiados, en los dos transeptos y en los pisos térmicos cálido, templado y frío. El 88% de los aislamientos se obtuvieron en este último piso. No se encontraron muestras positivas en el piso térmico de páramo. De los 104 aislamientos 31% fueron serotipo A, 59% serotipo B y 10% serotipo C. El 96% de los aislamientos crecieron a 37 °C y todos mostraron cápsula. (19)
Perú	<i>Cryptococcus Neoformans</i> en excretas de palomas, suelo y aire de los palomares del perímetro Urbano de Ica, 2002	Se obtuvieron 124 muestras procedentes de palomares de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional San Luís Gonzaga de Ica, capilla del Hospital Socorro, Los viñedos de Santa María, La Victoria y San Joaquín. Se aislaron 26 (20,9 %) cepas del género <i>Cryptococcus</i> de las cuales 9 cepas (7,26 %) correspondieron a <i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> y 17 a <i>Cryptococcus spp</i> . La mayor frecuencia se encontró en la zona del palomar de la Facultad de Medicina.(4)
Salvador	Aislamiento de <i>Cryptococcus neoformans</i> en muestras del ambiente contaminadas con excrementos de palomas en diferentes zonas en el salvador.	Se procesó un total de 52 muestras (material obtenido de nidos con excremento de palomas o sólo excretas acumuladas de palomas), de las cuales en 19 (36.5 %) se aisló <i>C. neoformans</i> . Los resultados más altos de positividad fueron de 100% en la Alcaldía de Santa Ana, Alcaldía de San Miguel y el Santuario en el Cerro de Las Pavas, seguido de la iglesia de San Rafael Cedros con 75%. No hubo aislamiento de <i>C. neoformans</i> en la Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador. (2)

## 2.2. HIPÓTESIS

Existe una prevalencia de 20 % de levaduras del genero *Cryptococcus* en excretas de palomas en distintas zonas del área urbana como focos de infección para criptococosis humana y animal en la ciudad de sucre 2013

## 2.3. MARCO CONTEXTUAL

### **Bolivia.-**

Bolivia está situada en la región central de Sudamérica. La superficie total del país es de 1.098.581 km<sup>2</sup> con una población de 10.389.913 habitantes (Censo 2012), divide en 9 departamentos siendo Sucre la Capital Constitucional. (20)

El territorio boliviano representa el 0,2% de la superficie mundial. Sus bosques alcanzan alrededor del 3,5% de los bosques del mundo, en el país se encuentran entre el 35 y 45% de toda la diversidad biológica mundial. (20)

### **Sucre.-**

Se sitúa en la Provincia de Oropeza del Departamento de Chuquisaca, el urbanismo colonial y la arquitectura Republicana que caracterizan Sucre le valen el título de “Patrimonio Cultural de la Humanidad”, otorgado en 1991 por la UNESCO. Es la segunda ciudad en Bolivia que recibe esta distinción después de Potosí (1987). Este hecho propicia la creación del Plan de Rehabilitación de las Áreas Históricas de Sucre (PRAHS, 1995), institución local encargada de la gestión del centro histórico, en colaboración con la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID). Se potencia el segmento productivo del turismo cultural y se perfila la idea de un nuevo eje turístico entre Sucre y Potosí como iniciativa mancomunada de desarrollo regional. (21)

Sucre sigue el plano de damero, común en las ciudades coloniales, con una red de plazuelas, jardines y parques que otorgan gran armonía al conjunto urbano. Es una de las ciudades de arquitectura hispánica mejor conservada en América, con calles empedradas, fuentes labradas en granito, iglesias antiguas,

casas techadas con tejas de barro cocido espolvoreadas con cal y con paredes blancas, características del diseño colonial. (21)

### **Algunas zonas de la ciudad, donde se encuentran palomas:**

#### **- Plaza 25 de Mayo**

Ubicada en la zona central de la Ciudad de Sucre, está circundada por importantes edificaciones, como la Iglesia de la Catedral, la Casa de la Libertad, la Prefectura Consistorial, el edificio de la Comuna de Sucre y el Museo Gutiérrez Valenzuela. (22)

Alberga árboles antiguos, en los cuales residen palomas, estas junto con las que tienen sus nidos en las edificaciones de alrededor, bajan al suelo de la Plaza 25 de Mayo a comer restos trigo que la población que visita este lugar suele dar a estas aves, que dejan sus excrementos en los pisos y monumentos. La empresa de aseo urbano EMAS, barre a diario esta plaza.

#### **-Cementerio General**

Está situada en la zona noreste de la ciudad, es uno de los más bellos de América Latina y que se ha convertido en un gran atractivo turístico. (22)

En la zona del cementerio hace frío generalmente, en invierno el termómetro registra escasos grados centígrados. (22)

Está compuesta por varios mausoleos ya sean familiares o de instituciones, entre ellas el mausoleo de la Policía que tiene varios nichos vacíos y en el piso de arriba que está a medio construir se encuentra un nido de palomas protegidas del sol. El nido está estructurado por pajas, restos de ramas, plumas de estas aves, y heces de las palomas.

#### **-Facultad de enfermería**

La Facultad de Enfermería ubicado en el la zona Santa Bárbara, tiene en sus balcones palomas que han formado sus nidos con restos de pajas, plumas y

excretas de estas aves, ahí ellas ponen sus huevos, los empollan y alimentan a sus crías.

### **-La Recoleta**

Es un lugar turístico ubicado en una colina, alrededor se encuentran edificios patrimoniales como la iglesia, el convento y la Unidad Educativa de La Recoleta, el mirador de estilo colonial, la fuente “peregrina” (22)

Dentro de la Unidad Educativa de la Recoleta se encuentran nidos de palomas ubicados detrás en orificios de la pared colindante con el área del kínder, estas palomas se alimentan de los restos que dejan los niños después del recreo, y dejando sus excrementos en los patios, así mismo salen a alimentarse y beber agua de la “fuente” de la recoleta.

### **-Mercado Central**

Ubicado en la zona central de la ciudad, es uno de los principales puestos de abastecimientos.

Tiene una planta baja donde se ubican la mayoría de las vendedoras de alimentos, frutas, verduras y carne; en el segundo piso se encuentran vendedoras de comidas donde mucha gente acude a cualquier hora del día a servirse.

En un extremo del tercer piso se encuentra una guardería de niños, y a través de ella se llega a la terraza lugar donde habitan palomas que bajan a los demás pisos a comer restos que deja la población, en la terraza existe gran cantidad de excretas de palomas que están al aire libre. Esta área del mercado esta descuidada y no se barre.

**Laboratorio Niño Jesús.-**

El Laboratorio de Análisis Clínico Niño Jesús, fue inaugurado el 4 de febrero del año 2013, es un laboratorio privado que presta servicio a las personas particulares. Se encuentra ubicado en la Calle Uyuni Frente al Hospital Gastroenterológico Japonés y Gineco-obstétrico, Consta de las siguientes áreas: hematología, química sanguínea, inmunología, parasitología y microbiología. Pertenece a la “Asociación de Laboratorios Privados” y está incluido dentro de la red de control de calidad externa del “INSTITUTO NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD (INLASA)” dependiente del Ministerio de Salud y Deportes. Tiene como misión prestar servicios de apoyo realizando exámenes de laboratorio para el diagnóstico, pronóstico y monitoreo del tratamiento clínico, ofreciendo a nuestros usuarios un servicio diferencial en términos de seguridad, atención, rapidez y calidad de los resultados, empleando tecnología de punta y personal comprometido, para brindar un trato con calidez humana y un alto estándar de calidad en el servicio.

El laboratorio cuenta con el equipamiento necesario entre ellas los mecheros, balanza, estufas de incubación a distintas temperaturas desde 24 ° C a 36 °C, autoclave, microscopio, y otros elementos que necesitaremos para procesar las muestras de nuestro estudio.

## CAPÍTULO III MARCO METODOLÓGICO

### 3.1. Enfoque, tipo y diseño de investigación

#### a. Enfoque de la investigación

Enfoque cuantitativo porque los resultados fueron expresados en valores numéricos, con los cuales se realizaron los cálculos estadísticos.

#### b. Tipo y diseño de la investigación

Este estudio fue **transversal** porque en el mismo periodo de tiempo se recogieron las variables dependientes y las independientes, **descriptivo** porque se describieron en porcentajes los resultados obtenidos de *Cryptococcus spp* en excretas de palomas que hay en la ciudad de Sucre, tiene un componente **analítico** porque se analizó la asociación entre la variable presencia de *Cryptococcus spp* en las excretas con la exposición a los Rayos solares, la hidratación de las muestras y la presencia de esta levadura en las zonas contaminadas con excretas de palomas. Este estudio es también **observacional** porque no se intervino manipulando las variables.

Por lo tanto este estudio fue de **prevalencia**, se obtuvo el dato del número de excretas con *Cryptococcus* de la ciudad de Sucre en un momento dado.

### 3.2. Población y Muestra

#### a. Población

Excretas de palomas del área urbana de la Ciudad de Sucre. La población fue infinita puesto que no se puede conocer el total de excretas de palomas.

#### b. Muestra

El tamaño de muestra no se calculó ya que se hizo un muestreo no probabilístico habiéndose recolectado 87 muestras de excretas de palomas para realizar el estudio.

#### **Selección y tamaño de muestra:**

Se recolectaron 3 muestras de excretas de palomas por cada metro cuadrado de la superficie que contenían estas excretas, en los lugares públicos y con

bastante afluencia de personas: La Plaza 25 de Mayo, La Recoleta, Mercado Central, Cementerio General y la Facultad de Enfermería de la Universidad San Francisco Xavier.

### 3.3. Variables de Estudio

#### a. Identificación de variables

##### Variables dependientes:

- Presencia de levaduras *Cryptococcus spp.*

##### Variable Independiente:

- Zonas del área urbana con excretas de palomas
- Exposición de las excretas a los rayos solares
- Grado de hidratación de las excretas de palomas.

#### b. Diagrama de variables

OBJETIVO ESPECÍFICO	VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	CATEGORÍA	TIPO DE VARIABLE	INTRUMENTO
Aislar e identificar la presencia de levaduras de <i>Cryptococcus spp.</i> en excretas de palomas dentro del área urbana de la ciudad Sucre.	Presencia de levaduras de <i>Cryptococcus spp.</i>	Existencia en excretas de paloma de una levadura productora de melanina, urea positivo, de forma globular a ovoide y encapsulada.	Colonias lisas mucoides, crema o café en Medio de Staib, repicadas en Agar Sabouraud crecen colonias blancas o crema, observadas al microscopio con tinta china son levaduras capsuladas y positivos a la prueba de Urea.	- Positivo -Negativo	Dependiente Cualitativa nominal, dicotómica	Hoja de registro
Identificar las áreas urbanas de la ciudad de Sucre que contiene mayor aislamiento de levaduras de <i>Cryptococcus spp.</i>	Zonas del área urbana que tengan excretas de palomas.	Cualquier zona donde viven palomas en cuyas excretas se aísle <i>Cryptococcus spp.</i>	Zona de la ciudad de Sucre con excretas de palomas en las que se hubo la mayor cantidad de aislamientos de Levaduras de <i>Cryptococcus spp.</i>	*La plaza 25 de Mayo *Mercado Central *La recoleta *Cementerio *Facultad de Enfermería	Independiente Cualitativa, politémica.	Hoja de registro
Identificar la presencia de <i>Cryptococcus spp.</i> en excretas según sus condiciones de humedad.	Grado de hidratación de las excretas de palomas.	Consistencia de las excretas de palomas.	Excreta de palomas que se encuentran húmedas.	-Excreta fresca - Excreta seca	Independiente Cualitativa nominal, dicotómica	Hoja de registro
Identificar la presencia de <i>Cryptococcus spp.</i> en excretas según su exposición a rayos solares.	Exposición de las excretas a los rayos solares	Exposición de las excretas a los rayos Ultravioletas (UV) que son emitidas por el sol.	Excretas que se encuentran presentes en un lugar o área donde llegan rayos solares.	- Expuestas a rayos solares -No expuestas a rayos solares	Independiente Cualitativa nominal, dicotómica	

### **3.4. Criterios de inclusión y exclusión**

#### **Criterios de inclusión**

Excretas de palomas ubicadas en zonas de acceso público.

#### **Criterios de exclusión**

Excretas de palomas mezcladas con basura.

### **3.5. Procedimientos para la Recolección de la Información**

#### **a. Fuente de recolección.**

Se utilizó fuentes primarias porque se realizaron pruebas microbiológicas a cada una de las muestras de excretas de palomas recolectadas, para aislar e identificar al *Cryptococcus spp.*

#### **b. Instrumento**

El instrumento aplicado en la recolección de los datos, fue la Hoja de Registro, que fue elaborada para recabar la información necesaria, considerando todas las variables del presente estudio de investigación. Esta Hoja de Registro contó con una serie de columnas, para que la tabulación de la información fuese accesible, en cuanto a la facilidad de su análisis.

#### **c. Procedimiento de recolección de la información**

Para la recolección de las muestras se acudió distintas zonas con excretas de palomas del área urbana de la ciudad de Sucre que son lugares públicos y con bastante afluencia de personas: La Plaza 25 de Mayo (plaza principal de la ciudad), Mercado Central, La Recoleta (mirador de la ciudad, lugar turístico), Facultad de Enfermería y Cementerio.

En cada zona se tomó muestras en un promedio aproximado de tres excretas por metro cuadrado, de la superficie donde se encontraban estas.

Se tomaron las muestras con una espátula estéril y fueron colocadas en frascos oscuros con tapa, rotulados, seguidamente se los almacenó en una caja para cubrirlas del sol. Luego se trasladaron al laboratorio.

Una vez que las muestras estuvieron en el laboratorio, se pesaron 5 g de cada muestra, que fueron suspendidas en 20 ml de Solución de Cloruro de sodio al 0,85 % con antibiótico (ceftriaxona), se agitó bien y se dejó reposar 24 horas.

Posteriormente se filtró la suspensión por una gasa doblada en dos, a tubos de plásticos estériles y se procedió a centrifugarlas por 15 minutos 300.000 r.p.m. Se desechó el sobrenadante y el sedimento fue sembrado con un hisopo estéril en una placa de Petri que contenía Medio de Staib con alpiste negro y antibiótico que fue preparado previamente, para el aislamiento de las levaduras, paralelamente se sembró en placas con Agar Sabouraud. Se incubó a 26 °C. y se fueron observando todos los días.

Frente a la aparición sobre el medio de cultivo de una estructura fúngica pastosas o mucoides, color crema a marrón, en cualquiera de los medios, se la repico otra placa con medio de Agar Sabouraud, incubado a 26 ° C para confirmar, se observó el crecimiento de colonias pastosas o mucoides, color blanca amarillenta o marrón sobre este medio de cultivo. Posteriormente se realizó el estudio microscópico de las colonias con tinta china, para visualizar a levaduras del género *Cryptococcus*, en un microscopio con objetivo de 40X, se consideró positivo esta prueba si se observaba levaduras con capsula.

Ante la observación de esta característica se realizó la prueba de identificación bioquímica de esa colonia con UREA (mismo que se usa en bacteriología), incubado a temperatura ambiente, controlando el cambio de color del medio desde las 6 horas posteriores hasta antes de las 24 horas; el resultado fue considerado Urea positivo (+) cuando el indicador del medio vira de amarillo a violeta.

Se consideró una muestras positiva cuando en medio de Staib con alpiste se observó la aparición de colonias mucoides color marrón (melanina), que una vez repicado en Agar Sabouraud crecieron colonias mucoides color blanca amarillenta o marrón, que con tinción de tinta china en el microscopio se

observaron levaduras capsuladas y fueron Urea positivo.

### **3.6. Procesamiento y análisis de los datos**

Todos los resultados obtenidos se anotaron en la Hoja de Registro y a partir de ella se elaboró la base de datos.

Una vez obtenida la información se la procesó mediante del paquete estadístico EPIDAT y SPSS versión 19 para Windows, para el respectivo análisis de la información, mediante el cual se pudo determinar las frecuencias de los resultados obtenidos y los porcentajes; se construyó tablas de 2x2 con los que se hicieron los cálculos de prevalencia de expuestos y no expuestos, así como el Odds Ratio con sus intervalos de confianza (OR). El programa de Excel versión 10 se usó para la elaboración de tablas y la presentación de los resultados del estudio.

### **3.7. Delimitaciones de la Investigación**

**a.** El estudio se realizó en el área urbana de la Ciudad de Sucre

**b.** Se estudiaron excretas de palomas, ubicados en lugares públicos con bastante afluencia de personas (plaza, edificios públicos, mercado, cementerio)

**c.** Delimitación Temporal

La investigación se realizó desde abril de 2013 hasta julio de 2014.

## CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. RESULTADOS

#### 4.1.1. Resultados descriptivos

**Tabla 1. Zonas del área urbana de las que se recolectaron las muestras de excretas de palomas, Sucre 2013-2014**

<b>Zonas</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Plaza 25 de Mayo	21	24,14
Cementerio	16	18,39
Facultad de Enfermería	15	17,24
Recoleta	13	14,94
Mercado Central	22	25,29
<b>Total</b>	<b>87</b>	<b>100,00</b>

Del total de las muestras recolectadas la mayor cantidad fue tomada del Mercado Central, seguida de la Plaza 25 de Mayo.

**Tabla 2. Exposición a los rayos solares de las excretas de palomas del área urbana, Sucre 2013-2014**

<b>Exposición a rayos solares</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Sol	64	73,56
Sombra	23	26,44
<b>Total</b>	<b>87</b>	<b>100,00</b>

Gran parte muestras de excretas de palomas tomadas en el área urbana estaban expuestas al sol, ya que la mayoría de las zonas de acceso público donde se las recolecto están al aire libre.

**Tabla 3. Condiciones de humedad de las excretas de palomas del área urbana de la ciudad de Sucre 2013-2014**

<b>Condiciones de humedad de las excretas</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Fresco	33	37,93
Seco	54	62,07
<b>Total</b>	<b>87</b>	<b>100,00</b>

De las muestras obtenidas del área urbana de la Ciudad de Sucre la mayoría fueron de aspecto seco porque estuvieron expuestas al sol y a corrientes de aire.

**Tabla 4. Presencia de *Cryptococcus spp.* en excretas de palomas del área urbana de la ciudad de Sucre 2013-2014**

<b>Resultado</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Positivo	40	45,98
Negativo	47	54,02
<b>Total</b>	<b>87</b>	<b>100,00</b>

Del total de muestras recolectadas de excretas de palomas tomadas de distintas áreas urbana de Sucre, se obtuvo cepas de *Cryptococcus spp* en el 45,98 % de ellas.

**Tabla 5. Resultados obtenidos para *Cryptococcus spp* en las muestras de excretas de palomas secas. Sucre 2013-2014**

<b>Resultados de muestras secas</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Positivo	29	53,70
Negativo	25	46,30
<b>Total</b>	<b>54</b>	<b>100,00</b>

De las 54 muestras secas analizadas se aisló mayormente cepas del género *Cryptococcus spp*.

**Tabla 6. Resultados obtenidos para *Cryptococcus spp* en las muestras de excretas de palomas frescas. Sucre 2013-2014**

<b>Resultados de muestras frescas</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Positivo	11	33,33
Negativo	22	66,67
<b>Total</b>	<b>33</b>	<b>100,00</b>

La presencia de cepas del género *Cryptococcus spp* en muestras frescas no es tan frecuente como en las muestras secas.

**Tabla 7. Resultados obtenidos para *Cryptococcus spp* en las muestras de excretas de palomas expuestas al sol. Sucre 2013-2014**

<b>Resultados de muestras expuestas al sol</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Positivo	34	53,12
Negativo	30	46,88
<b>Total</b>	<b>64</b>	<b>100,00</b>

Estudiando las muestras expuestas al sol, en más de la mitad, se logró aislar de cepas del género *Cryptococcus*.

**Tabla 8. Porcentaje de *Cryptococcus spp* en excretas de palomas bajo sombra, Sucre 2013-2014**

<b>Resultados de excretas bajo sombra</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Positivo	6	26,09
Negativo	17	73,91
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>100,00</b>

Un porcentaje menor de las muestras recolectadas que estaban protegidas del sol contenían cepas del género *Cryptococcus*.

#### 4.2. Resultados de la relación entre las variables independientes y la presencia de *Cryptococcus spp.*

**Tabla 9. Relación de la exposición a rayos solares de las excretas de palomas con la presencia de *Cryptococcus spp.* en distintas áreas urbanas de la Ciudad de Sucre 2013-2014**

Muestras según exposición al sol	<i>Cryptococcus spp.</i>			
	Presencia		Ausencia	
	N	%	N	%
Sol	34	85,00	30	63,83
Sombra	6	15,00	17	36,17
<b>Total</b>	40	100,00	47	100,00

Dentro de las excretas de palomas donde se detectó la presencia *Cryptococcus spp.* el 85% correspondía a aquellas que estaban expuestas al sol.

**Tabla 10. Relación de las condiciones de humedad de las excretas de palomas con la presencia de *Cryptococcus spp.* en distintas zonas de área urbana de la ciudad de Sucre 2013-2014**

Tipo de muestras según sus condiciones de humedad	<i>Cryptococcus spp.</i>			
	Presencia		Ausencia	
	N	%	N	%
Fresco	11	27,50	22	46.81
Seco	29	72,50	25	53,19
<b>Total</b>	40	100,00	47	100,00

Dentro de las excretas de palomas donde se detectó la presencia *Cryptococcus spp.* el 73% correspondía a aquellas que estaban secas.

**Tabla 11. Relación de las zonas con excretas de palomas con la presencia de *Cryptococcus spp.* Sucre 2013-2014**

Zonas	<i>Cryptococcus spp.</i>			
	Presencia		Ausencia	
	N	%	N	%
Plaza 25 de Mayo	3	7,50	18	38,30
Cementerio	3	7,50	13	27,66
Facultad de Enfermería	10	25,00	5	10,64
Recoleta	4	10,00	9	19,15
Mercado Central	20	50,00	2	4,25
<b>Total</b>	40	100,00	47	100,0

Dentro de las excretas de palomas donde se detectó la presencia *Cryptococcus spp.* el 75% correspondía a aquellas que se recolectaron de la zona del “Mercado Central” y de la “Facultad de Enfermería”, solo el 15% de las excretas sin *Cryptococcus spp.* fueron recolectas de las mismas zonas.

#### 4.1.3. Resultados de la asociación entre las variables independientes y la presencia de *Cryptococcus spp.*

Tabla 12. Asociación entre la exposición a rayos solares de las excretas de palomas con la presencia de *Cryptococcus spp.* Sucre 2013-2014

Muestras según su exposición	<i>Cryptococcus spp.</i>		Total
	Presencia	Ausencia	
Sol (Expuestos)	34	30	64
Sombra (No expuestos)	6	17	23
<b>Total</b>	40	47	87

Prevalencia de Expuestos	Prevalencia de No Expuestos	Odds Ratio IC95%	Valor p chi2
53,12%	26,09%	3,21 (1,12- 9,20)	0,0468

La probabilidad que exista levaduras del género *Cryptococcus* es 3,21 veces en las excretas de palomas expuestas al sol en relación a los que están bajo sombra. Por tanto, que las excretas estén expuestas al sol es un factor de riesgo para la presencia de *Cryptococcus spp.* Es realmente un factor de riesgo porque el IC95% no incluye la unidad y el p valor de Chi 2 es < 0.05, por lo que la asociación encontrada es estadísticamente significativa.

**Tabla 13. Asociación entre la hidratación de las excretas de palomas con la presencia de *Cryptococcus spp.* en el área urbana de la ciudad de Sucre 2013-2014**

Muestra según las condiciones de humedad	<i>Cryptococcus spp.</i>		Total
	Presencia	Ausencia	
Seco (Expuestos)	29	25	54
Fresco (No expuestos)	11	22	33
<b>Total</b>	40	47	87

Prevalencia de Expuestos	Prevalencia de No Expuestos	Odds Ratio IC95%	Valor p chi2
53,70 %	33,33%	2,32 (0,95- 5,64)	0,1035

La probabilidad que exista cepas de *Cryptococcus spp* es 2,32 veces mayor en las excretas de palomas secas en relación a las muestras frescas. Por tanto las excretas de palomas secas es un factor de riesgo para la presencia de *Cryptococcus spp*. Pero como el IC 95% incluye la unidad y el valor p de Chi 2 es  $> 0.05$ , por tanto, no existe asociación entre la hidratación de las excretas de palomas y presencia de *Cryptococcus spp*.

**Tabla 14. Asociación de las zonas con excretas de palomas con la presencia de *Cryptococcus spp.* en el área urbana de Sucre 2013-2014**

zonas	<i>Cryptococcus spp.</i>		Total
	Presencia	Ausencia	
Mercado Central y Facultad de Enfermería (Expuestos)	30	7	22
Plaza 25 de Mayo, Cementerio, Recoleta. (No expuestos)	10	40	65
<b>Total</b>	40	47	87

Prevalencia de Expuestos	Prevalencia de No Expuestos	Odds Ratio IC95%	Valor p chi2
81,08%	20,00%	17,14 (5,85-50,26)	< 0,0001

La probabilidad que exista *Cryptococcus spp.* es 17,14 veces más en las excretas de palomas del Mercado Central y la Facultad de Enfermería en relación a los que están en las otras zonas. Por tanto la ubicación de las excretas en la zona del Mercado Central y la Facultad de Enfermería son un factor de riesgo para la presencia de *Cryptococcus spp.* Es realmente un factor de riesgo porque al IC95% no incluye la unidad y el P valor es < 0.05, por lo tanto, la asociación encontrada es estadísticamente significativa.

**Cuadro de resumen de asociación de variables.**

<b>Variable</b>	<b>Prevalencia de Expuestos</b>	<b>Prevalencia de No expuestos</b>	<b>OR</b>	<b>IC 95 %</b>	<b>P-valor Chi 2</b>
Exposición de la excreta a rayos solares: - Sol - Sombra	53,12%	26,09%	3,21	1,12 - 9,20	0,0468
Hidratación de la excreta: - Seca - Fresca	53,70%	33,33%	2,32	0,95 - 5,64	0,1035
Zonas de toma de la excreta: - Mercado Central y Facultad de Enfermería - Plaza 25 de Mayo, Cementerio y Recoleta	81,08%	20,00%	17,14	5,85 - 50,26	< 0,0001

## 4.2. DISCUSIÓN.-

La Plaza 25 de Mayo y el Mercado Central, se encuentran mayor cantidad de excretas ya que en el espacio donde se acogen las palomas en estas zonas es de mayor tamaño en relación a otras.

En nuestro estudio se aisló 45,98 % de cepas del género *Cryptococcus* de las excretas de palomas en distintas zonas del área urbana de la ciudad de Sucre, cantidad mayor en comparación a las asiladas en México 20,7 % (3), en el perímetro urbano de Ica 20,9% (4); similar a los datos del departamento de Cundinamarca-Colombia donde se aisló a 46% de *C. neoformans* de los municipios estudiados (19)

Este porcentaje se debe a que en el Mercado Central zona donde se tomó el 50% de las muestras positivas, no se barre y estas excretas están acumuladas por mucho tiempo, y en la Facultad de enfermería del cual se obtuvo el 25 % de las positivas se tomaron muestras del propio nido de las palomas datos comparables con el estudio del Salvador donde se encontró 29,8 % de *Cryptococcus neoformans* en muestras acumuladas y 100% en muestras de nidos con excretas acumuladas (2).

Considerando que estas levaduras sobreviven hasta que los excrementos se convierten en polvo (18), las mismas por acción del viento están suspendidas en el aire, más factibles a ingresar al organismo del huésped por inhalación (3), por estas razones se considera a las zonas que contienen excretas de palomas focos de infección latente para la primo-infección por *Cryptococcus*

En cuanto al tipo de muestras en nuestro estudio se observó que en las secas existe más probabilidad de aislar cepas de *Cryptococcus spp* en relación a las frescas. En 1963 Staib mantenía la teoría de que las excretas frescas inhiben el crecimiento por las elevadas concentraciones de amoníaco (13), en otros

estudios no se muestran esas diferencias tan significativas en la frecuencia de aislamiento entre los excrementos secos y los frescos (18), como fue en caso de nuestro estudio donde 29 (53,70%) de las 54 muestras secas eran positivas y 11 (33,33%) de las 33 muestras frescas también fueron positivas.

En relación a las muestras expuestas a rayos solares y las que no están podemos decir, a diferencia de Staib que aseveraba que la radiación solar era un ambiente hostil para *Cryptococcus spp* y lo que otros estudios indicaban que la exposición directa al sol destruía o inhibía su crecimiento (13), en nuestro estudio aislamos 53,12% de cepas de *Cryptococcus spp* de las 64 muestras de excretas que estaban expuestas al sol, resultado que es atribuimos a la capacidad de los *Cryptococcus para* producir pigmentos melanoideos a partir de la enzima fenoloxidasa que convierte los sustratos hidroxibenzoicos en pigmentos marrones, lo cual no sólo les permite sobrevivir a la radiación solar sino que pueden utilizar las radiaciones como energía metabólica lo que posiblemente les permite sobrevivir hasta que los excrementos se convierten en polvo (18), coincidiendo con las teorías actuales al respecto. Resultando un riesgo para la población.

La presencia de *Cryptococcus spp* en excretas de palomas en zonas con lugares públicos como el Mercado Central donde acuden gran parte de la población a adquirir víveres entre las que pueden estar personas con el sistema inmune deprimido o bien llevar a sus casa alimentos contaminados con este hongo y así exponer a los miembros de su familia o mascotas inmunocomprometidas a adquirir esta micosis.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. CONCLUSIONES

- ◆ Se determinó una prevalencia de 45,98 % de *Cryptococcus spp* en excretas de palomas de distintas zonas del área urbana de la ciudad de Sucre como focos de primo-infección de esta levadura.
  
- ◆ Las zonas dentro del área urbana con excretas de palomas de donde obtuvo mayor cantidad de aislamientos de levaduras del Género *Cryptococcus* fue el Mercado Central, seguido de la Facultad de Enfermería.
  
- ◆ La presencia de *Cryptococcus spp.* en excretas de palomas es independiente a las condiciones de humedad que presenten dichas excretas (OR=2,32 IC 95% 0,95 - 5,64).
  
- ◆ La presencia de *Cryptococcus spp* en excretas de palomas está asociado a la exposición estas frente a rayos solares (OR=3,21 IC 95% 1,12- 9,20).

## 5.2. RECOMENDACIONES

Realizar una limpieza periódica, por parte del gobierno municipal, en las zonas contaminadas con excretas de palomas, para disminuir la contaminación de ambientes públicos con levaduras del género *Cryptococcus*.

Evitar la acumulación de excretas de palomas en la terraza del Mercado central y eliminar palomares de la facultad de enfermería.

A la población en general, evitar albergar en sus casa y/o tejados a palomas porque las excretas de estas aves pudiesen estar contaminadas con *Cryptococcus* y causar infección en personas con enfermedades en las que su sistema inmunológico este disminuido como ser el SIDA, cáncer, Diabetes mellitus descompensada, linfomas, leucemias, entre otros.

Evitar que las personas con estas enfermedades, antes mencionadas, entren en contacto con las excretas de palomas o sus nidos, disminuyendo así la probabilidad de que puedan aspirar las levaduras de este hongo y desarrollar la criptococosis.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Quian J, Gutiérrez S, González V, Sánchez M, Abayian M, Baccino F. Meningitis por *Cryptococcus neoformans* en niños y adolescentes infectados por virus de la inmunodeficiencia humana. Rev Chilena Infectol [internet] 2012 [citado en 30 de marzo] 29 (5): [aprox. 4 p.] 554-557. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v29n5/art16.pdf>
2. Ayala D, López F. M, Evelyn R. Recinos V. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en muestras del ambiente contaminadas con excrementos de palomas en diferentes zonas en el Salvador. Minerva Revista en Línea CIC-UES [internet], El Salvador, Junio 2011 [citado en 10 de marzo] Vol. 2(1):[aprox. 8 p.] 21-27 , Disponible en: <http://www.cic.ues.edu.sv/REVISTA%20CIC-UES%20MINERVA/articulos/Ciencias%20de%20la%20Salud/criptococcus.pdf>
3. Vázquez O, Martínez I, Campos T. Criptococosis. Historia natural y estado actual del tratamiento. Acta Pediatr Mex [internet] 2005 [citado en 10 de marzo]; 26(1) [aprox. 11 p.]: 18-28. Disponible en: [http://redbookarchive.aappublications.org/cgi/spanish\\_pdf/2003/1/3.30.pdf](http://redbookarchive.aappublications.org/cgi/spanish_pdf/2003/1/3.30.pdf)
4. Curo M, Salinas M, Casquero J. *Cryptococcus neoformans* en excretas de palomas, suelo y aire de los palomares del perímetro urbano de Ica, 2002. Rev Perú Med. Exp. Salud Pública [internet] 2005 [citado en 10 de marzo]. 22(4) [aprox. 11 p.], Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v22n4/a04v22n4.pdf>
5. REIPI (Miembros de Red Española de Investigación en Patología Infecciosa). Descubierto un mecanismo de supervivencia del hongo patógeno *Cryptococcus neoformans*. España [internet] 2010[citado en 10 de marzo]. Disponible en: <http://herenciageneticayenfermedad.blogspot.com/2010/06/descubierto-un-mecanismo-de.html>

6. Defensoría del pueblo. En 2 meses 332 nuevos casos de VIH/SIDA se registraron en Bolivia. [internet] 2014 [citado en 21 de Mayo 2014] [aprox. 2 p.]: 1-2. Disponible en:

[http://www.defensoria.gob.bo/sp/noticias\\_proc.asp?Seleccion=754](http://www.defensoria.gob.bo/sp/noticias_proc.asp?Seleccion=754)

7. Correo del Sur. Chuquisaca: Confirman dos casos de VIH; son los primeros del 2014 [internet] 2014 [citado en 21 de Mayo 2014] [aprox. 2 p.]: 1-1. Disponible en:

<http://eju.tv/2014/01/chuquisaca-confirman-dos-casos-de-vih-son-los-primeros-del-2014/>

8. Ministerio de Salud y deportes. Bolivia cerca de llegar al millón de diabéticos. Estado Plurinacional de Bolivia [internet] 2011 [citado en 24 de Abril 2013] 335 (2) [aprox. 3 p.]: 1-3. Disponible en:

<http://www.sns.gob.bo/UserFiles/File/Boletin%20335.pdf>

9. Instituto Nacional de Biodiversidad [Internet]. Unidad Estratégica de Hongos, Instituto Nacional de Biodiversidad [actualizado el año 2013; citado el 21 de abril 2013] Hongos de Costa Rica; [aprox. 6 pantallas]. Disponible desde:

<http://www.inbio.ac.cr/papers/hongos/intro.htm>

10. Fundación Wikimedia. Boletínagrario [Internet]. Hongo (Fungi). [Citado en 20 de marzo] disponible en:

<http://www.boletinagrario.com/ap-6,hongo,469.html>

11. Ferrer X. Els llevats / Las levaduras. Copyright © 2004-09 [internet] 2009 [citado en 20 de Mayo de 2014]n: [aprox. 3 p.] 1-3. Disponible en:

<http://www.cuinant.com/elllevat1.htm>

12. Ancasi E, Levaduras. Manual de Microbiología de los Alimentos - capítulo 4 [internet]2011[citado en 20 de mayo de 2014]: [aprox. 7 p.] 40-46.Disponible en:

<http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/4%20levaduras.pdf>

13. Arredondo C.M., *Cryptococcus neoformans* en heces de palomas recolectadas en lugares públicos de la ciudad de Santiago, Chile. Universidad Iberoamericana de ciencias y tecnología Facultad de Medicina Veterinaria. [internet] 2006 [citado en 10 de abril 2013]. Disponible en:  
<http://www.iberovet.cl/tesis/images/pdf/20.pdf>
14. Laboratorio de Micología Médica [Internet]. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM [actualizado el 23 de agosto de 2001; citado el 5 diciembre 2011] CRIPTOCOCOSIS; [aprox. 2 pantallas]. Disponible desde:  
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/criptococosis.html>
15. Tello M, Gutierrez E, Béjar V, Galarza C, Ramos W, y Cols. Criptococosis. Rev. Méd.Risaralda [internet] 2013 [citado en 2 de abril de 2014] 19 (2): [aprox. 7 p.] 147-153. Disponible en:  
<http://www.google.com.bo/urlsa=t&rct=j&q=&esrc=s&frm=1&source=web&cd=9&cad=rja&ved=0CGAQFjAI&url=http%3A%2F%2Frevistas.utp.edu.co%2Findex.php%2Frevistamedica%2Farticle%2Fdownload%2F8415%2F5407&ei=0FU4UtH-MYjS8wSosYCYCQ&usg=AFQjCNHi34GVerP8K3P5xblGRiZRMbYeIA&bvm=bv.52164340,d.eWU>
16. Valiente F C, Alberdi M, Meseguer I, Torres J. Aislamiento de *cryptococcus neoformans* en muestras de medio ambiente de alicante. Rev Iberoam Micol [internet] 1997 [citado en 10 de marzo];14 [aprox. 2 p.]:63-64. Disponible en:  
<http://www.reviberoammicol.com/1997-14/063064.pdf>
17. Martín E, Valverde A. Criptococosis: diagnóstico microbiológico y estudio de la sensibilidad in vitro. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Valme. Sevilla [internet] 2005 [citado en 10 de marzo]. Disponible en:  
<http://www.seimc.org/control/revisiones/micologia/cripto.pdf>

18. Rosario I, Acosta B, Colom F, La paloma y otras aves como reservorio de *Cryptococcus* spp. España *Rev Iberoam Micol* [internet]2008 [citado en 10 de abril];6(1)[aprox. 25 p.]: S13-S18. Disponible en:  
<http://www.reviberoammicol.com/2008-25/S13S18.pdf>
19. Quintero E, Castañeda E, Ruiz A. Distribución ambiental de *Cryptococcus neoformans* en el departamento de Cundinamarca-Colombia.Bogotá *Rev Iberoam Micol* [internet] 2005 [citado en 3 de marzo];22(1)[aprox. 5 p.]:93-98. Disponible en:  
<http://www.reviberoammicol.com/2005-22/093098.pdf>
20. Fundación Wikimedia. De Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. 2001. Bolivia [actualizado en 29 de marzo; citado en 10 de marzo] disponible en:  
<http://es.wikipedia.org/wiki/Bolivia>
21. Fundación Wikimedia. De Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. 2001. Sucre. [Actualizado en 19 de marzo; citado en 20 de marzo] disponible en:  
<http://es.wikipedia.org/wiki/Sucre>
22. Página Siete. Las siete colinas o patas de la ciudad de Sucre. [internet] 2014 [citado en 21 de Mayo 2014] [aprox. 2 p.]: 1-2. Disponible en:  
<http://www.fmbolivia.tv/las-siete-colinas-o-patas-de-la-ciudad-de-sucre/>

# ANEXOS I

## REGISTRO DE LABORATORIO

N°	Zona	Exposicion al sol (Expuesta o no expuesta)	Tiempo de existencia (fresca o seca)	Cultivo en Medio Staib	Cultivo en Agar saboraud	Capsula	Resultado en agar Urea	Conclusión
1	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
2	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
3	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
4	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
5	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
6	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
7	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
8	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	Negativo	Positivo	-	Neg.	NEGATIVO
9	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
10	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	Positivo	Positivo	-	Neg.	NEGATIVO
11	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
12	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
13	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
14	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
15	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
16	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
17	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
18	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
19	Plaza 25 de Mayo	Sombra	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
20	Cementerio	Sombra	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
21	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
22	Cementerio	Sombra	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
23	Cementerio	Sombra	Fresco	Negativo	Positivo	-	Posit.	NEGATIVO
24	Cementerio	Sombra	Fresco	Negativo	Positivo	-	Neg.	NEGATIVO
25	Cementerio	Sombra	Seco	Positivo	Negativo	-	Posit.	NEGATIVO
26	Cementerio	Sombra	Fresco	Negativo	Positivo	-	Neg.	NEGATIVO
27	Cementerio	Sol	Seco	Negativo	Positivo	-	Neg.	NEGATIVO
28	Cementerio	Sombra	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
29	Cementerio	Sol	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
30	Cementerio	Sombra	Seco	Positivo	Negativo	-	Neg.	NEGATIVO
31	Cementerio	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
32	Cementerio	Sombra	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
33	Cementerio	Sombra	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
34	Cementerio	Sombra	Fresco	Negativo	Positivo	-	Neg.	NEGATIVO
35	Cementerio	Sol	Seco	Negativo	Positivo	-	Neg.	NEGATIVO
36	Cementerio	Sombra	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
37	Facu. de Enfermeria	Sombra	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
38	Facu. de Enfermeria	Sombra	Fresco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
39	Facu. de Enfermeria	Sombra	Fresco	Negativo	Positivo	-	Neg.	NEGATIVO
40	Facu. de Enfermeria	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
41	Facu. de Enfermeria	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
42	Facu. de Enfermeria	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
43	Facu. de Enfermeria	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
44	Facu. de Enfermeria	Sol	Fresco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
45	Facu. de Enfermeria	Sol	Fresco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
46	Facu. de Enfermeria	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
47	Facu. de Enfermeria	Sol	Fresco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
48	Facu. de Enfermeria	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
49	Facu. de Enfermeria	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
50	Facu. de Enfermeria	Sol	Seco	Negativo	Positivo	-	Posit.	NEGATIVO
51	Facu. de Enfermeria	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
52	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
53	Recoleta	Sombra	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
54	Recoleta	Sol	Seco	Negativo	Positivo	-	Posit.	NEGATIVO
55	Recoleta	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
56	Recoleta	Sombra	Fresco	Negativo	Positivo	-	Neg.	NEGATIVO
57	Recoleta	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
58	Recoleta	Sombra	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
59	Recoleta	Sombra	Fresco	Negativo	Positivo	-	Neg.	NEGATIVO
60	Recoleta	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
61	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
62	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
63	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
64	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
65	Recoleta	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
66	Recoleta	Sombra	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
67	Recoleta	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
68	Mercado Central	Sol	Fresco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
69	Recoleta	Sol	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
70	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
71	Mercado Central	Sol	Fresco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
72	Recoleta	Sombra	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
73	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
74	Mercado Central	Sombra	Fresco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
75	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
76	Mercado Central	Sol	Fresco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
77	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
78	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
79	Mercado Central	Sol	Fresco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
80	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
81	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
82	Mercado Central	Sol	Fresco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
83	Mercado Central	Sol	Seco	Negativo	Negativo			NEGATIVO
84	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
85	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
86	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO
87	Mercado Central	Sol	Seco	Positivo	Positivo	+	Posit.	POSITIVO

## ANEXO II

### BASE DE DATOS

N°	Zona	Exposicion al sol (Expuesta o no expuesta)	Tiempo de existencia (fresca o seca)	Conclusión
1	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	NEGATIVO
2	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	NEGATIVO
3	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	NEGATIVO
4	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	NEGATIVO
5	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	NEGATIVO
6	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	NEGATIVO
7	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	NEGATIVO
8	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	NEGATIVO
9	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	NEGATIVO
10	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	NEGATIVO
11	Plaza 25 de Mayo	Sol	Seco	POSITIVO
12	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	NEGATIVO
13	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	NEGATIVO
14	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	POSITIVO
15	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	NEGATIVO
16	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	NEGATIVO
17	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	NEGATIVO
18	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	NEGATIVO
19	Plaza 25 de Mayo	Sombra	Fresco	NEGATIVO
20	Cementerio	Sombra	Seco	POSITIVO
21	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	POSITIVO
22	Cementerio	Sombra	Fresco	NEGATIVO
23	Cementerio	Sombra	Fresco	NEGATIVO
24	Cementerio	Sombra	Fresco	NEGATIVO
25	Cementerio	Sombra	Seco	NEGATIVO
26	Cementerio	Sombra	Fresco	NEGATIVO
27	Cementerio	Sol	Seco	NEGATIVO
28	Cementerio	Sombra	Seco	NEGATIVO
29	Cementerio	Sol	Fresco	NEGATIVO
30	Cementerio	Sombra	Seco	NEGATIVO
31	Cementerio	Sol	Seco	NEGATIVO
32	Cementerio	Sombra	Fresco	NEGATIVO
33	Cementerio	Sombra	Seco	POSITIVO
34	Cementerio	Sombra	Fresco	NEGATIVO
35	Cementerio	Sol	Seco	NEGATIVO
36	Cementerio	Sombra	Seco	POSITIVO
37	Facu. de Enfermer	Sombra	Seco	NEGATIVO
38	Facu. de Enfermer	Sombra	Fresco	POSITIVO
39	Facu. de Enfermer	Sombra	Fresco	NEGATIVO
40	Facu. de Enfermer	Sol	Seco	POSITIVO
41	Facu. de Enfermer	Sol	Seco	POSITIVO
42	Facu. de Enfermer	Sol	Seco	NEGATIVO
43	Facu. de Enfermer	Sol	Seco	POSITIVO
44	Facu. de Enfermer	Sol	Fresco	POSITIVO
45	Facu. de Enfermer	Sol	Fresco	POSITIVO
46	Facu. de Enfermer	Sol	Seco	POSITIVO
47	Facu. de Enfermer	Sol	Fresco	POSITIVO
48	Facu. de Enfermer	Sol	Seco	NEGATIVO
49	Facu. de Enfermer	Sol	Seco	POSITIVO
50	Facu. de Enfermer	Sol	Seco	NEGATIVO
51	Facu. de Enfermer	Sol	Seco	POSITIVO
52	Plaza 25 de Mayo	Sol	Fresco	NEGATIVO
53	Recoleta	Sombra	Seco	POSITIVO
54	Recoleta	Sol	Seco	NEGATIVO
55	Recoleta	Sol	Seco	POSITIVO
56	Recoleta	Sombra	Fresco	NEGATIVO
57	Recoleta	Sol	Seco	NEGATIVO
58	Recoleta	Sombra	Seco	POSITIVO
59	Recoleta	Sombra	Fresco	NEGATIVO
60	Recoleta	Sol	Seco	POSITIVO
61	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
62	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
63	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
64	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
65	Recoleta	Sol	Seco	NEGATIVO
66	Recoleta	Sombra	Fresco	NEGATIVO
67	Recoleta	Sol	Seco	NEGATIVO
68	Mercado Central	Sol	Fresco	POSITIVO
69	Recoleta	Sol	Fresco	NEGATIVO
70	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
71	Mercado Central	Sol	Fresco	POSITIVO
72	Recoleta	Sombra	Fresco	NEGATIVO
73	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
74	Mercado Central	Sombra	Fresco	NEGATIVO
75	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
76	Mercado Central	Sol	Fresco	POSITIVO
77	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
78	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
79	Mercado Central	Sol	Fresco	POSITIVO
80	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
81	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
82	Mercado Central	Sol	Fresco	POSITIVO
83	Mercado Central	Sol	Seco	NEGATIVO
84	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
85	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
86	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO
87	Mercado Central	Sol	Seco	POSITIVO

## ANEXO III

### CODIFICACIÓN DE VARIABLES

Nº	Variable	Código	Codificación
1	Zona	Zona	1 = Plaza 25 de Mayo 2 = Cementerio 3 = Facu. Enfermería 4 = Recoleta 5 = Mercado Central
2	Exposición a rayos solares	Exp.Solar	1 = Sol 2 = Sombra
3	Grado de hidratación	Hidrat.	1 = Seco 2 = Fresco
4	Resultado	Resultado	1= POSITIVO 2 = NEGATIVO

Nº	Zona	Exp.Solar	Hidrat.	Resultado
1	1	1	1	2
2	1	1	1	2
3	1	1	1	2
4	1	1	1	2
5	1	1	1	2
6	1	1	1	2
7	1	1	1	2
8	1	1	1	2
9	1	1	1	2
10	1	1	1	2
11	1	1	1	1
12	1	1	2	2
13	1	1	2	2
14	1	1	2	1
15	1	1	2	2
16	1	1	2	2
17	1	1	2	2
18	1	1	2	2
19	1	2	2	2
20	2	2	1	1
21	1	1	2	1
22	2	2	2	2
23	2	2	2	2
24	2	2	2	2
25	2	2	1	2
26	2	2	2	2
27	2	1	1	2
28	2	2	1	2
29	2	1	2	2
30	2	2	1	2
31	2	1	1	2
32	2	2	2	2
33	2	2	1	1
34	2	2	2	2
35	2	1	1	2
36	2	2	1	1
37	3	2	1	2
38	3	2	2	1
39	3	2	2	2
40	3	1	1	1
41	3	1	1	1
42	3	1	1	2
43	3	1	1	1
44	3	1	2	1
45	3	1	2	1
46	3	1	1	1
47	3	1	2	1
48	3	1	1	2
49	3	1	1	1
50	3	1	1	2
51	3	1	1	1
52	1	1	2	2
53	4	2	1	1
54	4	1	1	2
55	4	1	1	1
56	4	2	2	2
57	4	1	1	2
58	4	2	1	1
59	4	2	2	2
60	4	1	1	1
61	5	1	1	1
62	5	1	1	1
63	5	1	1	1
64	5	1	1	1
65	4	1	1	2
66	4	2	2	2
67	4	1	1	2
68	5	1	2	1
69	4	1	2	2
70	5	1	1	1
71	5	1	2	1
72	4	2	2	2
73	5	1	1	1
74	5	2	2	2
75	5	1	1	1
76	5	1	2	1
77	5	1	1	1
78	5	1	1	1
79	5	1	2	1
80	5	1	1	1
81	5	1	1	1
82	5	1	2	1
83	5	1	1	2
84	5	1	1	1
85	5	1	1	1
86	5	1	1	1
87	5	1	1	1

## ANEXO IV

### **AISLAMIENTO DE CRYPTOCOCCUS DE TIERRA O DE MATERIA FECAL DE PALOMA (Instrucciones Dra. Giovanitii)**

- 1) Recolectar tierra o materia fecal de paloma con una cuchara previamente flameada con alcohol y colocarla en frascos estériles.
- 2) 5 gramos de cada muestra es suspendida en 25 ml de una \*solución de Cloruro de sodio al 0,85 %. con antibiotico.
- 3) Agitar bien dejar reposar por 24 horas. Filtrar por una gasa doblada en dos.
- 4) Sembrar 100 µl del filtrado que contiene el antibiótico, dispersando con una ansa o espátula de vidrio.
- 5) Incubar a 28° C. Observar todos los días y frente a la aparición de alguna estructura fungica pastosa blanca, amarillenta o marrón repicar en medio de agar glucosado con antibiotico en tubo. Incubar a 28°C.
- 11) Cuando este crecido cada aislamiento sembrar en el medio de UREA o medio de Christensen. El mismo que se usa en bacteriología. Incubar a 28°C de 24 - 48 hs.
- 12) Todas las levaduras que viren al rojo en el Christensen
- 13) Hacerle un preparado con tinta china, para saber si tiene capsula.

*\*Preparación de la solución de Cloruro de sodio con antibiótico:* Disolver 500gr de Ceftriaxona de 1 gr. (antibiótico) en 1000 ml de solución fisiológica estéril. Fraccionar en frascos estériles de 250 ml. Guardar en la heladera

### **Medio de Staib para aislar Cryptococcus (Instrucciones Dra. Giovanitii)**

100 gr de alpiste negro pulverizado

1 gr de glucosa

1 gr de KH<sub>2</sub>PO (fosfato monopotásico)

1 gr de cretinina

2 gr de agar

1 litro de agua destilada

Repartir en frascos y esterilizar.

Fundir el medio de Staib a baño María. Enfriar a 50°C y agregar 1 ml de la suspensión de antibiótico ya mencionada, 1 ml por cada 250 ml del medio de cultivo.

Colocar 15 ml en una caja de Petri. Dejar enfriar.

## ANEXO V

### RESULTADOS DE ANALISIS BIVARIADOS EN EPIDAT

#### Relación de las zonas con excretas de palomas con la presencia de *Cryptococcus spp.*

[ 1 ] Tablas de contingencia : Tablas 2x2 simples

Tipo de estudio : Transversal

Nivel de confianza: 95,0%

Tabla

	Enfermos	Sanos	Total
Expuestos	30	7	37
No expuestos	10	40	50
Total	40	47	87

Prevalencia de la enfermedad	Estimación	IC (95,0%)		
En expuestos	0,810811	-	-	
En no expuestos	0,200000	-	-	
Razón de prevalencias	4,054054	2,279419	7,210327	(Katz)

OR	IC (95,0%)		
17,142857	5,847050	50,260827	(Woolf)
	5,926829	49,509274	(Cornfield)

Prueba Ji-cuadrado de asociación	Estadístico	Valor p
Sin corrección	31,9409	0,0000
Corrección de Yates	29,5290	0,0000

#### Relación de la exposición a rayos solares de las excretas de palomas con la presencia de *Cryptococcus spp.*

[ 2 ] Tablas de contingencia : Tablas 2x2 simples

Tipo de estudio : Transversal

Nivel de confianza: 95,0%

Tabla

	Enfermos	Sanos	Total
Expuestos	34	30	64
No expuestos	6	17	23
Total	40	47	87

Prevalencia de la enfermedad	Estimación		IC(95,0%)		
En expuestos	0,531250	-	-		
En no expuestos	0,260870	-	-		
Razón de prevalencias	2,036458	0,985926	4,206361		(Katz)

OR	IC(95,0%)		
3,211111	1,121156	9,196966	(Woolf)
	1,146057	8,929092	(Cornfield)

Prueba Ji-cuadrado de asociación	Estadístico		Valor p
Sin corrección	4,9799	0,0256	
Corrección de Yates	3,9508	0,0468	

**Relación entre las condiciones de humedad de las excretas de palomas con la presencia de *Cryptococcus spp.***

[ 3] Tablas de contingencia : Tablas 2x2 simples

Tipo de estudio : Transversal

Nivel de confianza: 95,0%

Tabla

	Enfermos	Sanos	Total
Expuestos	29	25	54
No expuestos	11	22	33
Total	40	47	87

Prevalencia de la enfermedad	Estimación		IC(95,0%)	
En expuestos	0,537037	-	-	
En no expuestos	0,333333	-	-	
Razón de prevalencias	1,611111	0,936670	2,771178	(Katz)
Razón de prevalencias	1,363000	0,980707	1,894316	(Katz)
OR	2,320000	5,706145		(Woolf)
IC (95,0%)	0,943264 0,952047	5,642706		(Cornfield)

Prueba Ji-cuadrado de asociación	Estadístico		Valor p
Sin corrección	3,4219	0,0643	
Corrección de Yates	2,6509	0,1035	

## ANEXO VI

### FOTOS

#### Procedimiento de recolección de las muestras

Lugares públicos del área urbana de la ciudad de Sucre de donde se recolectaron las muestras:

#### ***Mercado Central***



- Palomas y sus excretas en los patios y tejados del Mercado Central



- Excretas de palomas ubicadas en la terraza ubicado en el tercer piso del Mercado

#### ***Facultad de Enfermería***



- Nidos de palomas, en aleros balcones de la Facultad de Enfermería

## ***La Recoleta***



- Palomas ubicadas en los tejados y nidos conformados dentro de espacios abiertos en las paredes del colegio de la Recoleta

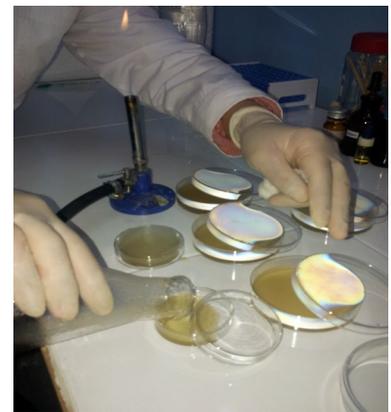


- Excretas de palomas dentro del Colegio de la Recoleta



- Frascos oscuros con tapa, rotulados donde se recolectaron las muestras

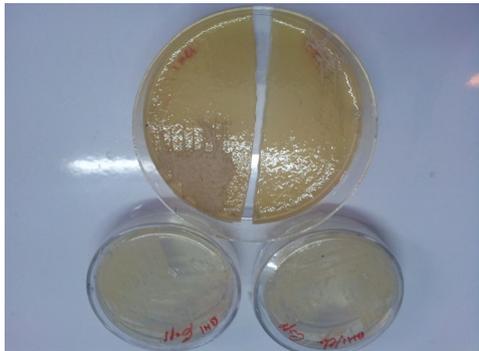
### ***Preparación del Medio de Staib con alpiste negro***



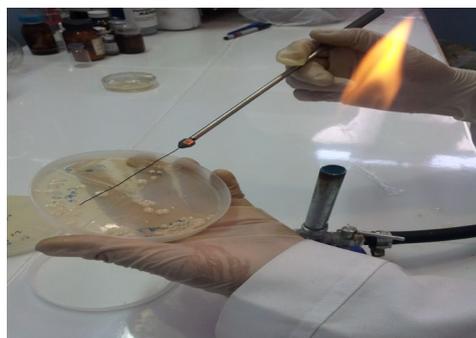
### ***Procesamiento de las muestras***



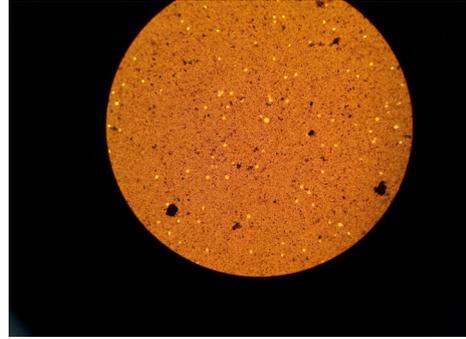
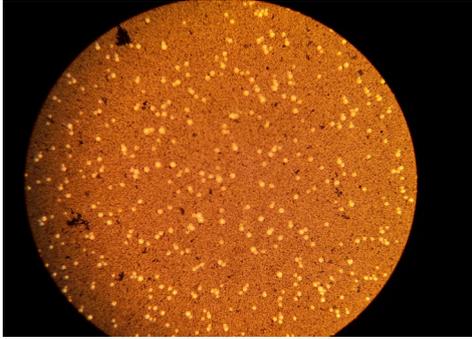
**Muestras Positivas, colonias marrón en Agar Staid**



**Muestras Positivas, colonias color crema en A. Sabouraud.**

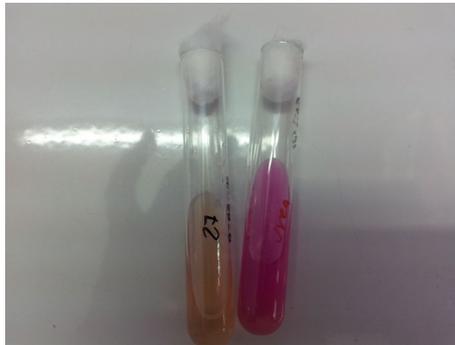


### ***Observación microscópica***



- Muestras positivas, levaduras del género *Cryptococcus*, en un microscopio con objetivo de 40X.

### ***Prueba de la UREA***



- Urea positivo (+) color violeta.

