



Facultad de Ciencias Químicas BUAP

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Químicas

Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Tesis

“FRECUENCIA DE *Cryptococcus neoformans* EN HECES DE PALOMAS
RECOLECTADAS EN LA IGLESIA LA COMPAÑÍA DE JESÚS DE LA CIUDAD DE
PUEBLA”

Grado a obtener: Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Presenta la pQ.F.B:

Juliana Etziqueli Bielma Santiago

Directora de tesis

Dra. Claudy Lorena Villagrán Padilla

Asesor de tesis

Dra. Ana Bertha Escobedo López

Agosto 2025

Índice

Tabla de contenido

INTRODUCCIÓN:	7
MARCO TEÓRICO	9
Cryptococcus neoformans	9
Enfermedad	9
Criptococosis.....	9
Transmisión.....	10
Etiología	10
Ecología	10
Epidemiología	11
Patogénesis.....	13
Manifestaciones clínicas.....	14
MARCO DE REFERENCIA	15
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
JUSTIFICACIÓN.....	18
OBJETIVOS	19
General:	19
Específicos:	19

HIPÓTESIS.....	20
Hipótesis nula:	20
DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	21
Tipo de estudio:	21
Universo del estudio:.....	21
Tamaño de la muestra:	21
Sede y lugar de estudio:.....	21
Criterios de selección	21
Recursos humanos:.....	22
Recursos financieros.....	22
Diseño estadístico.....	22
MATERIALES Y METODOLOGÍAS:.....	23
Materiales.....	23
Metodología	25
Procedimiento para el muestreo	25
Pasos para la toma de muestra:.....	25
Pasos del procedimiento en el laboratorio:	25
Diagrama de trabajo para la preparación del agar “alpiste negro”	26
Diagrama de trabajo para sembrar las muestras recolectadas en el agar “alpiste negro”	27
Diagrama de trabajo para observar con “tinta china” las muestras.....	28
Algunos ejemplos sobre cómo se vería en cada una de las pruebas.....	29

RESULTADOS Y DISCUSION	30
Conclusión	34
BIBLIOGRAFÍA.....	34

índice de imágenes

Imagen 1 . Cryptococcus neoformans observada través de microscopio con la técnica Tinta china [Manuales MSD, 2024]	29
Imagen 2. Cryptococcus neoformans crecimiento en agar “alpiste negro” [Maul, 2012].....	29
Imagen 3. Muestras coprológicas de palomas.....	30
Imagen 4. Placas de agar “alpiste negro”	30
Imagen 5. Placa de agar alpiste negro positiva a crecimiento de Cryptococcus neoformans	31
Imagen 6. Levaduras de Cryptococcus neoformans observada en microscopio a 40x Con tinción tinta china	31
Imagen 7. Levadura de Cryptococcus neoformans observada en microscopio a 100x con tinción tinta china	¡Error! Marcador no definido.
Imagen 8. Levaduras de Cryptococcus neoformans observada en microscopio a 40x con tinción de tinta china	32
Imagen 9. Levaduras de Cryptococcus neoformans observada en microscopio a 40x con tinción de tinta china	32

RESUMEN

En el área de investigación se ha identificado a las palomas como portadoras de diversas enfermedades, en Puebla podemos ver una amplia distribución y cantidad de palomas en espacios públicos, mayormente en las iglesias. Adentrando un poco la investigación encontramos a *Cryptococcus neoformans* dentro de la lista de enfermedades que desencadenan las palomas, *Cryptococcus neoformans* es una levadura que se puede encontrar en las heces de las palomas y mayormente en las heces secas y acumuladas esto debido a su riqueza en xantina, urea, ácido úrico y creatinina además es una levadura oportunista que ataca a las personas con sistema inmune debilitado.

Para realizar este trabajo obtuvimos muestras de heces de palomas de la iglesia De la Compañía de Jesús de la Ciudad de Puebla, para la recolección de estas, con algunos abatelenguas raspamos las heces y se recolectaron en bolsas de plástico para después ser transportadas al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Química de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla para su proceso. Para procesar la muestra agregamos solución salina a dichas muestras, agitamos por algunos minutos y dejamos sedimentar, procedimos a obtener asadas de las muestras y sembramos en agar sabouraud y en agar alpiste el cual fue elaborado desde cero.

Nuestro objetivo general fue determinar la frecuencia de *Cryptococcus neoformans* en heces de palomas recolectadas en espacios físicos (pisos, banquetas y jardineras) de la iglesia De la Compañía de Jesús de la Ciudad de Puebla.

Como resultado de la investigación en la recolección de las 100 heces de palomas una vez procesadas y encubadas por aproximadamente 9 días obtuvimos como resultado 6 muestras positivas de *Cryptococcus neoformans* de 100 muestras, dándonos un margen de frecuencia del 6% de las cuales 4 muestras fueron obtenidas de las jardineras, dando un 4% de margen de frecuencia de *Cryptococcus neoformans* en ellas y las dos restantes se obtuvieron de los pisos dando margen al 2%, por lo que se concluyó la frecuencia de *Cryptococcus neoformans* en las heces recolectadas en la iglesia De la Compañía de Jesús de la Ciudad de Puebla.

INTRODUCCIÓN:

Cryptococcus neoformans es un hongo oportunista, una de sus principales características es que es una levadura ovalada en gemación y que, además cuenta con propiedades de estar rodeada por una cápsula amplia de polisacáridos, no es dismórfica y por lo que al ser observada se nota una forma de yema de base estrecha.

Cryptococcus neoformans es causante de algunas enfermedades como lo son la criptococosis y la meningitis criptocócica. La criptococosis es mortal y una de las enfermedades más comunes y con una amplia distribución mundial. Es de gran importancia para pacientes con SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida) o en pacientes inmunocompetentes que presenten alguna enfermedad crónica, ya que la inmunosupresión celular es un factor importante y fundamental para el desarrollo de la enfermedad.

La forma en la que *Cryptococcus neoformans* se transmite es por inhalación de las esporas o por la transmisión en heridas, lo que es bastante común ya que esta levadura se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza y en su mayoría, en los suelos enriquecidos con excremento de aves en especial el de las palomas ya que también las heces de éstas pueden contener esta levadura.

En el estado de Puebla se cuenta con una gran cantidad de iglesias, se sabe que tiene aproximadamente 2 mil 500 templos, santuarios y ermitas. Como bien es conocido, las iglesias son el hogar de muchas aves en especial el de las palomas y como también es bien sabido la fe y la creencia han llevado de la mano a muchas personas a ir a estas iglesias a pedir por su salud, por estas razones, se tiene el interés de conocer más sobre la epidemiología de esta levadura y que tan factible es que una persona con una enfermedad inmunosupresora vaya a estas iglesias así como que tan bueno es el dejar habitar ahí a las palomas, tomando en cuenta que a través de un análisis en las heces de paloma en estos espacios se pretende determinar si son entonces un riesgo potencial para la salud de las personas o no hay ningún factor de riesgo.

Por lo que es importante realizar un muestreo de las heces de paloma, tomando dichas muestras de palomas que estén dentro o por fuera del templo haciendo una recolección de heces que provengan específicamente de “palomas” ya que son la especie en la cual se ha determinado que alcanza concentraciones elevadas de este hongo en sus heces debido a las condiciones óptimas que presentan. Con esta investigación se pretende contribuir en el estudio de este agente patógeno que podría llegar a afectar la salud pública.

MARCO TEÓRICO

Cryptococcus neoformans

Cryptococcus neoformans es una levadura de gemación y está rodeada por una cápsula de polisacárido. A diferencia de otras levaduras, no cambia de forma. Este organismo produce una forma de yema con una base estrecha. Se encuentra en muchos lugares de la naturaleza, uno de los lugares donde más está presente es en los suelos enriquecidos con excremento de aves en especial el de las palomas [Chin-Hong, 2024]. *Cryptococcus neoformans* puede propagarse desde los pulmones a otras partes del cuerpo, incluyendo el cerebro, donde puede causar meningoencefalitis y otras enfermedades [Walsh, 2019]

Enfermedad

Cryptococcus neoformans causa criptococosis, una de las más conocidas es la meningitis criptocócica. La criptococosis es una enfermedad fúngica invasiva y puede llegar a ser muy peligrosa y mortal además de ser la enfermedad más común en todo el mundo. Es de mayor importancia en pacientes con SIDA [Chin-Hong, 2024]. El hongo puede diseminarse produciendo lesiones que se pueden manifestar simultáneamente en el parénquima cerebral, médula espinal, piel, riñones, próstata, hígado y huesos.

Criptococosis

La criptococosis, es una infección micótica con una amplia distribución mundial, es también una de las principales enfermedades micóticas sistémicas que se produce cuando hay debilitamiento del sistema inmune, tiene un curso subagudo o crónico, su primera concentración primaria es pulmonar, pero sus manifestaciones están generalmente asociadas con el sistema nervioso central.

Transmisión

Cryptococcus neoformans se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza como se dijo anteriormente y crece abundantemente en suelos y mayormente en los que están enriquecidos con heces de palomas. Las aves no se infectan con esta levadura sin embargo se da la infección humana y se produce por inhalar al microorganismo (inhalación de células de levadura en el aire). No hay transmisión de persona a persona. [Chin-Hong, 2024]

Etiología

“Existen dos estados perfectos o telemórficos (estados de reproducción sexual) los cuales son *Fillobasidiella neoformans* var *neoformans* que se deriva de *Cryptococcus neoformans* [Li, 2010]. El hongo se comporta como heterotálico, encontrándose dos tipos de aislamientos en la naturaleza la variedad “ α ” y la “a”; más del 95% de los aislamientos clínicos corresponden a la variedad α “[Pérez, 2003]. En una fase anamorfa *Cryptococcus* se presenta como una levadura redonda u oval (4-6 μm), y éstas están rodeadas de una cápsula polisacárida que normalmente tiene variabilidad. Los aislamientos que se hacen en fuentes ambientales son por lo general pequeños [4 μm) con cápsula prácticamente inaparente en tanto que en los de origen clínico sucede lo contrario ($\geq 30 \mu\text{m}$). Con la amplia diferencia antigénicas de la cápsula se identificaron cinco serotipos: A, B, C, D y AD [Kronstad, 2011]. La distribución en la naturaleza es *C. neoformans* var *neoformans* y este se encuentra asociado con las deyecciones de palomas y otros pájaros. [Pérez, 2003]

El hábitat y fuente de infección donde se encuentra con mayor frecuencia esta levadura está ubicada en la naturaleza y se han hecho investigaciones en algunas zonas y en diversas fuentes como: suelo. Uno de los hábitats más importantes y frecuentes de esta levadura (*C. neoformans*) son las heces de aves, como palomas, pichones y gallinas.

Ecología

El papel de la paloma como portadora de hongos patógenos fue establecido por Emmons en 1955, quien aisló *C. neoformans* de las heces de palomas urbanas (*Columba livia*), siendo el

primero en dar a conocer la relación existente, y actualmente fundamentada entre el microorganismo (levaduras) y las heces de estas aves. [Colom, 2001] Tras el gran descubrimiento de Emmons, muchos investigadores de casi todo el mundo han demostrado que las heces de paloma son un importante hábitat y fuente de crecimiento enriquecido de *C. neoformans*. [Rosario, 2008] Según algunos autores, esta levadura no suele aislarse en heces recientes, pero si en aquellas acumuladas y secas. Por otro lado, otros estudios no muestran diferencias significativas en la frecuencia de aislamiento entre las heces secas y las frescas, o incluso ellos dicen que han llegado a aislar al microorganismo con más facilidad en heces frescas.

Parece que la alta concentración de creatinina en el estiércol de paloma favorece el crecimiento de *Cryptococcus neoformans*, 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 10⁶ 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 que además estos ayudan a la levadura a estimular su crecimiento. [Rosario, 2008]

Epidemiología

La estimación actualizada de la enfermedad criptocócica reveló una incidencia global de 223.100 casos al año [Oladele, 2017]. La mayoría de los casos ocurren en países de bajos y de pocos ingresos, particularmente en África subsahariana [Wykowski, 2020].

A medida que la epidemia del VIH creció y se expandió en la década de 1980, *C. neoformans* surgió como una importante infección oportunista en los Estados Unidos, Europa y Australia, que se presentó en el 5-10% de todos los pacientes con SIDA [Selik, 1997] [Hajjeh, 1999]. Las tasas de infección disminuyeron durante la década de 1990, gracias al uso frecuente y generalizado de azoles para tratar la candidiasis [Chen, 2000][Kaplan, 2000] y, posteriormente, con la introducción de HAART (terapia antirretroviral de alta eficiencia) [Mirza, 1992-2000][Gordon, 2000].

“*C. neoformans* es la principal causa de meningitis en África central y meridional, y representa el 26,5% de los casos en Malawi” [Békondi, 2006], “el 31% en una serie de la República Centroafricana” [Hakim, 2000] “y el 45% de Zimbabue” [Chariyalertsak, 1994-1998]. “En Tailandia, la criptococosis representa hasta el 20% de las enfermedades definitorias del SIDA” [Suwanagool, 1985-1993][Kumarasamy, 2003] y “se informa como una importante infección oportunista en India”[Pappalardo, 2003] y Brasil[Ramírez, 2017]. “América Latina tiene la tercera tasa más alta de meningitis criptocócica asociada con el VIH/SIDA en el mundo, con casi 55,000 casos estimados anualmente, siendo la población más afectada la del sexo masculino en un 80%, con una media de edad de 36 años” [Skipper, 2019].

En estudios retrospectivos y prospectivos que se realizaron en hospitales en Brasil y Argentina, la mortalidad por casos de criptococosis han oscilado entre 26% y 63% [De Castro Spadari, 2020], en una comparación con los de África subsahariana donde la mortalidad alcanza el 70% [Ministerio de Salud Pública, 2019]. De esta manera un estudio realizado en EEUU (Atlanta, Georgia, y Houston, Texas) demuestra que la incidencia de criptococosis disminuyó de 2,4 - 6,6 % (1992-1993) a 0,2-0,7% (2000.) [Mirza, 2003], otro estudio que se realizó en Francia demuestra una disminución del 46% en la incidencia de criptococosis [Dromer, 2004].

En países sin acceso a TARGA (terapia antirretroviral de gran actividad) la criptococosis es aún alta [Centers for Disease Control and Prevention, 2020]. también se informó que hasta el 6 % de las personas que tenían deterioro de la función de la inmunidad celular debido a otras causas (como neoplasias, lupus eritematoso sistémico, trasplante de órgano sólido o médula ósea, diabetes, sarcoidosis, tratamiento con corticoides u otra medicación inmunosupresora) corren un gran riesgo de presentar criptococosis [Levitz, 2006]. Se estima que actualmente a nivel mundial hay más de 1.000.000 de casos anuales de neurocriptococosis y con esto dan un total de 625.000 muertos y la mayoría de estos casos tienen origen y provienen de África Subsaharian[Kronstad, 2011].

“En Paraguay, no hay muchas publicaciones que hayan caracterizado a los pacientes con meningitis criptocócica asociadas al VIH, así en el año 2013 en una serie de casos de 13 pacientes con meningitis criptocócica, se informó que 8 tenían VIH, y de estos, 7 eran varones.

En otro estudio en el 2013 de patologías asociadas al VIH, se estudiaron 168 pacientes con VIH, y se encontraron a 9 pacientes (5%) con meningitis criptocócica.” [Vera, 2013]

Patogénesis

La infección pulmonar suele ser asintomática o quizá llegue a provocar neumonía. La enfermedad causada por *C. neoformans* ocurre con mayor incidencia en pacientes inmunocomprometidos al estar cursando una enfermedad, en especial aquellos con SIDA, en quienes el microorganismo se disemina al sistema nervioso central (meningitis) y otros órganos. Muchas veces, los nódulos subcutáneos se ven en la enfermedad diseminada; sin embargo, cabe destacar que alrededor de la mitad de los pacientes con meningitis criptocócica no muestra ni presentan evidencia de inmunosupresión. [Chin-Hong, 2024]

La puerta de entrada habitual de *C. neoformans* a nuestro organismo es a través de la vía respiratoria, con la inhalación de blastoconidias no encapsuladas presentes en el ambiente que son arrastradas de las heces secas de palomas por acción del viento y que, por su reducido tamaño, pueden llegar hasta los alvéolos pulmonares en donde se encapsulan. [Revenga, 2007]

La reacción inflamatoria contra las blastoconidias inhaladas nos da como resultado un complejo ganglionar pulmonar primario, compuesto por macrófagos y células gigantes, el cual, usualmente, impide la diseminación del hongo. [Hakim, 2000] El hongo puede permanecer latente en el parénquima o en los ganglios linfáticos pulmonares por períodos bastante largos después de la infección y se reactivan solo cuando las defensas del organismo se debilitan. Al evitar la respuesta inmunológica que presenta el hospedero, el organismo se llega a reproducir produciendo la enfermedad sintomática del pulmón y la diseminación por vía sanguínea a otros órganos, especialmente, al sistema nervioso central (SNC). También en el curso de la infección primaria las blastoconidias se pueden diseminar a otros órganos en los pacientes inmunosuprimidos [Revenga, 2007].

Manifestaciones clínicas

La criptococosis pulmonar es una enfermedad preocupante ya que está suele ingresar por el tracto respiratorio (siendo esta la puerta de entrada más común) y algunas de las manifestaciones pulmonares que se presentan abarcan un amplio espectro que va desde hallazgos radiológicos asintomáticos hasta trastornos respiratorios agudos. Pueden presentarse como nódulos, infiltrados lobares, intersticiales, patrón miliar, masas endobronquiales y cavitaciones. La forma localizada pulmonar puede afectar a personas normales o inmunosuprimidas siendo poco frecuente en las primeras [Brizendine, 2011]

Diagnóstico para detectar a *Cryptococcus neoformans*

El diagnostico se hará con base en demostrar la evidencia de la levadura por medio de cultivos selectivos como lo es el agar de alpiste negro o también conocido como nigger y también por medio de tinta china.

En el cultivo se podrá diferenciar de otras especies como cándidas u otras especies de *Cryptococcus*.

Algunos otros métodos utilizados para la detección de *Cryptococcus neoformans* son:

- Cultivos: agar BHI, agar Sabouraud, agar chocolate, agar sangre de carnero.
- Criterios bioquímicos y Criterios enzimáticos: Urea, inositol, fenoloxidasa, auxonograma del carbono o asimilación de carbohidratos, fermentación de carbohidratos.
- Prueba de termotolerancia.
- Diagnostico serológicos: aglutinación en látex, inmunofluorescencia indirecta, Elisa.
- Tinciones: mucicarmín de Meyer, etc.

MARCO DE REFERENCIA

FUNES y colaboradores en 2022 hicieron una investigación de aislar al hongo *Cryptococcus neoformans* de muestras de heces de paloma de castilla las cuales fueron tomadas de parques y plazas públicas en El Salvador. Ellos obtuvieron como resultado de su investigación solo 3 muestras positivas con la levadura de *Cryptococcus neoformans* de las 66 muestras que analizaron siendo un equivalente al 4.5%.

BARBOSA y colaboradores en 2016 sembraron a *Cryptococcus neoformans* en agar alpiste negro para diferenciarlo y observaron colonias con pigmentos café (marrón) por la transformación del ácido cafeínico con una peculiar forma de yema de huevo

QUINTERO y colaboradores en 2005 hicieron un estudio sobre la distribución ambiental de *Cryptococcus neoformans* y dentro de ellas qué tipo de suelo favorecía el crecimiento del mismo, tomando en cuenta piso térmico cálido, templado, frío y páramo y se encontró que de las 146 muestras recolectadas de heces de paloma, 31 muestras fueron positivas lo que equivaldría al 21%, estas muestras de heces de paloma fueron donde con mayor frecuencia se aisló a la levadura sin embargo se tomaron muestras de diferentes clases que abarcaron a los detritos de eucalipto y almendros, tomando en cuenta la recolección variada se encontró que 92 de los aislamientos con una representación del 88% fueron recuperados del piso térmico frío con lo que se evidencia su preferencia de *Cryptococcus neoformans* por los pisos térmicos fríos, pocas horas de exposición solar, humedad y temperaturas poco extremas.

En la tesis hecha por Valery Maul Rivas en Guatemala en el año 2012, recolectó información nueva acerca del hallazgo de *Cryptococcus neoformans* en heces de paloma en la que hizo un estudio de aproximadamente dos semanas donde se investigaron alrededor de 9 lugares públicos de la ciudad de Antigua Guatemala donde recolectó 15 muestras de cada uno de ellos y repitiendo el procedimiento la semana siguiente obteniendo así 270 muestras en total, de las cuales el 33.33% de los espacios públicos estudiados con presencia de palomas de la ciudad de la Antigua Guatemala resultaron ser positivos a la presencia de *Cryptococcus neoformans*.

HUAMAN y colaboradores realizaron una investigación de la detección de *Cryptococcus*

neoformans en heces de palomas en Lima metropolitana en el 2018, tomando 300 muestras de heces encontradas en suelos de parques y hospitales. Además, tomaron 30 muestras extras de las cloacas de palomas capturadas y tuvieron como resultado 47 de 300 muestras de heces secas y frescas positivas a la levadura de *Cryptococcus* y de ellas solo 7 muestras aisladas correspondieron a *Cryptococcus neoformans* lo que correspondería al 14.9% además, en su estudio determinaron que hubo cierta predominancia de aislamiento en las heces secas en un promedio de 4 a 7 aislamientos y también la cantidad de heces parece ser un factor importante debido a que el número mayor de aislamientos (6 de 7) fueron en lugares con mayor población de palomas.

VALLEJO y colaboradores hicieron un estudio de investigación en el casco urbano del municipio de Pasto, Colombia en 2016, en la cual analizaron 128 muestras de heces, recolectadas de 10 zonas diferentes de las cuales 9 de 10 se aisló al agente, lo que corresponde a una prevalencia de *Cryptococcus neoformans* en heces de palomas en el municipio de Pasto del 90% y del total de las muestras 34 de 128 fueron positivas a esta levadura siendo equivalente al 26.56% además, el 80% de las muestras que tomaron no eran frescas ya que la mayoría fueron secas, en exteriores y principalmente en el suelo.

TIMMERMANN y sus colaboradores en Lima, Perú analizaron heces de palomas domésticas y de lugares públicos en 2015-2016 en las cuales encontraron una frecuencia del 5.16% (16/310) de muestras positivas a *Cryptococcus neoformans* en ambos tipos de palomas evaluadas, en las heces de palomas de castilla encontraron el 8.89% (16/180) de muestras recolectadas con un IC95% de 2.7-7.6% de las muestras positivas a *Cryptococcus neoformans*, todas ellas tomadas en heces secas en palomares de palomas mensajeras criadas en cautiverio y en ambientes públicos de palomas de castilla.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las aves son portadoras de muchas enfermedades, ha llamado el interés una en especial que es la criptococosis la cual es provocada por el hongo levaduriforme *Cryptococcus neoformans*. Esta levadura puede transmitirse en humanos por inhalación o por medio de heridas, sin embargo, se ha estudiado que al ser inhalada por personas con problemas de inmunosupresión como el VIH/SIDA, enfermedades que provocan estar en estado inmunocomprometido e incluso en personas “sanas”, son infectadas con esta levadura por ejemplo, en un estudio realizado en Estados Unidos, se encontró que la incidencia anual de criptococosis en personas no infectadas con VIH era de entre 0.2 a 0.9 por cada 100,000 habitantes, en Francia, de 1,057 casos de criptococosis, aproximadamente el 20% correspondió a personas sin VIH [Cano 2002].

Uno de los hábitats de esta levadura es el suelo ya que éstas inundan las heces de paloma por su contenido de xantina, creatinina, urea y ácido úrico que enriquece su crecimiento. Se ha encontrado, en diferentes trabajos, que a *Cryptococcus neoformans* le gustan los suelos con temperatura fría y con poca luz solar, además, también se ha visto que es más probable su aislamiento cuando proviene de heces secas y en general que estas estén acumuladas.

En Puebla hay innumerables iglesias que son visitados por cientos de personas diariamente y muchas de estas personas asisten con el fin de pedir por su salud ya sea por alguna enfermedad por la que estén pasando o simplemente porque la mayoría de las iglesias en Puebla cuentan con una gran belleza arquitectónica. Sin embargo, existe la duda si en Puebla hay heces de palomas que puedan estar contaminadas con esta levadura, que tan contradictorio es que las palomas estén en esos espacios y que personas con una inmunosupresión los visiten.

Por esta razón se decidió realizar este estudio de investigación donde se recolectaron heces de palomas que estuvieron en el perímetro de la iglesia De la Compañía de Jesús de la Ciudad de Puebla que es una de las iglesias más visitadas de la ciudad.

Con esto llegamos a la siguiente pregunta de investigación ¿con que frecuencia se encontrará *Cryptococcus neoformans* en las heces de palomas que habitan en la iglesia De la Compañía de Jesús de la Ciudad de Puebla?

JUSTIFICACIÓN

Esta investigación está dirigida a tener resultados positivos o negativos sobre la presencia de *Cryptococcus neoformans* en heces de palomas de la iglesia De la Compañía de Jesús en la Ciudad de Puebla, debido a que es una de las ciudades con un mayor número de iglesias que día tras día son visitadas por muchas personas. La complejidad del problema radica en el desarrollo de muchas enfermedades que inmunocomprometen a cientos de personas diariamente y con problemas pulmonares, que resulta para este hongo oportunista una gran ventaja el transmitirse en ellos, se sabe que el contagio de este puede darse también en personas sanas sin embargo es menos común.

La indagación parte de la duda y teorías propias sobre si esta levadura está presente en las heces de las palomas que están en la iglesia De la Compañía de Jesús en la Ciudad de Puebla.

La importancia de poder estudiar y conocer los resultados de esta recae en poder promover un poco de orientación sobre si esto representa un problema para la salud de las personas y que con este estudio las iglesias puedan conocer la problemática si es que existe la presencia de *Cryptococcus neoformans* en una cantidad significativa de aislamientos o simplemente no existe tal riesgo. Por lo tanto, es fundamental poder tener un estudio que nos corrobore si es momento de tomar acción con las palomas que están en la iglesia De la Compañía de Jesús en la Ciudad de Puebla y con ello poder continuar una investigación más exhaustiva en las demás iglesias que nos puedan dar un dato más real sobre si en todas está ocurriendo esto y que acción tomar para evitar que esto provoque más enfermedades o simplemente la iglesia De la Compañía de Jesús no represente ningún problema con sus palomas debido a la poca presencia del hongo.

Tomando en cuenta las características de desarrollo del hongo como por ejemplo lugares sombreados, se debe verificar la limpieza que tienen las iglesias con estas heces ya que si encontramos cúmulos de heces secas también se recolectaran para corroborar lo que se ha descubierto en otras investigaciones.

Con las muestras recolectadas podremos tener un análisis más certero sobre la existencia de este hongo en las heces de palomas, que tan factible es que la iglesia deje habitar a las palomas en la misma, si es una necesidad el limpiar diariamente estas heces y que tan contradictorio es que las personas inmunosuprimidas vayan a pedir por su salud a lugares con un cumulo de palomas alto.

OBJETIVOS

General:

- ✓ Determinar la frecuencia de *Cryptococcus neoformans* en heces de paloma recolectadas en espacios físicos (pisos, banquetas, jardineras) de la iglesia De la Compañía de Jesús en la Ciudad de Puebla.

Específicos:

- ✓ Aislar e identificar a *Cryptococcus neoformans* en heces de paloma.
- ✓ Determinar la frecuencia de *Cryptococcus neoformans* en áreas físicas de la iglesia De la Compañía de Jesús en la Ciudad de Puebla
- ✓ Aislar a *Cryptococcus neoformans* en agar alpiste y se confirma a través de una tinción negativa realizando la observación con el objetivo 40x y 100x.

HIPÓTESIS

Cryptococcus neoformans se encuentra en las heces de paloma recolectadas en espacios físicos de la iglesia De la Compañía de Jesús en la Ciudad de Puebla

Hipótesis nula:

Cryptococcus neoformans no se encuentra en las heces de paloma recolectadas en espacios físicos de la iglesia De la Compañía de Jesús en la Ciudad de Puebla

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Tipo de estudio:

Descriptivo, observacional, prospectivo, transversal.

Universo del estudio:

Heces de palomas tomadas de la iglesia De la Compañía de Jesús

Tamaño de la muestra:

100.

Sede y lugar de estudio:

Las muestras se recolectaron en espacios físicos (pisos, banquetas, jardineras) ubicados en la iglesia De la Compañía de la Ciudad de Puebla y las muestras se procesaron en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas, BUAP.

Criterios de selección

Criterios de inclusión:

- muestras de heces secas de palomas.
- muestras acumuladas secas de heces de paloma.
- muestras recolectadas en sombra.
- muestras recolectadas en pisos, bancas y paredes.
- muestras en exposición solar

Criterios de exclusión:

- muestras de heces frescas de paloma.
- muestras recolectadas en nidos de palomas.
- muestras de heces palomas en cautiverio.
- muestra recolectadas en otras iglesias.

Recursos humanos:

- ✓ Asesores de investigación.
- ✓ Estudiante investigador.

Recursos financieros

Los gastos correrán a cargo del tesista.

Medios como Agar son dados por la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Puebla.

Diseño estadístico

Estadística descriptiva.

MATERIALES:

Materiales

- ✓ Portaobjetos.
- ✓ Cubreobjetos.
- ✓ Asas bacteriológicas.
- ✓ Tubos de ensayo.
- ✓ Placas Petri.
- ✓ Guantes quirúrgicos no estériles.
- ✓ Pinzas.
- ✓ Semillas de “alpiste negro”.
- ✓ Agar.
- ✓ Creatinina.
- ✓ Glucosa.
- ✓ Cloranfenicol.
- ✓ Agua destilada.
- ✓ Solución salina estéril.
- ✓ Alcohol cetona.
- ✓ Tinta china.
- ✓ Mechero.
- ✓ Incubadora.
- ✓ Microscopio.
- ✓ Muestras coprológicas de palomas.

- ✓ Cepa control de *Cryptococcus neoformans*.
- ✓ Abatelenguas estériles.
- ✓ Bolsas de plástico.
- ✓ Agar Sabouraud

METODOLOGÍA

Procedimiento para el muestreo

Como fase inicial del estudio se determinó el espacio físico a estudiar. Después de visitar varias iglesias ubicadas en la Ciudad de Puebla se observó la actividad humana, así como la presencia de palomas y el sitio que se decide muestrear es la iglesia De la Compañía de la Ciudad de Puebla que se encuentra ubicada en Calle 4 Sur, sin número, en el Centro Histórico de Puebla, Puebla.

Para recolectar la muestra y que esta sea homogénea y representativa, las muestras a recolectar fueron: heces en sombra, heces en piso con exposición solar, heces en paredes sin exposición solar y heces secas acumuladas.

Pasos para la toma de muestra:

1. Con ayuda de pinzas y abatelenguas se recolectaron 100 muestras de heces de palomas, tomando las muestras de todos los lugares mencionados anteriormente.
2. Se colocaron las muestras de heces en bolsas de plástico, las cuales estaban rotuladas para identificar de que sitio fue tomado.
3. Una vez obtenidas las muestras se trasladaron en un lapso no mayor a tres horas al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Pasos del procedimiento en el laboratorio:

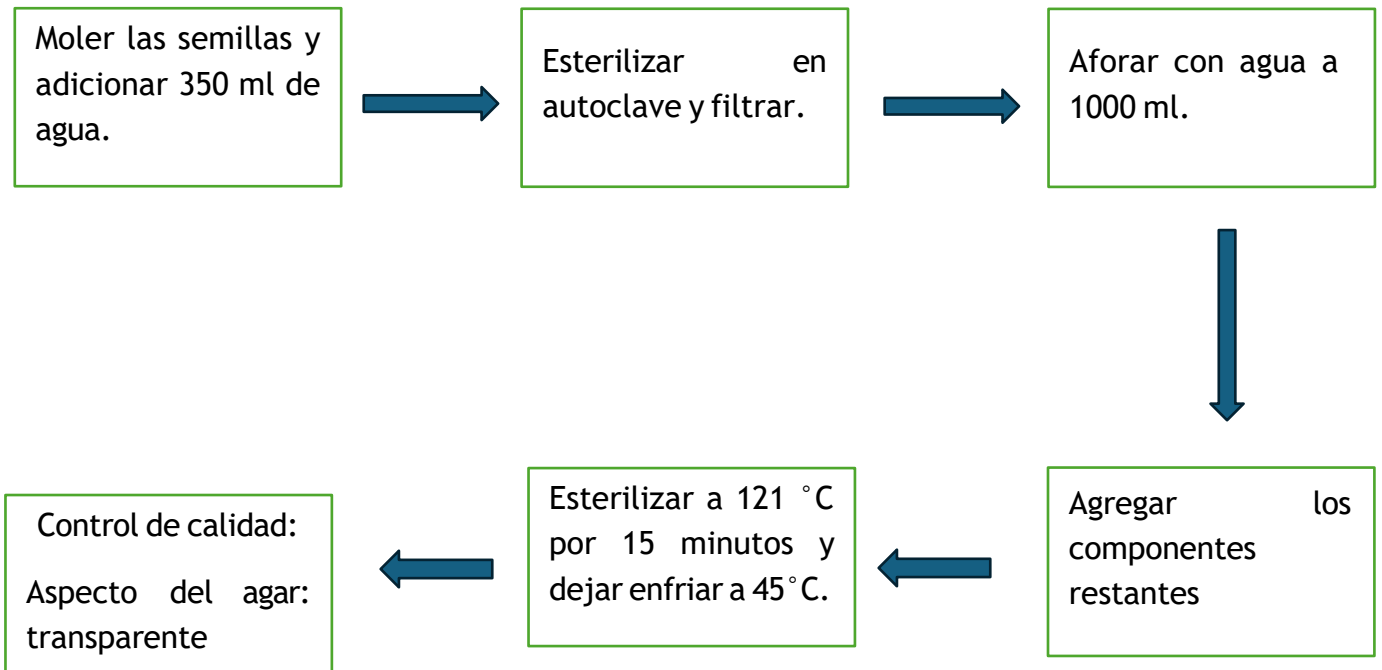
Para poder sembrar las muestras primero preparamos agar “alíste negro” de la siguiente manera:

Ingredientes:

- Glucosa 10g
- Creatinina 0.78g
- *Guizotia abyssinica* 70g
- Agar 20g

- Agua destilada 1000ml

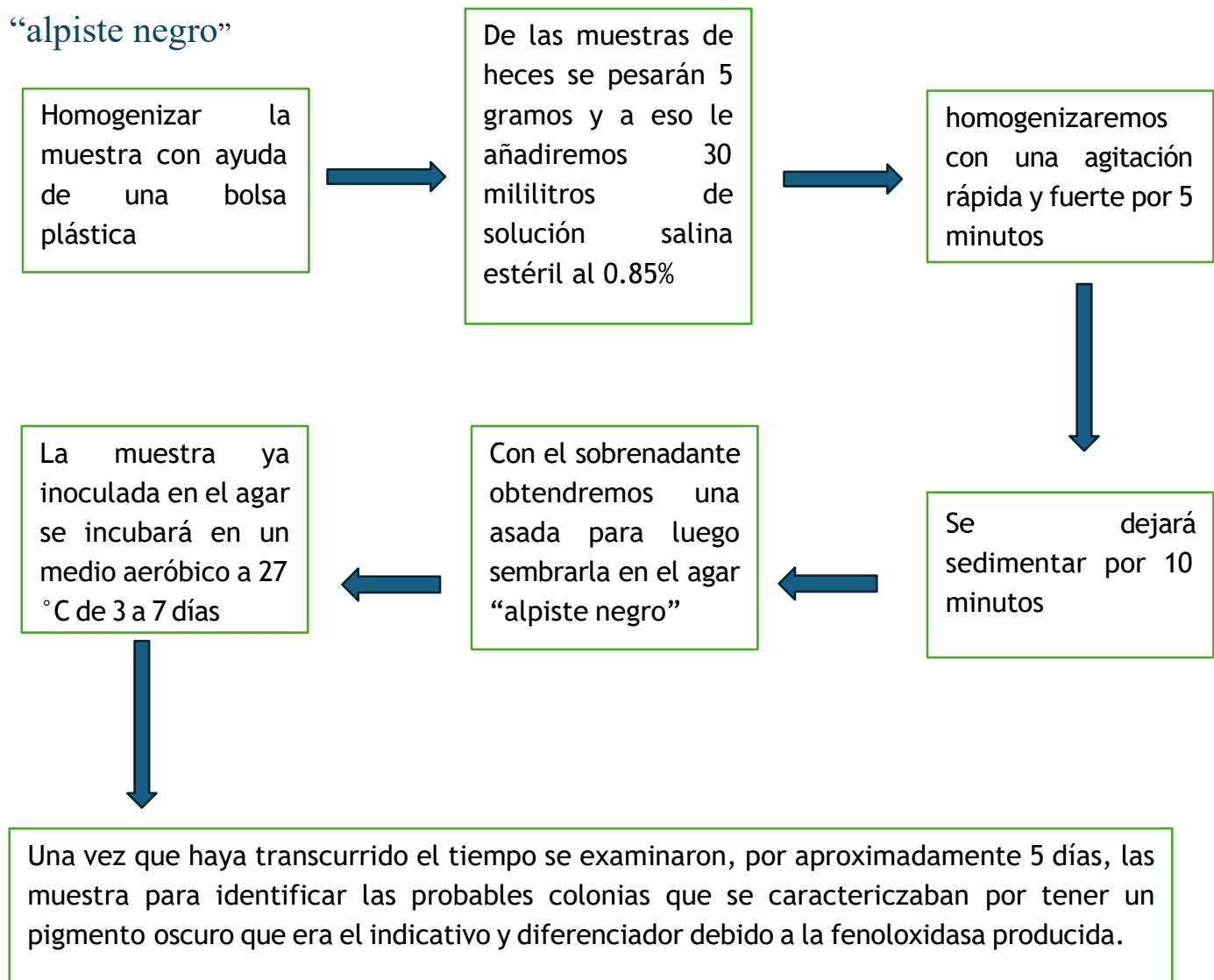
Diagrama de trabajo para la preparación del agar “alpiste negro”



Una vez que se ha realizado el agar donde se sembraron las muestras recolectadas se procedió a trabajar en condiciones de esterilidad para evitar cualquier tipo de contaminación, siguiendo los pasos siguientes:

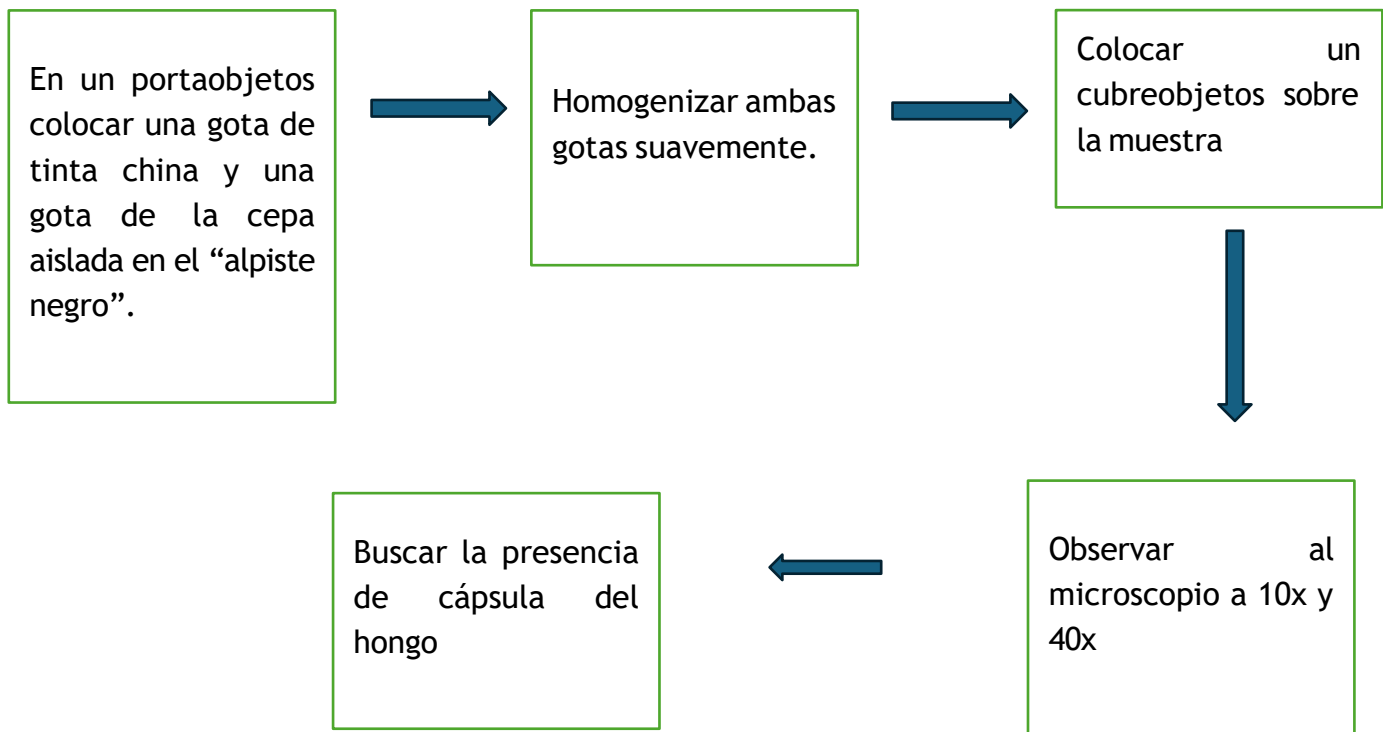
Diagrama de trabajo para sembrar las muestras recolectadas en el agar

“alpiste negro”



En el medio de cultivo se sospechó de *Cryptococcus neoformans* por lo que fue identificado por observación bajo microscopio de la siguiente manera:

Diagrama de trabajo para observar con “tinta china” las muestras



Algunos ejemplos sobre cómo se vería en cada una de las pruebas

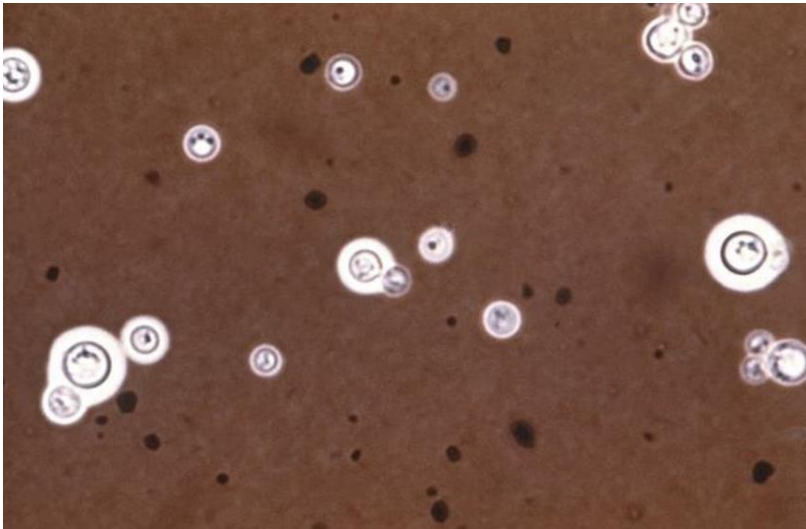


Imagen 1 . **Cryptococcus neoformans** observada través de microscopio con la técnica Tinta china [Manuales MSD, 2024]

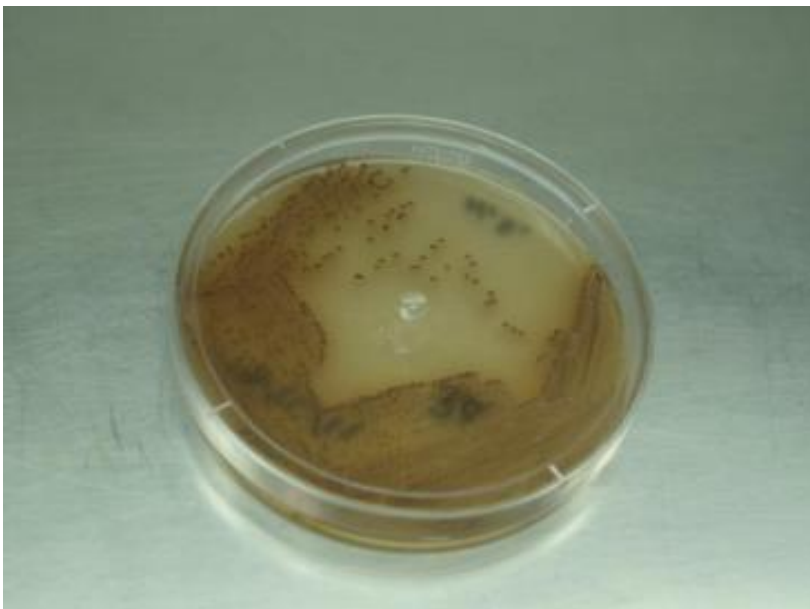


Imagen 2. **Cryptococcus neoformans** crecimiento en agar "alpiste negro" [Maul, 2012]

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se recolectaron heces de palomas presente en los espacios físicos como las jardineras, pisos y banquetas de la iglesia La Compañía de Jesús en la Ciudad de Puebla.

En cada lugar (jardineras, pisos y banquetas) se obtuvieron 33 muestras excepto de las jardineras donde se recolectaron 34 para completar las 100 muestras. Dicho procedimiento fue repartido en días diferentes ya que se hizo la toma 2 veces por semana por un periodo de 3 semanas, para



Imagen 4. Muestras coprológicas de palomas

obtener muestras y rangos de fechas diferentes.

Las heces fueron recolectadas en bolsas de plásticos y rotuladas del lugar donde fueron recolectadas tal y como se observa en la imagen 3.

Las heces fueron homogenizadas y de esa forma fueron inoculadas en placas individuales de agar “alpiste negro” dichas placas se observan en la imagen número 4, este agar fue elaborado únicamente para el

aislamiento selectivo de *Cryptococcus neoformans* y poder observar bien sus características morfológicas macroscópicamente.

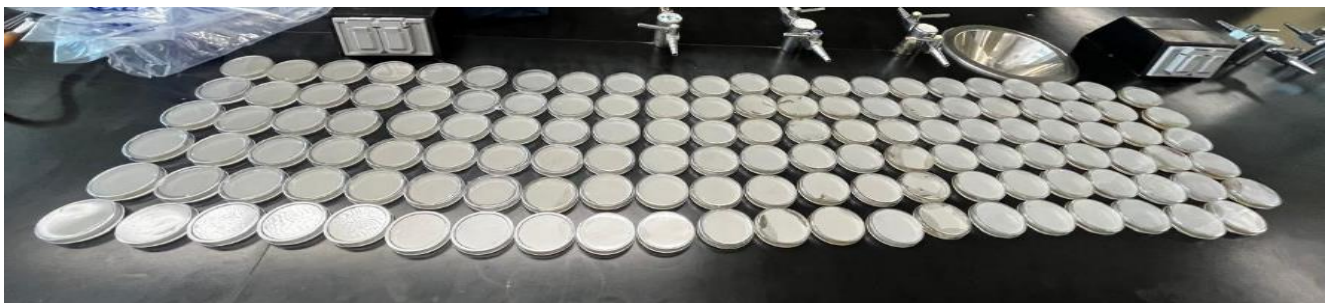


Imagen 3. Placas de agar “alpiste negro”

Para las primeras 40 muestras recolectadas en la primera semana se incubaron aproximadamente 9 días y se reveló la presencia de algunas placas sospechosas las cuales provenían de las

jardineras, estas fueron resembradas en placas nuevas de agar alpiste negro para obtener un cultivo más puro y así facilitar su observación macroscópica y microscópica.

Después del tiempo que se tomó la cepa resembrada en crecer (aproximadamente 12 días) se realizó la identificación por medio de la tinción negativa de tinta china donde se lograron observar la presencia de estructuras levaduriformes capsuladas tal como las características de *Cryptococcus neoformans*.



En esas muestras se encontraron 4 placas positivas con *Cryptococcus neoformans*, tanto en la valoración macroscópica como en la microscópica se observó muy bien su morfología ya que en las placas se podía apreciar a las colonias levaduriformes de color marrón con el centro más claro y con la forma de una yema de huevo tal como se observa en la imagen número 5.

Imagen 5. Placa de agar alpiste negro positiva a crecimiento de *Cryptococcus neoformans*

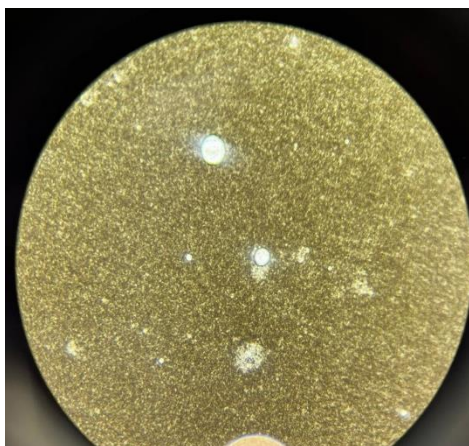


Imagen 7. Levaduras de *Cryptococcus neoformans* observada en microscopio a 40x Con tinción tinta china



Imagen 6. Levadura de *Cryptococcus neoformans* observada en microscopio a 100x con tinción tinta china

En la observación microscópica se observaron levaduras capsuladas que no permitían que la tinta china les diera coloración y es donde se forma la tinción negativa logrando observar la cápsula de polisacáridos y sus delimitaciones tal como se puede ver en la imagen 6 y 7.

En la segunda semana se recolectaron 30 muestras de las cuales todas fueron negativas no hubo ningún crecimiento en el agar alpiste, incluso se dejaron las placas en observación por más días para ver si habría algún crecimiento sin embargo no lo hubo.

Para la tercera semana también se tomaron 30 muestras donde con éxito tuvimos 4 placas sospechosas nuevamente con la observación macroscópica por lo que se aislaron a placas nuevas, prosiguiendo con los pasos se volvieron a observar microscópicamente con la tinta china donde de las placas sospechosas encontramos positivas a 2 placas de acuerdo con las características y se pueden observar en la imagen 8 y 9.

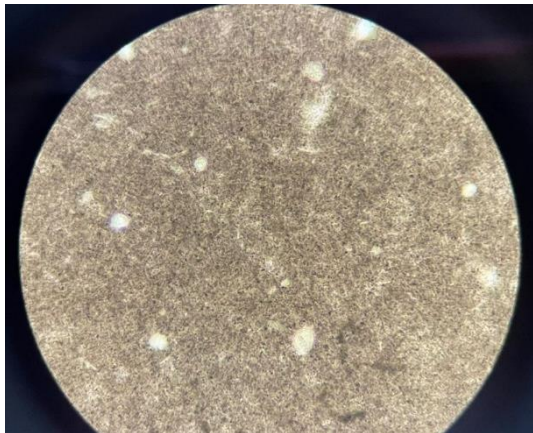


Imagen 8. Levaduras de **Cryptococcus neoformans** observada en microscopio a 40x con tinción de tinta china

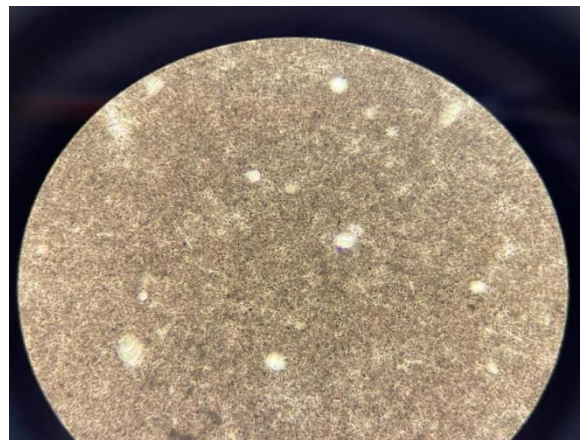


Imagen 9. Levaduras de **Cryptococcus neoformans** observada en microscopio a 40x con tinción de tinta china

De esta forma, las pruebas que se realizaron nos confirmaron la presencia de *Cryptococcus neoformans* en dos de los lugares de donde se recolectaron las muestras, las áreas de la iglesia La Compañía de Jesús de donde se encontró la presencia de *Cryptococcus neoformans* fueron las jardineras y pisos.

De acuerdo con los lugares donde se encontraron las muestras positivas, se observó que el

número de palomas era de por lo menos más de 20 aves, además, existía la presencia de heces de palomas acumuladas y existía muy poca limpieza de éstas.

Con esto obtuvimos como resultado 6 muestras positivas de las 100 evaluadas, lo que equivale al 6% muestras positivas encontradas. En comparación a las demás investigaciones podemos decir que hay una pequeña similitud a la que realizó FUNES en 2022 con el 4.5% en un rango de 3 muestras positivas de 66 recolectadas y TIMMERMANN en 2015-2016 con el 8.89% en un rango de 16 muestras positivas de 180 recolectadas. Con estos resultados se puede dar paso a que se presenten nuevas investigaciones con más amplitud en diferentes iglesias ya que esto puede representar una potencial fuente de infección ya que como se ha venido mencionando en Puebla existen una gran cantidad de iglesias las cuales acogen innumerables palomas, estas iglesias son visitadas diariamente por muchas personas pero lo preocupante son las personas que se encuentran inmunocomprometidas con enfermedades crónicas como VIH sida, diabetes, cáncer, etcétera; ya que son el principal huésped de esta levadura y debido a los problemas de identificación que conlleva la enfermedad, y la presencia de personas enfermas o inmunosuprimidas (las cuales son más susceptibles a padecer criptococosis) es importante que sea investigado ya que los resultados obtenidos en esta investigación sobre la frecuencia de *Cryptococcus neoformans* no fue nula.

CONCLUSIÓN

1. Los resultados del estudio nos confirman la existencia de *Cryptococcus neoformans* en heces de palomas ubicadas en la iglesia de La Compañía de Jesús de la Ciudad de Puebla.
2. La iglesia de La Compañía de Jesús es transitado y visitado diariamente por una gran cantidad de personas, lo cual representa un riesgo potencial en salud pública y en especial a las personas inmunocomprometidas.
3. Dado las propiedades de las heces de palomas, la acumulación de éstas, la poca limpieza del lugar y la cantidad de palomas que habitan en la iglesia de La Compañía de Jesús constituyen un elemento importante para la presencia de *Cryptococcus neoformans* y su frecuencia.
4. El agar elaborado de “alpiste negro” es un medio de cultivo que ayuda a la identificación y aislamiento de *Cryptococcus neoformans* ya que es un medio selectivo y hace fácil su identificación con su característico crecimiento color café.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Chin-Hong P, y Joyce EA, y Karandikar M, y Matloubian M, y Rubio L, y Schwartz BS, y Levinson W(Eds.). (2024). Micosis oportunistas. *Levinson's Review Of Medical Microbiology & Immunology, A Guide To Clinical Infectious Diseases*, 18.^a. <https://accessmedicine.bibliotecabuap.elogim.com/content.aspx?bookid=3428&ionid=284625889>
- [2] Walsh, N. M., Botts, M. R., McDermott, A. J., Ortiz, S. C., Wüthrich, M., Klein, B., & Hull, C. M. (2019). Infectious particle identity determines dissemination and disease outcome for the inhaled human fungal pathogen *Cryptococcus*. *PLoS Pathogens*, 15(6), e1007777. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007777>
- [3] Li, S. S., & Mody, C. H. (2010). *Cryptococcus*. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 7(3), 186-196.
- [4] Perez, J. (2003). La criptococosis: De enfermedad esporádica a reemergente. *Biosalud*, 2(1), 51-64.
- [5] Kronstad, J. W., Attarian, R., Cadieux, B., Choi, J., D'Souza, C. A., Griffiths, E. J., Geddes, J. M. H., Hu, G., Jung, W. H., Kretschmer, M., Saikia, S., & Wang, J. (2011b). Expanding fungal pathogenesis: *Cryptococcus* breaks out of the opportunistic box. *Nature Reviews Microbiology*, 9(3), 193-203. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2522>

- [6] Oladele, R. O., Bongomin, F., Gago, S., & Denning, D. W. (2017). HIV-Associated Cryptococcal Disease in Resource-Limited Settings: A Case for “Prevention Is Better Than Cure”? *Journal Of Fungi*, 3(4), 67. <https://doi.org/10.3390/jof3040067>
- [7] Wykowski, J., Galagan, S.R., Govere, S. et al. Cryptococcal antigenemia is associated with meningitis or death in HIV-infected adults with CD4 100–200 cells/mm³. *BMC Infect Dis* 20, 61 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12879-020-4798-1>
- [8] Selik, R. M., Karon, J. M., & Ward, J. W. (1997). Effect of the human immunodeficiency virus epidemic on mortality from opportunistic infections in the United States in 1993. *The Journal of Infectious Diseases*, 176(3), 632-636. <https://doi.org/10.1086/514083>
- [9] Hajjeh, R. A., Conn, L. A., Stephens, D. S., Baughman, W., Hamill, R., Graviss, E., Pappas, P. G., Thomas, C., Reingold, A., Rothrock, G., Hutwagner, L. C., Schuchat, A., Brandt, M. E., & Pinner, R. W. (1999). Cryptococcosis: population-based multistate active surveillance and risk factors in human immunodeficiency virus-infected persons. *Cryptococcal Active Surveillance Group. The Journal of infectious diseases*, 179(2), 449–454. <https://doi.org/10.1086/314606>

- [10] Chen, S., Sorrell, T., Nimmo, G., Speed, B., Currie, B., Ellis, D., Marriott, D., Pfeiffer, T., Parr, D., & Byth, K. (2000). Epidemiology and Host- and Variety-Dependent Characteristics of Infection Due to *Cryptococcus neoformans* in Australia and New Zealand. *Clinical Infectious Diseases*, 31(2), 499-508. <https://doi.org/10.1086/313992>
- [11] Kaplan, J. E., Hanson, D., Dworkin, M. S., Frederick, T., Bertolli, J., Lindegren, M. L., Holmberg, S., & Jones, J. L. (2000). Epidemiology of human immunodeficiency virus-associated opportunistic infections in the United States in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 30 Suppl 1, S5–S14. <https://doi.org/10.1086/313843>
- [12] Mirza, S. A., Phelan, M., Rimland, D., Graviss, E., Hamill, R., Brandt, M. E., Gardner, T., Sattah, M., de Leon, G. P., Baughman, W., & Hajjeh, R. A. (2003). The changing epidemiology of cryptococcosis: an update from population-based active surveillance in 2 large metropolitan areas, 1992-2000. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 36(6), 789–794. <https://doi.org/10.1086/368091>
- [13] Gordon, S. B., Walsh, A. L., Chaponda, M., Gordon, M. A., Soko, D., Mbwvinji, M., Molyneux, M. E., & Read, R. C. (2000). Bacterial meningitis in Malawian adults: pneumococcal disease is common, severe, and seasonal. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 31(1), 53–57. <https://doi.org/10.1086/313910>
- [14] Békondi, C., Bernede, C., Passone, N., Minssart, P., Kamalo, C., Mbolidi, D., & Germani, Y. (2006). Primary and opportunistic pathogens associated with meningitis in adults in Bangui, Central African Republic, in relation to human immunodeficiency virus serostatus. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 10(5), 387–395. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2005.07.004>
- [15] Hakim, J. G., Gangaidzo, I. T., Heyderman, R. S., Mielke, J., Mushangi, E., Taziwa, A., Robertson, V. J., Musvaire, P., & Mason, P. R. (2000). Impact of HIV infection on meningitis in Harare, Zimbabwe: a prospective study of 406 predominantly adult patients. *AIDS (London, England)*, 14(10), 1401–1407. <https://doi.org/10.1097/00002030-200007070-00013>
- [16] Chariyalertsak, S., Sirisanthana, T., Saengwonloey, O., & Nelson, K. E. (2001). Clinical presentation and risk behaviors of patients with acquired immunodeficiency syndrome in Thailand, 1994--1998: regional variation and temporal trends. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 32(6), 955–962. <https://doi.org/10.1086/319348>
- [17] Suwanagool, S., Ratanasuwan, W., Rongrungron, Y., Leelarasamee, A., & Manatsathit, S. (1994). AIDS at Siriraj Hospital during 1985–1993. *J Infect Dis Antimicrob Agents*, 11, 117-124.

- [18] Kumarasamy, N., Solomon, S., Flanigan, T. P., Hemalatha, R., Thyagarajan, S. P., & Mayer, K. H. (2003). Natural history of human immunodeficiency virus disease in southern India. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 36(1), 79–85. <https://doi.org/10.1086/344756>
- [19] Pappalardo MCSM, Melhem MSC. Cryptococcosis: a review of the Brazilian experience for the disease. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2003; 45(6):299-305. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652003000600001>
- [20] Ramírez, B. C., Vega, Y. C., Shepherd, B., Le, C., Turner, M., Frola, C., Grinsztejn, B., Cortes, C., Padgett, D., Sterling, T., McGowan, C., & Person, A. (2017). Outcomes of HIV-positive patients with cryptococcal meningitis in the Americas. *International Journal Of Infectious Diseases*, 63, 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2017.08.004>
- [21] Skipper, C., Abassi, M., & Boulware, D. R. (2019). Diagnosis and Management of Central Nervous System Cryptococcal Infections in HIV-Infected Adults. *Journal Of Fungi*, 5(3), 65. <https://doi.org/10.3390/jof5030065>
- [22] De Castro Spadari, C., Wirth, F., Lopes, L. B., & Ishida, K. (2020). New Approaches for Cryptococcosis Treatment. *Microorganisms*, 8(4), 613. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040613>
- [23] Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. (2019). Informe epidemiológico VIH 2019. Programa Nacional de Control del SIDA/ITS. <https://www.mspbs.gov.py/dependencias/pronasida/adjunto/d429aa-InformeEpidemiologicoVIH20191.pdf>
- [24] Vera, L. (s. f.). Patologías asociadas en pacientes con VIH. 2013 http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-81742013000200005
- [25] Mirza, S. A., Phelan, M., Rimland, D., Graviss, E., Hamill, R., Brandt, M. E., Gardner, T., Sattah, M., De Leon, G. P., Baughman, W., & Hajjeh, R. A. (2003). The Changing Epidemiology of Cryptococcosis: An Update from Population-Based Active Surveillance in 2 Large Metropolitan Areas, 1992–2000. *Clinical Infectious Diseases*, 36(6), 789-794. <https://doi.org/10.1086/368091>
- [26] Dromer, F., Mathoulin-Pélissier, S., Fontanet, A., Ronin, O., Dupont, B., & Lortholary, O. (2004). Epidemiology of HIV-associated cryptococcosis in France (1985–2001). *AIDS*, 18(3), 555-562. <https://doi.org/10.1097/00002030-200402200-00024>
- [27] Centers for Disease Control and Prevention. (2020). Fungal diseases at a glance. <https://www.cdc.gov/fungal/pdf/at-a-glance-508c.pdf>

- [28] Levitz, S. M., & Boekhout, T. (2006). Cryptococcus: el gigante que alguna vez estuvo dormido está completamente despierto. *FEMS Yeast Research*, 6, 461-462. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2006.00000.x>
- [29] Kronstad, J. W., Attarian, R., Cadieux, B., Choi, J., D'Souza, C. A., Griffiths, E. J., Geddes, J. M. H., Hu, G., Jung, W. H., Kretschmer, M., Saikia, S., & Wang, J. (2011). Expanding fungal pathogenesis: Cryptococcus breaks out of the opportunistic box. *Nature Reviews Microbiology*, 9(3), 193-203. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2522>
- [30] Colom, M. F., Frases, S., Ferrer, C., Martín-Mazuelos, E., Hermoso de Mendoza, M., Torres Rodríguez, J. M., Quindós, G., & colaboradores. (2001). Estudio epidemiológico de la criptococosis en España: primeros resultados. *Revista Iberoamericana de Micología*, 18(2), 99-104. <http://www.reviberoammicol.com/2001-18/099104.pdf>
- [31] Rosario, I., Acosta, B., & Colom, F. (2008). La paloma y otras aves como reservorio de *Cryptococcus* spp. *Revista Iberoamericana de Micología*, 25(Suppl 1), S13-S18. <http://www.reviberoammicol.com/2008-25/S13S18.pdf>
- [32] 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/.../21v16n07a1301_7695pdf001.pdf
- [33] Brizendine, K. D., Baddley, J. W., & Pappas, P. G. (2011). Pulmonary cryptococcosis. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 32(6), 727-734.
- [34] Funes, G., Mata-Delgado, C., Jaikel-Viquez, D., & Guerrero-Mendoza, Z. V. (2022). Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en excrementos de paloma de Castilla (*Columba livia*) provenientes de lugares públicos de El Salvador. *Acta Médica Costarricense*, 64(1), 52-57. <https://doi.org/10.51481/amc.v64i1.1227>
- [35] *Dermatología Cosmética Médica y Quirúrgica*, Abril - Junio 2024, es una Publicación trimestral editada por Medipiel
- [36] Distribución ambiental de *Cryptococcus neoformans* en el departamento de Cundinamarca, Colombia. (2005). *Revista Iberoamericana de Micología*, 22(3), 93-98. <https://reviberoammicol.com/2005-22/093098.pdf>
- [37] Maul Rivas, V. (2012). Determinación de la presencia de *Cryptococcus neoformans* en heces de paloma (*Columba livia*) en áreas públicas de la ciudad de Antigua Guatemala,

Sacatepéquez, Guatemala (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

[38] HUAMAN, Ana et al. *Cryptococcus neoformans* en heces de palomas (*Columba livia*) en Lima Metropolitana. *Rev Med Hered* [online]. 2018, vol.29, n.2, pp.85-89. ISSN 1018-130X. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v29n2/a04v29n2.pdf>

[39] Timarán, D. A. V., Melo, C. J. B., Velásquez, C. A. C., Caicedo, M. I. M., & Ceballos, A. M. C. (2016). Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en heces de palomas (*Columba livia*) en el casco urbano del municipio de Pasto, Colombia. *Biosalud*, 15(1), 62-71. <https://doi.org/10.17151/biosa.2016.15.1.7>

[40] TIMMERMANN F, Ricardo; MORALES-CAUTI, Siever y VILLACAQUI A, Eglinton. *Cryptococcus neoformans* en heces de palomas mensajeras y de Castilla (*Columba livia*) en Lima, Perú. *Rev. investig. vet. Perú* [online]. 2020, vol.31, n.3, e18732. ISSN 1609-9117. <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18732>

[41] Manuales MSD. (2024, 17 septiembre). Image:Tinta china (*Cryptococcus neoformans*)-Manual MSD versión para profesionales. Manual MSD Versión Para Profesionales. <https://www.msdmanuals.com/es-mx/professional/multimedia/image/tinta-china-cryptococcus-neoformans->

[42] Cano Rangel, M., & Gomes Rivera, N. (2002, febrero). Meningitis por *Cryptococcus*. reporte de un caso. <https://www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp-2002/sp021f.pdf>.