

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE “MEDICINA VETERINARIA”**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Cryptococcus neoformans* EN HECES DE PALOMA (*Columba livia*) EN ÁREAS PÚBLICAS DE LA CIUDAD DE ANTIGUA GUATEMALA, SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA**

**VALERY MAUL RIVAS**

**Médica Veterinaria**

**GUATEMALA, OCTUBRE DE 2012**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE “MEDICINA VETERINARIA”**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Cryptococcus neoformans* EN HECES DE PALOMA (*Columba livia*) EN ÁREAS PÚBLICAS DE LA CIUDAD DE ANTIGUA GUATEMALA, SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN**

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

**VALERY MAUL RIVAS**

Al Conferírsele el título profesional de

**Médica Veterinaria**

En el grado de Licenciado

**GUATEMALA, OCTUBRE DE 2012**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**JINTA DIRECTIVA**

DECANO:	M. V. Leonidas Ávila Palma
SECRETARIO:	M. V. Marco Vinicio García Urbina
VOCAL I:	Lic. Sergio Amílcar Dávila Hidalgo
VOCAL II:	M. V. MSc Dennis Sigfried Guerra Centeno
VOCAL III:	M. V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco
VOCAL IV:	Br. Mercedes de los Ángeles Marroquín Godoy
VOCAL V:	Br. Jean Paul Rivera Bustamante

**ASESORES**

M. V. Julia Virginia Bolaños de Corzo  
M. V. Blanca Josefina Zelaya Pineda de Romillo  
M. V. Jaime Rolando Méndez Sosa

## **HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE *Cryptococcus neoformans* EN HECES DE PALOMA (*Columba livia*) EN ÁREAS PÚBLICAS DE LA CIUDAD DE ANTIGUA GUATEMALA, SACATEPÉQUEZ, GUATEMALA**

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de:

**MÉDICA VETERINARIA**

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A Dios,**

Por darme la vida, sabiduría y fortaleza para poder completar esta meta.

### **A mi esposo,**

Por estar a mi lado, brindándome cariño, comprensión y apoyo.

### **A mis hijos,**

Por ser la luz que ilumina mis días, mi alegría y la inspiración para seguir adelante.

### **A mis padres,**

Por su cariño, apoyo incondicional y por ser un ejemplo de superación.

### **A mis asesores,**

Por su disposición, ayuda y valioso tiempo dedicado a la realización de esta tesis.

### **A mis amigos,**

Por su amistad sincera, apoyo y tantos momentos compartidos.

### **A mis catedráticos,**

Por brindarme sus conocimientos y ser la base de de mi formación académica.

### **A la Universidad de San Carlos de Guatemala,**

En especial a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

# ÍNDICE

I. Introducción.....	1
II. Objetivos .....	3
2.1 General.....	3
2.2 Específicos .....	3
III. Revisión de Literatura .....	4
3.1 Criptococosis .....	4
3.2 Etiología.....	4
3.3 Epidemiología.....	5
3.4 Ecología.....	6
3.5 Patogénesis.....	7
3.6 Manifestaciones Clínicas .....	9
3.6.1 Criptococosis Pulmonar .....	9
3.6.2 Criptococosis Cutánea .....	10
3.6.3 Criptococosis del Sistema Nervioso Central .....	10
3.6.4 Criptococosis de Otros Órganos .....	11
3.7 Diagnóstico.....	13
3.7.1 Procedimientos para el Diagnóstico Micológico .....	13
3.7.1.1 Identificación Mediante el Examen Directo.....	13
3.7.1.1.1 Tinta China.....	13
3.7.1.1.2 Coloración de Gram .....	14
3.7.1.2 Identificación Mediante el Cultivo .....	14
3.7.1.2.1 Morfología de las Colonias.....	14
3.7.1.3 Identificación Mediante Criterios Bioquímicos y Enzimá-	
ticos.....	15
3.7.1.3.1 Producción de Ureasa.....	15
3.7.1.3.2 Asimilación del Inositol.....	15
3.7.1.3.3 Prueba de la Fenoloxidasas .....	15

3.7.1.3.4 Auxonograma del Carbono o Asimilación de Carbohidratos .....	16
3.7.1.3.5 Zimograma o Fermentación de Carbohidratos.....	16
3.7.1.3.6 Prueba de Termotolerancia.....	17
3.7.2 Procedimientos para el diagnóstico serológico .....	19
3.7.2.1 Aglutinación en Látex .....	19
3.7.2.2 Inmunofluorescencia Indirecta.....	19
3.7.2.3 ELISA .....	19
3.7.3 Procedimientos para el Diagnóstico Histopatológico .....	19
3.8 Tratamiento .....	20
3.9 Control y prevención.....	20
3.10 Criptococosis en Animales .....	21
3.10.1 Criptococosis Felina.....	21
3.10.2 Criptococosis Canina .....	22
3.11 Tratamiento .....	23
IV. Materiales y Métodos.....	24
4.1. Materiales .....	24
4.1.1 Recursos Humanos.....	24
4.1.2 Recursos de Campo.....	24
4.1.3 Recursos de Laboratorio .....	24
4.1.4 Recursos Biológicos.....	26
4.1.5 Centros de Referencia .....	26
4.2 Metodología.....	26
4.2.1 Localización .....	26
4.2.2 Tipo de Estudio .....	26
4.2.3 Metodología.....	27
4.2.4 Análisis de Datos.....	30
V. Resultados y Discusión.....	31
VI. Conclusiones .....	34

VII. Recomendaciones .....	35
VIII. Resumen .....	36
IX. Summary.....	37
X. Bibliografía.....	38
XI. Anexos.....	41

## I. INTRODUCCIÓN

La criptococosis es una micosis sistémica de curso subagudo o crónico y de amplia distribución mundial. El agente etiológico es el hongo levaduriforme capsulado *Cryptococcus neoformans*, capaz de afectar la piel, sistema respiratorio y sistema nervioso central, tanto de humanos como de animales.

La inmunosupresión celular es un factor predisponente fundamental para la presentación de esta enfermedad y debido al aumento del número de individuos con alteraciones inmunitarias la incidencia de criptococosis humana se ha incrementado, especialmente con la aparición de la pandemia del SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida). No obstante, también se ha descrito la criptococosis en pacientes aparentemente inmunocompetentes.

La transmisión de la criptococosis se realiza por la inhalación de esporas a partir de fuentes ambientales o bien por la contaminación de heridas de donde pueden diseminarse por vía hematógica hacia otros órganos y sistemas.

El hongo se encuentra en el suelo y heces de aves, especialmente en las de paloma, donde alcanza concentraciones elevadas debido a las condiciones sustentables que éstas ofrecen. Las palomas no se encuentran infectadas ya que el hongo coloniza las heces tras ser eliminadas y rara vez son atacadas clínicamente.

En Guatemala se dispone de muy poca información respecto a la incidencia y prevalencia de esta levadura en nuestro entorno, habiendo únicamente un estudio sobre el aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en el año de 1971.

Por estas razones, toda contribución a conocer más sobre la ecología y epidemiología de la criptococosis representa un aporte de interés, este estudio pretende ser una de ellas. A través del análisis de heces de paloma en espacios públicos urbanos se pretende determinar si los mismos son un riesgo potencial para la salud.

## II. OBJETIVOS

### 2.1 General:

Determinar la presencia *Cryptococcus neoformans* en heces de paloma en áreas públicas de la ciudad de Antigua Guatemala.

### 2.2 Específicos:

- Aislar e identificar *Cryptococcus neoformans* en heces de paloma en áreas públicas de la ciudad de Antigua Guatemala.
- Conocer la prevalencia de *Cryptococcus neoformans* en áreas públicas de la ciudad de Antigua Guatemala.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 CRIPTOCOCOSIS

La criptococosis, también llamada torulosis, blastomicosis europea y enfermedad de Busse-Buschke es una infección causada por una levadura llamada *Cryptococcus neoformans*. (14)

Es una de las principales enfermedades micóticas sistémicas que se generan cuando hay un debilitamiento del sistema inmune, de curso generalmente subagudo o crónico, cuyo foco primario es pulmonar, pero sus manifestaciones están generalmente asociadas con el sistema nervioso central. El hongo puede diseminarse produciendo lesiones que se pueden manifestar simultáneamente en el parénquima cerebral, médula espinal, piel, riñones, próstata, hígado y huesos. (13)

#### 3.2 ETIOLOGÍA

Los criptococos son levaduras redondas u ovals (3,5-8  $\mu\text{m}$ ), que se reproducen por gemación única, con un cuello estrecho entre la célula madre y la hija. (8)

La característica morfológica más llamativa de este hongo es la presencia de una gran cápsula mucoide cuyo grosor puede ser el doble que el diámetro de la célula. Esta cápsula está compuesta de polisacáridos e impide la fagocitosis por los macrófagos tisulares. Excepcionalmente, se observa gemación múltiple, formas alargadas y pseudohifas. (8)

El *Cryptococcus neoformans*, tiene diferentes variedades y serotipos, dentro

de los cuales están:

*Cryptococcus neoformans*

*var. neoformans* serotipo A, D y AD

*var. gattii* serotipo B y C (14)

Los serotipos A, D y AD corresponden a la variedad *neoformans*, en tanto que los serotipos B y C corresponden a la variedad *gattii*. (15)

Existen diferencias entre las dos variedades, tanto desde el punto de vista patogénico como de distribución geográfica, de tal forma que *C. neoformans var. neoformans* se ha relacionado con la infección en los pacientes inmunodeprimidos, siendo de distribución mundial, mientras que el *C. neoformans var. gattii* se ha descrito en infecciones de pacientes inmunocompetentes y su distribución está más restringida a países tropicales y subtropicales. (8)

La distribución en la naturaleza es asimismo diferente: *C. neoformans var. neoformans* se asocia con las deyecciones de palomas y otros pájaros, mientras que los *C. neoformans var. gattii* se han encontrado en distintas especies de eucaliptos (*Eucalyptus camaldulensis*, *Eucalyptus rudis*, etc.) y en los koalas de Australia. (8)

### **3.3 EPIDEMIOLOGÍA**

En cuanto a frecuencia, la criptococosis es esporádica y aún cuando puede ocurrir en pacientes aparentemente inmunocompetentes, su presencia está íntimamente ligada a personas con deficiencias en el sistema inmunitario. (5)

No se han observado diferencias en la incidencia de la enfermedad en tér-

minos de raza, ocupación o edad. (5)

No existen factores predisponentes relacionados con raza u ocupación, pero si con fallas en la inmunidad celular, dado que ella constituye el mayor mecanismo de defensa contra la enfermedad. Por tal razón, la presencia de enfermedades como el virus de la inmunodeficiencia humana, la existencia de linfomas, neoplasias, sarcoidosis, así como tratamientos con corticosteroides, antineoplásicos y otros inmunosupresores son factores de riesgo. (1)

La criptococosis tiene una distribución geográfica amplia. Los casos causados por *var. neoformans* predominan en lugares de clima templado: el serotipo A principalmente en Estados Unidos (excluyendo sur de California y Hawai) y Japón; el serotipo D, en Europa. (5)

### **3.4 ECOLOGÍA**

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 (*Columba livia*), siendo el primero en establecer la relación existente, y actualmente consolidada entre el microorganismo y las heces de estas aves. (2)

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*. (3)

Según algunos autores, este hongo no suele aislarse en deyecciones recientes, pero si en aquellas acumuladas y secas. Por otro lado, 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 faci-

lidad en heces frescas. (3)

Parece que la alta concentración de creatinina en el estiércol de paloma favorece el crecimiento de los criptococos, pero además las heces le brindan un ambiente alcalino, hiperosmolar y rico en muchos compuestos nitrogenados. Las concentraciones de *C. neoformans* en las heces de paloma a menudo exceden  $10^6$  organismos viables por gramo, su alta concentración también puede estar relacionada con su habilidad para asimilar no sólo la creatinina, sino también la xantina, la urea, y el ácido úrico. Aún así, la levadura puede desaparecer cuando los detritos de estas aves se mezclan con el suelo. (3)

### **3.5 PATOGÉNESIS**

La puerta de entrada habitual de *C. neoformans* al organismo humano es a través de la vía respiratoria, con la inhalación de blastoconidias no encapsuladas presentes en el ambiente y que, por su reducido tamaño, pueden llegar hasta los alvéolos pulmonares en donde se encapsulan. (15)

La reacción inflamatoria contra las blastoconidias inhaladas produce un complejo ganglionar pulmonar primario, compuesto por macrófagos y células gigantes, el cual, generalmente, impide la diseminación del hongo. (15)

El hongo puede permanecer latente en el parénquima o en los ganglios linfáticos pulmonares por largos períodos después de la infección y reactivarse solo cuando las defensas del organismo se debilitan. Al evadir la respuesta inmunológica del hospedero, el organismo se multiplica produciendo la enfermedad sintomática del pulmón y la diseminación por vía sanguínea a otros órganos, especialmente, al sistema nervioso central (SNC). Igualmente, durante la infección primaria las blastoconidias se pueden diseminar a otros órganos en los

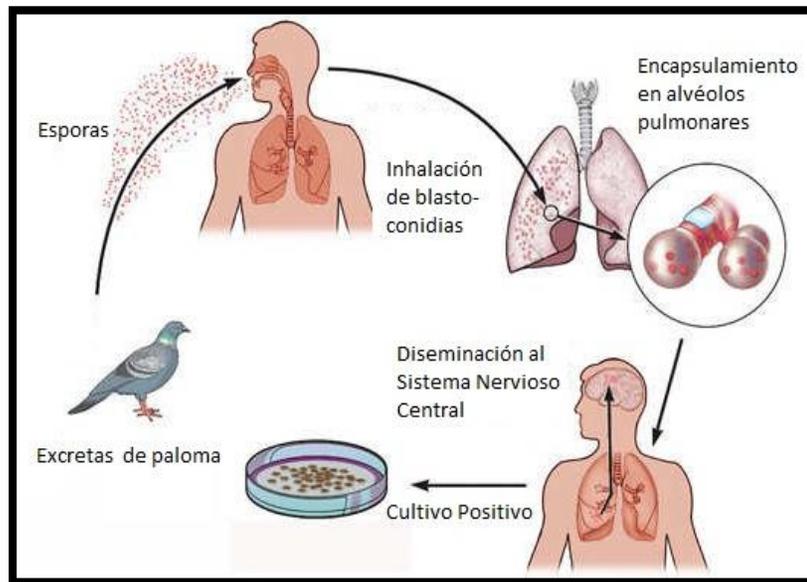
pacientes inmunosuprimidos. (15)

La diseminación hematológica silenciosa permite que el hongo aparezca en el cerebro y forme racimos de criptococos en las meninges, las áreas perivasculares de la sustancia gris cortical, en los ganglios basales y, en menor grado, en otras zonas del sistema nervioso central. La respuesta inflamatoria es extremadamente variable; en pacientes inmunodeprimidos, los hongos no despiertan la reacción inflamatoria y las masas de levaduras gelatinosas crecen en quistes pequeños dentro de la sustancia gris formando las lesiones clásicas “en burbujas de jabón”. En pacientes inmunocompetentes, las levaduras forman granulomas con presencia de macrófagos, linfocitos y células gigantes. (4)

Las características fenotípicas de *C. neoformans* asociadas con la invasión del sistema nervioso central son las siguientes: producción de melanina que debido a su efecto antioxidante lo protege de la lisis, presencia de una cápsula polisacárida que lo protege de la fagocitosis y la capacidad de sobrevivir a la temperatura corporal del hombre. (14)

Otras puertas de entrada potenciales son la piel y las mucosas nasal y rectal. En estos casos suele haber el antecedente de erosiones o heridas cutáneomucosas, que favorecerían la entrada del hongo y la presencia de palomas en el entorno de los individuos infectados. Estas formas meramente cutáneas suelen tener un curso más leve que las sistémicas, salvo en personas con alteraciones importantes en sus defensas inmunes, en las que se puede producir una diseminación visceral a partir del foco cutáneo. (15)

## Cuadro No. 1 Ciclo de Transmisión de la Criptococosis



**Fuente:** (Hull, C. 2007)

### 3.6 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las siguientes son las diversas manifestaciones clínicas de la criptococosis, aunque la más frecuente e importante es la del sistema nervioso central. (14)

#### 3.6.1 CRIPTOCOCOSIS PULMONAR

Se puede manifestar de diferentes formas y tiene un curso impredecible. Es necesario distinguir entre el portador asintomático, la criptococosis pulmonar y la criptococosis diseminada, debido a su importancia diagnóstica y terapéutica; sin embargo, a veces no es fácil hacer la diferenciación. (14)

La colonización asintomática del árbol bronquial por *C. neoformans* es poco frecuente; los sujetos previamente normales pueden experimentar una neumonía

autolimitada de inicio indolente y los síntomas, presentes únicamente en la mitad de los casos, son tos seca, dolor torácico y a veces fiebre de baja intensidad. Ocasionalmente, en algunos pacientes la enfermedad no se resuelve, convirtiéndose en una neumonía crónica que progresa lentamente por varios años. (14)

Rara vez los pacientes desarrollan severo compromiso pulmonar que los lleva a la dificultad respiratoria y a la necesidad de soporte ventilatorio. Esta última presentación tiene una alta mortalidad a pesar del manejo óptimo. (14)

El desenlace más temido no es la cronicidad de la lesión pulmonar sino la diseminación silenciosa al sistema nervioso central. (14)

### **3.6.2 CRIPTOCOCOSIS CUTÁNEA**

Las formas cutáneas por diseminación o por inoculación percutánea se observan más en cara, cuello y extremidades superiores, y las lesiones son nodulares, granulomatosas, papulares y ulceraciones, acompañadas de prurito y dolor. (16)

### **3.6.3 CRIPTOCOCOSIS DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL**

Esta se presenta como meningitis, meningoencefalitis y lesiones pseudotumorales. La meningitis es, usualmente, de curso subagudo y crónico se caracteriza por cefalea de gran intensidad acompañada de náuseas y vómitos. Los síntomas son variables, pero con frecuencia se observa fiebre y alteración del estado general. Son también frecuentes las alteraciones visuales (oscurecimientos visuales, pérdida de la visión) y rigidez de la nuca. (14)

En algunos pacientes se pueden evidenciar cambios en la conducta que sugieren patologías siquiátricas. (14)

La forma meningoencefalítica, especialmente asociada con el sida, es de curso rápido y muchas veces fulminante. Se acompaña de diseminación sistémica de la micosis. (14)

Los criptococomas pueden producir signos de masa cerebral que se expande. Algunos pacientes sufren cambios de personalidad. Los trastornos mentales pueden ser importantes: irritabilidad, confusión, agitación y alucinaciones. (2)

#### **3.6.4 CRIPTOCOCOSIS DE OTROS ÓRGANOS**

Otras localizaciones son la ósea, tracto genital y urinario. Se ha propuesto que la próstata es importante en el mantenimiento de la infección, ya que actúa como reservorio de las levaduras y da origen a reinfecciones. (2)

**Cuadro No. 2 Manifestaciones Clínicas de la Criptococosis en Órganos Diferentes al Pulmón y Sistema Nervioso Central.**

Órgano	Manifestación Clínica
Piel	Pápulas, vesículas, placas, abscesos, celulitis, púrpura, úlceras, lesiones herpetiformes, infección concomitante.
Ojo	Queratitis, coroiditis, endoftalmitis.
Tracto genitourinario	Prostatitis, pielonefritis, lesiones genitales.
Huesos y articulaciones	Osteomielitis crónica, artritis aguda y crónica.
Músculo	Miositis.
Corazón	Endocarditis, aneurisma micótico, miocarditis, pericarditis.
Tracto gastrointestinal	Esofagitis, colangitis, duodenitis, colitis, hepatitis, peritonitis, pancreatitis.
Mamas	Mastitis.
Ganglios linfáticos	Linfoadenopatía.
Glándula tiroides	Tiroiditis, masa tiroidea.
Glándula suprarrenal	Insuficiencia suprarrenal, síndrome de Cushing, masa suprarrenal.
Cabeza y cuello	Gingivitis, adenitis salivar, laringitis, masa cervical.

**Fuente:** (Restrepo, A. 2003)

### **3.7 DIAGNÓSTICO**

El diagnóstico se basa en poner en evidencia a la levadura por examen directo, estudio histopatológico, aislamiento por cultivo del hongo, o por pruebas serológicas que permitan la búsqueda de antígenos en los líquidos biológicos. (2)

#### **3.7.1 PROCEDIMIENTOS PARA EL DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO**

Se describen básicamente tres tipos de estudios: el examen directo, el cultivo y las pruebas mediante criterios bioquímicos y enzimáticos. (10)

Para asegurar una recuperación del hongo a partir de muestras clínicas, éstas deben de procesarse de inmediato mediante su inoculación sobre medios de cultivo. (10)

##### **3.7.1.1 IDENTIFICACIÓN MEDIANTE EL EXAMEN DIRECTO**

Este procedimiento no sustituye al cultivo. Brinda información preliminar o presuntiva al ser una técnica rápida que puede ser útil al clínico y en algunos casos llegar a ser diagnóstica. (10)

###### **3.7.1.1.1 TINTA CHINA**

Es un método de contraste. Permite visualizar la cápsula de polisacárido de *Cryptococcus neoformans*, mediante la presencia de un halo claro y nítido alrededor de la levadura. (10)

A partir de las muestras se realiza un frotis, fijando al calor, agregando y extendiendo una gota de tinta china. (11)

Mediante este examen en fresco, *Cryptococcus* se presenta como levaduras redondas o ligeramente ovaladas, rodeadas por una gran cápsula polisacárida; las levaduras pueden observarse uni o multigemando. Existen artefactos (hematíes, burbujas de aire, leucocitos, gotas de grasa y partículas de talco) que pueden interferir y confundir al analista. (12) (10)

#### **3.7.1.1.2 COLORACIÓN DE GRAM**

Es útil para observar blastoconidias y pseudomicelios de las especies del género *Cryptococcus*, las cuales son Gram positivas con variaciones en la intensidad de la coloración. (11)

#### **3.7.1.2 IDENTIFICACION MEDIANTE EL CULTIVO**

Para el primoaislamiento las siembras se realizan en agar de Sabouraud y/o agar de “alpiste negro” (agar de Níger, agar *Guizotia abyssinica*, Agar de Staib). Otros medios de cultivo utilizados son extracto de levadura y agar BHI, no se debe sembrar en medios conteniendo cicloheximida, ya que esta inhibe el crecimiento de *C. neoformans*. (11)

##### **3.7.1.2.1 MORFOLOGÍA DE LAS COLONIAS**

En agar de Sabouraud las colonias pueden ser lustrosas, brillantes y escurrentes (lo que orientará acerca de la presencia de cápsula en las levaduras), pero también pueden presentarse colonias secas, opacas y no escurrentes (conformadas generalmente por levaduras acapsuladas). (10)

Por otro lado, en agar “alpiste negro” *Guizotia abyssinica* generan colonias

con pigmento café-marrón, que se distinguen de otros géneros y especies. (12)  
(10)

### **3.7.1.3 IDENTIFICACIÓN MEDIANTE CRITERIOS BIOQUÍMICOS Y ENZIMÁTICOS:**

#### **3.7.1.3.1 PRODUCCIÓN DE UREASA**

La identificación taxonómica a nivel de género, se efectúa a través de la siembra en agar urea de Christensen. Esta prueba se basa en la capacidad de producir la enzima ureasa, la cual desdobla la urea en dióxido de carbono y amonio, incrementando el pH del medio y produciendo un cambio de color. (12)  
(10)

La prueba se considera positiva cuando se alcaliniza el medio lo que produce un cambio de color original (amarillo) a rosa o rojo. Una reacción positiva a la prueba ureasa es sugestiva de pertenecer al género *Cryptococcus*, las cepas de *C. neoformans* son productoras de ureasa. (10)

#### **3.7.1.3.2 ASIMILIACIÓN DEL INOSITOL**

El género *Cryptococcus* es la única levadura que da positiva la prueba, y aunque el hongo del género *Trichosporum* también asimila el inositol, la diferencia morfológica es tan marcada que permite diferenciarlo fácilmente. (11)

#### **3.7.1.3.3 PRUEBA DE LA FENOLOXIDASA**

Esta prueba detecta la capacidad de *C. neoformans* de formar un pigmento café o negro, denominado melanina, a partir de compuestos difenólicos. (10.)

El medio o agar de “alpiste negro” *Guizotia abyssinica* es un método definitivo para la detección de la producción de fenoloxidasa. La mayoría de los aislamientos de *Cryptococcus neoformans* producen fenoloxidasa con facilidad. En este medio de cultivo diferencial las colonias de *Cryptococcus neoformans* adquieren una coloración café alrededor del tercer día de incubación que se intensifica con el tiempo, no así las colonias de otros hongos levaduriformes, por lo que se le ha dado al agar de “alpiste negro” *Guizotia abyssinica* la calidad de medio selectivo. La coloración café es atribuida a la acción de la fenoloxidasa de este hongo, sobre los compuestos orto-, di- o para-fenólicos que posee la semilla de *Guizotia abyssinica*. (9) (12)

Para elaborar el agar de “alpiste negro” *Guizotia abyssinica* (Níger) dentro del laboratorio se aconseja cualquiera de los siguientes dos: agar Staib, que por su composición se recomienda para muestras contaminadas; o el Níger modificado para muestras no contaminadas como muestras de líquido cefalorraquídeo. (12)

#### 3.7.1.3.4 AUXONOGRAMA DEL CARBONO O ASIMILACIÓN DE CARBOHIDRATOS

Se fundamenta en el empleo de diversos nutrientes hidrocarbonados o nitrogenados sobre un medio sintético base, para observar el crecimiento selectivo de una levadura alrededor de los nutrientes necesarios para su desarrollo. (10)

Los patrones de asimilación para *Cryptococcus* se obtienen en tablas y claves de clasificación. (11)

#### 3.7.1.3.5 ZIMOGRAMA O FERMENTACIÓN DE LOS CARBOHIDRATOS

Se basa en la producción de gas a partir de determinados carbohidratos. El género *Cryptococcus* no fermenta los azúcares y por lo tanto el resultado es negativo. (11)

#### **3.7.1.3.6 PRUEBA DE TERMOTOLERANCIA**

En esta prueba se inocular la levadura en medio o agar de Sabouraud y se incubaba a 37°C durante tres días, tiempo en el cual se valora si hubo o no crecimiento. *Cryptococcus neoformans* crece a esta temperatura. Esta prueba ayuda a diferenciar *C. neoformans* de la mayoría de las otras especies de *Cryptococcus*. (11)

**Cuadro No. 3: Características Taxonómicas de *Cryptococcus neoformans***

<b>Prueba</b>	Ureasa	Película en caldo	Tubos Germinativos	Cápsula	Clamidospora	Nitrato-reductasa	Hifas, Pseudo-hifas
	+	-	-	+	-	-	-
<b>Fermentación de:</b>	Glucosa	Sacarosa	Lactosa	Rafino-sa	Maltosa	Celobio-sa	Galacto-sa
	-	-	-	-	-	-	-
<b>Asimilación de:</b>	Glucosa	Galacto-sa	Ribosa	Xilosa	Arabinosa	Sacarosa	Maltosa
	+	+	+	+	+	+	+
	Celobio-sa	Lactosa	Rafinosa	Manitol	Inositol	Sorbitol	Glucosa-to
	V	-	V	+	+	+	+

**Fuente:** (García, P. 1994)

Si se utilizan los métodos convencionales hay que emplear todos los criterios, que incluyen la producción de ureasa, la visualización microscópica, y la prueba de fenoloxidasa, antes de realizar la identificación final de *C. neoformans* (9)

## **3.7.2 PROCEDIMIENTOS PARA EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO**

### **3.7.2.1 AGLUTINACIÓN EN LÁTEX**

Es la técnica de elección, y al agregar suero, líquido cefalorraquídeo u orina con contenido de antígenos circulantes a las partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos anti-*Cryptococcus* se produce una reacción de aglutinación la cual es de alta especificidad. (11)

### **3.7.2.2 INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA**

Se utiliza para detectar la presencia de anticuerpos en suero. (11)

### **3.7.2.3 ELISA**

Es la técnica más sensible para la detección de anticuerpos, aunque el número de falsos positivos es mayor que con la prueba de aglutinación en látex. (11)

## **3.7.3 PROCEDIMIENTOS PARA EL DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO**

En el examen histopatológico se observa la presencia de levaduras capsuladas. Para ello se utilizan una serie de tinciones como el mucicarmín de Meyer que tiñe la cápsula de color rosado. (2)

Se pueden presentar dos patrones histológicos principales, uno gelatinoso y otro granulomatoso. Ambos tipos pueden coexistir en la lesión. (2)

### 3.8 TRATAMIENTO

La criptococosis pulmonar y la curación de las lesiones dérmicas sin una recurrencia subsecuente tienen buen pronóstico. Por el contrario, la diseminación de la criptococosis visceral y cerebro-meníngea tiene un pobre pronóstico. La criptococosis del sistema nervioso central es una enfermedad fatal si no es tratada. (5)

Actualmente, la anfotericina B, la 5-fluorocitosina y el fluconazol son las únicas drogas disponibles con eficacia probada. Están indicadas en todos los pacientes con criptococosis del sistema nervioso central u otros lugares de diseminación. (5)

### 3.9 CONTROL Y PREVENCIÓN

Entre los patógenos oportunistas causantes de infecciones graves, *Cryptococcus neoformans* es uno de los agentes más importantes. Antes de la era VIH (virus de la inmunodeficiencia humana), la criptococosis era una enfermedad rara, pero actualmente es la causa más común de meningitis y que pone en riesgo la vida de los pacientes. (15)

Debido a que *C. neoformans* se encuentran distribuidos ampliamente en la naturaleza y que la vía de infección es respiratoria, se hace difícil poner en práctica alguna estrategia de control y prevención, pero tomando en cuenta que el paciente inmunosuprimido es el más afectado podrían tomarse algunas medidas como el evitar el contacto o la convivencia con palomas. (15)

El control de la población de palomas quizás podría prevenir una parte de los casos y la eliminación de sus excrementos debe ser precedida por la

descontaminación química o por el humedecimiento con agua para evitar los aerosoles. (15)

### **3.10 CRIPTOCOCOSIS EN ANIMALES**

La criptococosis ha sido citada en gran variedad de animales domésticos y a diferencia de otras micosis sistémicas, es más frecuente en el gato y perro que en otras especies animales. La infección se origina en la cavidad nasal, tras la inhalación de la levadura. (6)

En animales domésticos como caballos, ovejas y cabras suele afectar al sistema respiratorio, mientras que en las vacas suele ser una micosis localizada a nivel de la glándula mamaria. También se han descrito casos en animales salvajes como koalas, anacondas, hurones, marsopas y llamas, con unas manifestaciones clínicas muy variadas, predominantemente con afección pulmonar y del sistema nervioso central. (6)

Existen pocos casos descritos de criptococosis en aves, ya que éstas se suponen resistentes a la infección debido a su elevada temperatura corporal (41-41°C). (6)

#### **3.10.1 CRIPTOCOCOSIS FELINA**

La criptococosis es la micosis sistémica más frecuente en el gato, aunque su incidencia es baja. No se ha descrito ninguna predisposición de edad, sexo o raza, aunque algunos estudios apuntan a que esta enfermedad es más frecuente en gatos machos de dos a tres años de edad y de raza siamesa. Se han citado algunos factores predisponentes tales como una infección previa por el virus de leucemia felina (FeLV) o por el virus de la inmunodeficiencia felina (FIV). (6)

Los gatos con FeLV o FIV suelen tener una afección más generalizada y frecuentemente desarrollan sintomatología neurológica y ocular. Otros factores predisponentes serían las neoplasias, diabetes, intervenciones quirúrgicas y tratamientos con glucocorticoides. (6)

La vía de infección más frecuente es la inhalatoria, afectando inicialmente las vías respiratorias altas, principalmente la cavidad nasal. En la mayoría de los gatos la sintomatología más frecuente es la rinitis. Los síntomas suelen ser crónicos y la cavidad nasal puede llegar a deformarse. También puede verse afectada la nasofaringe, produciendo estertores y disnea. (6)

En algunos casos la infección se disemina al sistema nervioso central, produciendo síntomas neurológicos tales como depresión, ataxia e incoordinación. Incluso, pueden producir alteraciones oculares como la ceguera y retinitis. En casos más avanzados pueden aparecer lesiones cutáneas que suelen afectar la cara, cabeza y cuello. (6)

### **3.10.2 CRIPTOCOCOSIS CANINA**

La criptococosis canina suele afectar a perros de menos de cuatro años, siendo más frecuente en la raza dóberman, dóberman pinscher, pastor alemán, cocker spaniel americano, gran danés y labrador. Se cree que los pastores alemanes tienen una disposición genética que los hace susceptibles no solo a la criptococosis, sino también a otras micosis sistémicas. (6)

En los perros, la vía de infección también es la inhalatoria. Generalmente, los perros suelen presentar afección de la vías respiratorias altas, pero suele ser subclínica. La diseminación multiorgánica es más frecuente en perros que en gatos y se produce una rápida diseminación al sistema nervioso central, por lo que

la sintomatología nerviosa es frecuente. Los síntomas neurológicos incluyen inclinación de la cabeza, nistagmus, parálisis facial, paresia, paraplejia o tetraplejia y ataxia entre otros. También suelen aparecer alteraciones oculares que consisten en neuritis óptica, corioretinitis y hemorragia de la pupila asociada a pupilas dilatadas y ceguera. (6)

### **3.11 TRATAMIENTO**

El tratamiento de elección en gatos y perros con afección del sistema nervioso central es la anfotericina B en combinación con la 5-fluorocitosina. (6)

En los gatos y perros sin sintomatología nerviosa, el fluconazol es el antifúngico de elección. (6)

## **IV. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. MATERIALES**

#### **4.1.1 RECURSOS HUMANOS**

- Asesores de la investigación.
- Estudiante investigador.
- Personal de apoyo del laboratorio de microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

#### **4.1.2 RECURSOS DE CAMPO**

- Bolsas plásticas.
- Depresores de madera.
- Cámara fotográfica.
- Vehículo y gasolina.
- Boletas de registro.
- Bolígrafos.
- Computadora.
- Impresora.

#### **4.1.3 RECURSOS DE LABORATORIO**

- Láminas portaobjetos.
- Láminas cubreobjetos.
- Asas bacteriológicas.
- Beakers.

- Tubos de ensayo.
- Placas de Petri.
- Recipientes de vidrio estériles.
- Bandejas.
- Guantes quirúrgicos no estériles.
- Removedores plásticos.
- Agar Sabouraud Dextrosa con cloranfenicol.
- Agar.
- Semillas de “alpiste negro” *Guizotia abyssinica*.
- Creatinina.
- Glucosa.
- Difenil.
- Cloranfenicol.
- Solución salina estéril al 85%.
- Medio líquido de urea.
- Agua destilada estéril.
- Cristal violeta.
- Lugol.
- Alcohol acetona.
- Safranina.
- Tinta china.
- Aceite mineral.
- Papel absorbente.
- Mechero.
- Esterilizador de asas.
- Campana de flujo laminar.
- Incubadora.
- Microscopio.
- Balanza digital.

#### **4.1.4 RECURSOS BIOLÓGICOS**

- Muestras coprológicas de palomas (*Columba livia*).

#### **4.1.5 CENTROS DE REFERENCIA**

- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Biblioteca del Departamento de Microbiología FMVZ-USAC.
- Biblioteca del INCAP.
- Documentos electrónicos de internet.

### **4.2 METODOLOGÍA**

#### **4.2.1 LOCALIZACIÓN**

El estudio se llevó a cabo en áreas públicas con presencia de palomas en la ciudad de Antigua Guatemala, que es cabecera del municipio homónimo y del departamento de Sacatepéquez que se encuentra a 45 kilómetros de la ciudad capital de Guatemala.

Se encuentra a una altitud de 1,530 metros sobre el nivel del mar y posee un clima templado y semifrío con una temperatura máxima 25°C y una mínima de 13°C. Además, el departamento de Sacatepéquez posee una precipitación pluvial anual acumulada de 952,50 mm.

#### **4.2.2 TIPO DE ESTUDIO**

Descriptivo de corte transversal.

### 4.2.3 METODOLOGÍA

Procedimiento para el muestreo:

En la primera fase del estudio se delimitaron los espacios a estudiar.

De manera habitual suele definirse un *área pública* a aquellos espacios que no son propiedad privada. La constitución política de la república reconoce como *bienes del estado* aquellos de *dominio público* (Art.121, a) “... *incluyendo los del municipio y de las entidades descentralizadas o autónomas*” (Art.121, c), así como “*los monumentos y las reliquias arqueológicas*” (Art.121, f). En este sentido, el Código Civil también define como *bienes nacionales de uso público común*, “*las calles, parques, plazas, caminos y puentes que no sean de propiedad privada*” (Art. 458, 1°) (6)

Identificados los espacios públicos, se determinaron los sitios de muestreo mediante una búsqueda activa por la ciudad de Antigua Guatemala de aquellos lugares con presencia de palomas. Los sitios de muestreo fueron: la Iglesia y Hospital San Pedro, Iglesia de La Merced, Iglesia San Francisco, Parque y Tanque la Unión, 3ª Avenida Sur y 6ª Calle Oriente, Ruinas del Convento Santa Clara, Parque San Sebastián, Parque Central y Calle del Palacio de los Capitanes.

Para obtener una muestra homogénea y representativa, en cada sitio de muestreo se definieron los siguientes puntos: suelo al abrigo del sol, suelo con exposición al sol, paredes al abrigo del sol, paredes con exposición al sol.

Para la toma de muestras se siguieron los siguientes pasos:

1. Con la ayuda de un depresor de madera, se recolectaron 15 muestras de heces por cada sitio de muestreo.

2. Posteriormente fueron colocadas en bolsas plásticas previamente identificadas.
3. Para su traslado, y en un lapso no superior a tres horas, las muestras colectadas fueron llevadas al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala para su procesamiento.

Este procedimiento se repitió la semana siguiente.

Procedimiento de laboratorio:

Para la realización del cultivo se trabajó bajo una campana bacteriológica de flujo laminar para mantener el medio libre de contaminación. El proceso que se realizó con cada muestra fue el siguiente:

1. Homogeneización de la muestra con ayuda de una bolsa plástica.
2. Luego se pesaron 5 gramos de heces y se le añadieron 30 miligramos de solución salina estéril al 85% y se homogeneizaron agitándolas vigorosamente por 5 minutos.
3. Después se dejaron sedimentar por 10 minutos.
4. A partir del sobrenadante se obtuvo una asada y se sembró sobre agar de “alpiste negro” *Guizotia abyssinica*.
5. La muestra se incubó en un medio aerobio a 27°C de tres a siete días.

6. Transcurrido este tiempo, se examinó durante cinco días cada muestra para identificar aquellas colonias con la presencia de un pigmento oscuro, indicativo de la fenoloxidasa producida.

En los medios donde se identificó la presencia de *Cryptococcus* se realizó un subcultivo en agar de “alpiste negro” *Guizotia abyssinica* y agar Sabouraud sin cicloheximida para aislar las cepas obtenidas. Posteriormente, fueron identificadas con base a criterios microscópicos y bioquímicos de la siguiente manera:

- Por medio de la tinción de Gram para la observación de levaduras Gram (+).
- Tinción con tinta china:
  1. En el centro de un portaobjetos, se colocó una gota de agua destilada estéril, una gota de tinta china y unas gotas de la cepa aislada luego se mezclaron suavemente.
  2. Se colocó un cubreobjetos sobre la suspensión y se presionó suavemente para evitar que quedaran burbujas.
  3. Una vez finalizada la tinción, se observó al microscopio buscando la cápsula del hongo, la cual se observó como una estructura clara alrededor de la célula.
- Prueba de ureasa
  1. Se tomó una asada del cultivo fresco.
  2. Luego se inoculó 1-1.5 ml. del medio líquido de urea.

3. Se incubaron a 35°C por 24 horas.
4. Se consideró positivo el cambio del indicador rojo fenol del amarillo al rosado, por otro lado las cepas ureasa negativas no produjeron cambio alguno.

#### **4.2.4 ANALISIS DE DATOS**

Se utilizó estadística descriptiva (porcentual) para conocer el grado de muestras positivas respecto al total de lugares muestreados.

## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se recolectaron muestras de heces de paloma presentes en los suelos y paredes de los siguientes espacios públicos de la ciudad de Antigua Guatemala:

1. Iglesia y Hospital San Pedro
2. Iglesia de La Merced.
3. Iglesia San Francisco.
4. Parque y Tanque la Unión.
5. 3ª Avenida Sur y 6ª Calle Oriente.
6. Ruinas del Convento Santa Clara.
7. Parque San Sebastián.
8. Parque Central.
9. Calle del Palacio de los Capitanes

En cada lugar se obtuvieron 15 muestras de heces, repitiéndose dicho procedimiento la siguiente semana para sumar un total de 270 muestras.

Las heces fueron homogeneizadas para conformar dos muestras por espacio público y de esta manera fueron inoculadas en placas individuales de Agar de “alpiste negro” *Guizotia abyssinica*. Transcurridos 5 días de incubación se reveló la presencia de placas sospechosas provenientes de tres áreas públicas, las cuales fueron trasladadas a nuevas placas del mismo agar para la obtención de cultivos puros.

Posteriormente, se realizó la identificación micro morfológica de las colonias aisladas por medio de la tinción de Gram y tinción de tinta china donde se observó la presencia de estructuras levaduriformes capsuladas y gram positivas, compatibles con *Cryptococcus neoformans*. Además, se efectuó la identificación macro morfológica mediante la realización de subcultivos en agar Sabouraud y se verificó el crecimiento de colonias mucosas, blanco amarillentas, características también de *Cryptococcus neoformans*.

Por último, las tres cepas fueron identificadas bioquímicamente por medio de la prueba de ureasa, donde todas produjeron un cambio de color del amarillo al rosado indicando ser ureasa positivas y así pertenecer al género *Cryptococcus*.

De esta forma, todas las pruebas realizadas confirman el diagnóstico de la presencia de *Cryptococcus neoformans* en tres de las nueve áreas públicas muestreadas con presencia de palomas de la ciudad de Antigua Guatemala, lo que equivale a un 33.33%. Las áreas públicas positivas a la presencia de dicha levadura son: la Iglesia y Hospital San Pedro, Iglesia de La Merced y Ruinas del Convento Santa Clara.

Respecto a los lugares que se encontraron positivos, se observan similitudes respecto al número de palomas que habitan en cada lugar (más de 15 palomas) y la presencia de heces acumuladas. También, es importante tomar en cuenta que la acumulación de heces en dichos lugares puede verse favorecida no solamente por la alta densidad de aves, sino también por la falta de limpieza de los mismos.

Es importante señalar que los lugares positivos a *Cryptococcus neoformans* representan una fuente potencial de infección ya que son sitios turísticos diariamente visitados por gran cantidad de personas.

Además, la Iglesia y Hospital San Pedro representa un mayor riesgo debido a la presencia de personas enfermas e inmunosuprimidas las cuales son más susceptibles a padecer criptococosis.

Por otra parte, no fue posible identificar la presencia de *Cryptococcus neoformans* en todas las áreas muestreadas, probablemente debido al escaso número de palomas circundantes y por ello baja cantidad de heces. Además de la dificultad de su aislamiento por la gran cantidad de bacterias presentes en las heces, que aún en medios de cultivos específicos, dificultan el crecimiento del hongo y en consecuencia su aislamiento.

## VI. CONCLUSIONES

1. Los resultados de este estudio confirman que las heces de palomas son una importante fuente ambiental y de diseminación de *C. neoformans*.
2. El 33.33% de los espacios públicos estudiados con presencia de palomas de la ciudad de Antigua Guatemala resultaron positivos a la presencia de *Cryptococcus neoformans*. Estos lugares, transitados cotidianamente por un número importante de personas de todas las edades, representan un riesgo potencial en salud pública especialmente a personas inmunodeprimidas.
3. Además de las características propias de las heces de paloma, la acumulación de éstas constituye un elemento importante para la presencia de *Cryptococcus neoformans*.
4. El agar de “alpiste negro” *Guizotia abyssinica* es un medio ideal para el aislamiento e identificación de *Cryptococcus neoformans*, pues favorece el crecimiento de este microorganismo en específico, y además produce melanina que origina un pigmento característico en el cultivo.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Se considera importante realizar estudios adicionales que cubran otras áreas de la república de Guatemala y con mayor número de muestras con el fin de investigar la distribución geográfica de *C. neoformans* presente en las heces de paloma.
2. Realizar estudios que evalúen la susceptibilidad antifúngica de las cepas ambientales de *Cryptococcus neoformans*.
3. Evitar la exposición del hombre y animales a grandes cantidades de palomas, así como informar a la población sobre el modo de contagio y riesgos de la enfermedad especialmente a personas con problemas de inmunidad.
4. Implementar métodos de control que eviten la acumulación de heces de paloma en áreas públicas mediante la limpieza periódica de las mismas, en especial en zonas aledañas a hospitales. En estos casos, evitar la exposición a material contaminado mediante el uso de mascarillas, así como realizar la limpieza con ayuda de agua en lugar de barrer las heces lo que provocaría la dispersión de polvo fecal.

## VIII. RESUMEN

La criptococosis es una enfermedad micótica oportunista producida por *Cryptococcus neoformans* un hongo levaduriforme encapsulado. La infección ocurre por la inhalación del microorganismo presente en las heces principalmente de paloma. Produce una infección pulmonar inicial desde donde se disemina a otros órganos sobre todo al sistema nervioso central. La criptococosis puede presentarse en personas sanas pero afecta con mayor frecuencia a personas inmunosuprimidas.

Con el objetivo de determinar la presencia de *Cryptococcus neoformans* en heces de palomas en lugares públicos de la ciudad de Antigua Guatemala, se recolectaron muestras de heces de paloma provenientes de nueve áreas públicas. Para el aislamiento e identificación de la levadura se llevaron a cabo métodos convencionales: siembra en Agar “alpiste negro” *Guizotia abyssinica*, determinación de la presencia de cápsula, prueba de la ureasa, producción de fenoloxidasa y características micro y macro morfológicas de las colonias.

Todas las pruebas realizadas confirmaron la presencia *C. neoformans*, siendo aislado en tres de los nueve espacios públicos con presencia de palomas de la ciudad de Antigua Guatemala lo que representa un 33.33%. De esta manera, fue determinada la presencia de un hongo patógeno oportunista en lugares transitados por muchas personas lo que supone un riesgo potencial para la población.

## IX. SUMMARY

Cryptococcosis is a fungal opportunistic infection caused by *Cryptococcus neoformans* a capsulated yeast. Infection occurs when the microorganism present especially in pigeon droppings is inhaled. It causes a primary pulmonary infection from where it may then disseminate to other organs especially to the central nervous system. The infection can be present in immunocompetent individuals, but mainly affects immunosuppressed patients.

In order to determine the presence of *Cryptococcus neoformans* in pigeon droppings from public places of Antigua Guatemala, pigeon fecal samples were collected from nine public places. For the isolation and identification of *Cryptococcus neoformans* conventional methods were performed: *Guizotia abyssinica* “black seed” culture, presence of capsule, ureasa test, phenoloxidase test and micro and macro morphologic characteristics of the colonies.

All tests confirmed the presence of *C. neoformans*, being isolated from three of the nine public places with pigeon population from the city of Antigua Guatemala, which represents a 33.33%. This way was determined the presence of a pathogenic fungi in public places, which result in a potential risk to the population

## X. BIBLIOGRAFÍA

1. Arango, M. 2003. Micosis Humanas, Procedimientos Diagnósticos, Exámenes Directos (en línea). Colombia. Consultado 20 sep. 2011. Disponible en [http://books.google.com.gt/books?id=aSGE2t2tgWgC&pg=PP9&lpg=PP9&dq=micosis+humanas+arango&source=bl&ots=q5V4DDXxWv&sig=qHAaAfFNitFNSjp2bgo\\_RUFNzw&hl=es&ei=qSCWTq2rMebr0gGGsqDRBw&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1&ved=0CB0Q6AEwAA#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.gt/books?id=aSGE2t2tgWgC&pg=PP9&lpg=PP9&dq=micosis+humanas+arango&source=bl&ots=q5V4DDXxWv&sig=qHAaAfFNitFNSjp2bgo_RUFNzw&hl=es&ei=qSCWTq2rMebr0gGGsqDRBw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CB0Q6AEwAA#v=onepage&q&f=false)
2. Baró, T. 2002. Estudio Epidemiológico de la Criptococosis en España: Primeros Resultados (en línea). España. Revista Iberoamericana de Micología. Consultado 20 sep. 2011. Disponible en <http://www.reviberoammicol.com/2001-18/099104.pdf>
3. Begoña, R. 2008. La Paloma y otras Aves como Reservorio de *Cryptococcus* spp (en línea). España. Revista Iberoamericana de Micología. Consultado el 20 sep. 2011. Disponible en <http://www.reviberoammicol.com/2008-25/S13S18.pdf>
4. Carrada, T. 2003. Criptococosis en la Era del Sida (en línea). México. Revista Mexicana de Patología Clínica. Consultado 20 sep. 2011. Disponible en <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2003/pt031e.pdf>
5. Castañón, L. 2011. Criptococosis (en línea). México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consultado 14 sep. 2011. Disponible en <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/.../criptococosis.html>
6. Castellá, G. 2008. Criptococosis y animales de Compañía (en línea). España. Revista Iberoamericana de Micología. Consultado 26 oct. 2011. Disponible en [www.reviberoammicol.com/2008-25/S19S24.pdf](http://www.reviberoammicol.com/2008-25/S19S24.pdf)
7. Congreso de la República. 1993. Constitución Política de la República de Guatemala (en línea). Guatemala. Consultado 16 oct. 2011. Disponible en [http://www.oas.org/juridico/MLA/sp/gtm/sp\\_gtm-int-text-const.pdf](http://www.oas.org/juridico/MLA/sp/gtm/sp_gtm-int-text-const.pdf)

8. Cuenca, M. 2006. Diagnóstico Microbiológico y de la Miosis y Estudios de Sensibilidad a los Antifúngicos (en línea). España. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Consultado 14 sep. 2011. Disponible en <http://www.seimc.org/control/revisiones/miologia/cripto.pdf>
9. Forbes, B. 2007. Diagnóstico Microbiológico 12ª Edición (en línea). España. Consultado 12 oct. 2011. Disponible en [http://books.google.com.gt/books?id=239cauKqSt0C&printsec=frontcover&dq=diagnostico+microbiologico&hl=es&ei=ri2WTqnYE8H30gHhrdGxBw&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCoQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.gt/books?id=239cauKqSt0C&printsec=frontcover&dq=diagnostico+microbiologico&hl=es&ei=ri2WTqnYE8H30gHhrdGxBw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCoQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false)
10. Guevara, M. 2007. Manual de Procedimientos y Técnicas de Laboratorio para la Identificación de los Principales Hongos Oportunistas Causantes de Miosis Humanas (en línea). Lima. Consultado 5 oct. 2011. Disponible en <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/.../Manual%20Hongos.pdf>
11. Halley, M. 2009. Examen Micológico de Muestras Clínicas (en línea). Cuba. Consultado 10 oct. 2011. Disponible en <http://www.hospitalameijeiras.sld.cu/hha/mpm/documentos/MICROBIOLOGIA/GP/EXAMEN%20MICOLOGICO%20EN%20DIFERENTES%20MUESTRAS.pdf>
12. Navarrete, E. 1996. Revista Mexicana de Patología Clínica (en línea). México. Consultado 16 oct. 2011. Disponible en [http://books.google.com.gt/books?id=4x\\_D5sDjCJcC&pg=PT13&dq=agar+de+staib&hl=es&ei=8IGXTu3QLbl0QHDTl24BA&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=2&ved=0CDMQ6AEwAQ#v=snippet&q=agar%20%20staib&f=false](http://books.google.com.gt/books?id=4x_D5sDjCJcC&pg=PT13&dq=agar+de+staib&hl=es&ei=8IGXTu3QLbl0QHDTl24BA&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=2&ved=0CDMQ6AEwAQ#v=snippet&q=agar%20%20staib&f=false)
13. Pérez, J. 2006. La Criptococosis: de enfermedad esporádica a reemergente, parte I: etiología, distribución y manifestaciones clínicas (en línea). Colombia. Revista de Medicina. Consultado 14 sep. 2011. Disponible en [http://biosalud.ucaldas.edu.co/downloads/Revista%201\\_8.pdf](http://biosalud.ucaldas.edu.co/downloads/Revista%201_8.pdf)
14. Restrepo, A. 2003. Enfermedades Infecciosas, 6ta edición (en línea). Colombia. Consultado 23 sep. 2011. Disponible en [http://books.google.es/books/about/Enfermedades\\_infecciosas.html?id=67FIJx2qfU8C](http://books.google.es/books/about/Enfermedades_infecciosas.html?id=67FIJx2qfU8C)

15. Revenga, F. 2007. Criptococosis (en línea). España. La piel en el contexto de la medicina y sus especialidades. Consultado 14 sep. 2011. Disponible en <http://www.elsevier.es/sites/default/files/.../21v16n07a13017695pdf001.pdf>
  
16. Romero, R. 2007. Microbiología y parasitología humana, 3era edición (en línea). España. Consultado 5 oct. 2011. Disponible en [http://books.google.es/books?id=Wv026CUhR6YC&printsec=frontcover&dq=microbiologia+y+parasitologia+humana&hl=es&ei=liiWTu73EsTu0gGUnZCQCA&sa=X&oi=book\\_result&ct=result&resnum=1&ved=0CC0Q6AEwAA#v=onepage&q&f=false](http://books.google.es/books?id=Wv026CUhR6YC&printsec=frontcover&dq=microbiologia+y+parasitologia+humana&hl=es&ei=liiWTu73EsTu0gGUnZCQCA&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CC0Q6AEwAA#v=onepage&q&f=false)

# **X. ANEXOS**

## ANEXO 1. FICHA DE CONTROL DE DATOS DEL MUESTREO

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Determinación de la presencia de *Cryptococcus neoformans*  
en heces de paloma (*Columba livia*) en áreas públicas  
de la ciudad de Antigua Guatemala, Sacatepéquez, Guatemala.

### FICHA DE CONTROL

Ubicación: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Número de palomas aproximado: \_\_\_\_\_

Lugar de recolección:

Pared

Pared con sombra

Suelo

Suelo con sombra

## ANEXO 2. FICHA DE CONTROL DE RESULTADOS DE LABORATORIO

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Determinación de la presencia de *Cryptococcus neoformans*  
en heces de paloma (*Columba livia*) en áreas públicas  
de la ciudad de Antigua Guatemala, Sacatepéquez, Guatemala.

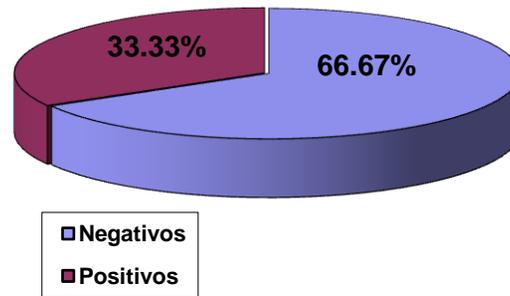
### RESULTADOS DE LABORATORIO

<b>No. Muestra</b>	<b>Resultado al aislamiento</b>

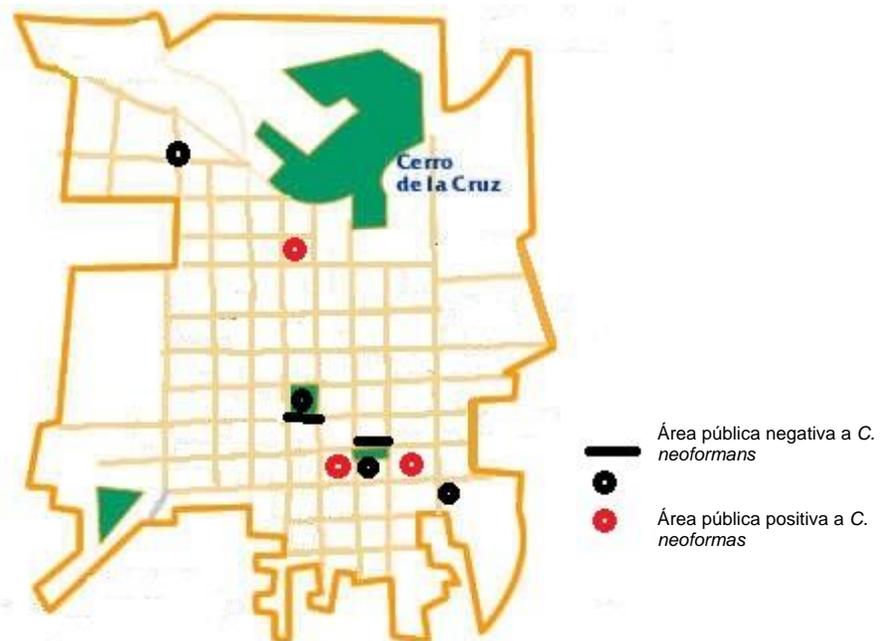
**ANEXO 3. TABLA DE RESULTADOS OBTENIDOS DEL ANÁLISIS DE HECES DE PALOMA PROVENIENTES DE LAS ÁREAS PÚBLICAS DE LA CIUDAD DE ANTIGUA GUATEMALA CON PRESENCIA DE PALOMAS.**

<b>SITIO DE MUESTREO</b>	<b>NUMERO DE PALOMAS</b>	<b><i>Cryptococcus neoformans</i></b>
Iglesia y Hospital San Pedro	25	+
Iglesia de La Merced	50	+
Iglesia San Francisco	10	-
Parque y Tanque la Unión	15	-
3ª Avenida Sur y 6ª Calle Oriente	15	-
Ruinas del Convento Santa Clara	20	+
Parque San Sebastián	10	-
Parque Central	10	-
Calle del Palacio de los Capitanes	10	-

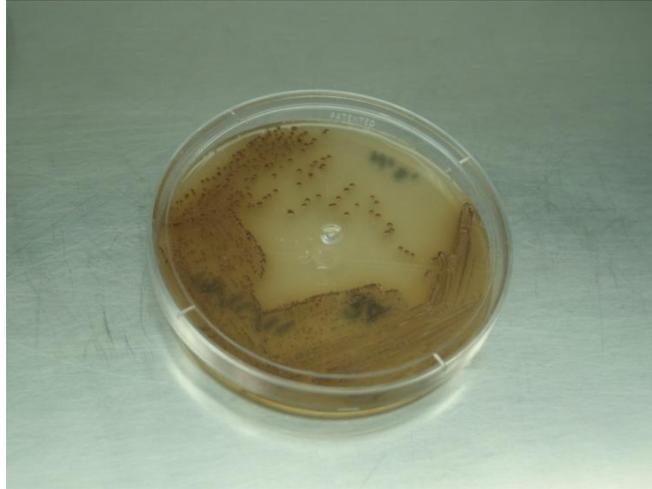
**ANEXO 4. GRÁFICA DE LA PRESENCIA DE *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* EN ÁREAS PÚBLICAS CON PRESENCIA DE PALOMAS DE LA CIUDAD DE ANTIGUA GUATEMALA.**



**ANEXO 5. FIGURA DE LAS ÁREAS DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE HECES DE PALOMA EN LA CIUDAD DE ANTIGUA GUATEMALA.**

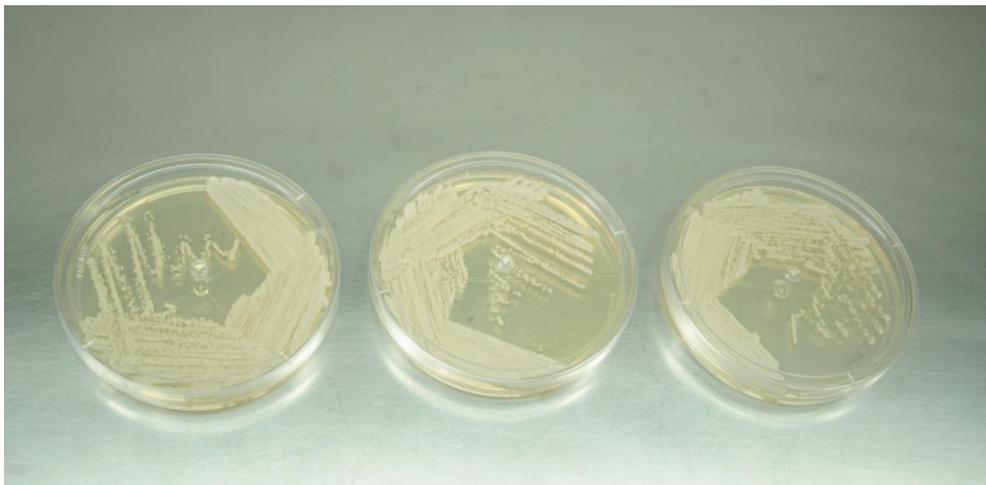


**ANEXO 6. CRECIMIENTO DE *Cryptococcus neoformans* EN AGAR “ALPISTE NEGRO” *Guizotia abyssinica*.**



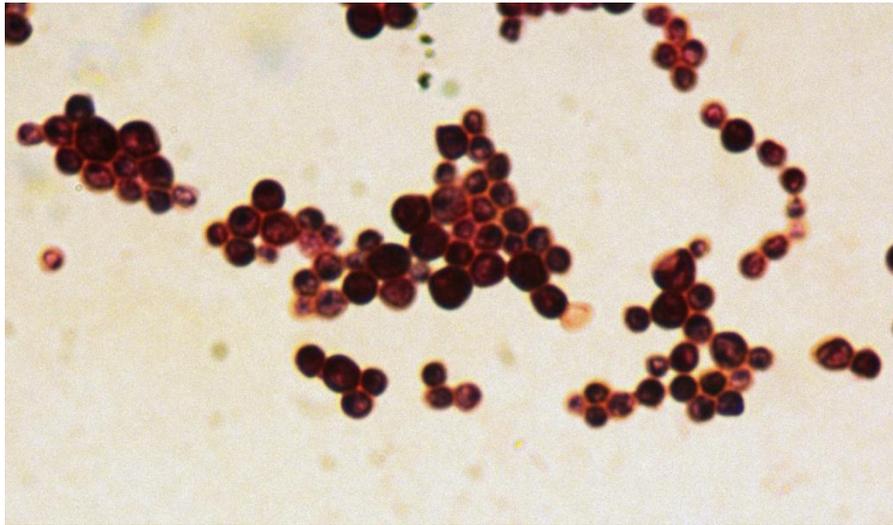
*Fotografía: Valery Maul.*

**ANEXO 7. CRECIMIENTO DE *Cryptococcus neoformans* EN PLACAS DE AGAR SABOURAUD.**



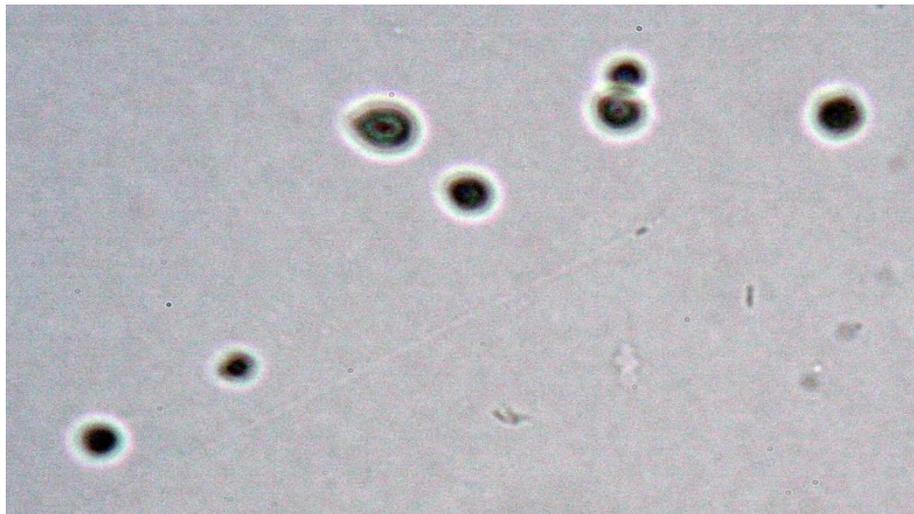
*Fotografía: Valery Maul.*

**ANEXO 8. MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA DE *Cryptococcus neoformans* EN TINCIÓN DE GRAM.**



*Fotografía: Valery Maul.*

**ANEXO 9. TINCIÓN DE CÁPSULAS DE *C. neoformans* CON TINTA CHINA.**



*Fotografía: Valery Maul*

## ANEXO 10. PRUEBA DE UREASA



*Fotografía: Valery Maul.*