

***Cryptococcus neoformans* EN EXCRETAS DE PALOMAS, SUELO Y AIRE DE LOS PALOMARES DEL PERÍMETRO URBANO DE ICA, 2002**

Maria Curo I¹, Marianella Salinas F¹, José Casquero C²

RESUMEN

Objetivos: Aislar e identificar las variedades de *Cryptococcus neoformans* que existen en excretas de palomas, suelo y ambientes aéreos del perímetro urbano de la ciudad de Ica, Perú. **Materiales y métodos:** Se colectaron muestras de excretas de palomas, suelo contaminado y aire de palomares entre mayo y julio del año 2002. Para el aislamiento primario se usó agar Sabouraud dextrosa con cloramfenicol. Para la identificación por especie se usaron pruebas convencionales y la determinación de la variedad se evaluó sobre el medio de cultivo agar canavanina glicina azul de bromotimol sódico. **Resultados:** Se obtuvieron 124 muestras procedentes de palomares de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, capilla del Hospital Socorro, Los viñedos de Santa María, La Victoria y San Joaquín. Se aislaron 26 cepas del género *Cryptococcus* de las cuales nueve cepas correspondieron a *C. neoformans* var. *neoformans* y 17 a *Cryptococcus* spp. La mayor frecuencia se encontró en la zona del palomar de la Facultad de Medicina. **Conclusión:** *C. neoformans* var. *neoformans* se encuentra en excreta y suelo de las áreas protegidas de los palomares estudiados.

Palabras clave: Excreta, Palomas, *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (fuente: DeCS BIREME).

ABSTRACT

Objectives: To isolate and identify *Cryptococcus neoformans* varieties from pigeon stools, soil and air in the urban area of Ica city, Peru. **Materials and methods:** Pigeon stool, contaminated soil, and air samples from pigeon houses were collected between May and July 2002. For primary isolation, Sabouraud dextrose agar with chloramphenicol was used. For species identification conventional tests were used, and for varieties identification sodium bromothymol blue glycin canavanine agar was used. **Results:** 124 samples from pigeon houses in San Luis Gonzaga University Medical School, Socorro Hospital Chapel, and Santa Maria, La Victoria, and San Joaquin vineyards were obtained. 26 strains of *Cryptococcus* genus were isolated. Nine strains were identified as *C. neoformans* var. *neoformans*, and 17 were *Cryptococcus* spp. The fungus was most frequently found in pigeon houses from San Luis Gonzaga University Medical School. **Conclusions:** *C. neoformans* var. *neoformans* is found in stools and in the soil of pigeon houses studied.

Key words: Excreta, Pigeons, *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (source: DeCS BIREME).

INTRODUCCIÓN

El primer aislamiento ambiental de *Cryptococcus neoformans* fue reportado por Sanfelice (1894) quien observó levaduras capsuladas en el jugo de durazno. Al año siguiente reprodujo la enfermedad en animales de experimentación y llamó a este hongo *Saccharomyces neoformans*. En Alemania, Busse y Buschke en 1895, descubrieron el primer caso de seres humanos con lesiones cutáneas y óseas. Vuillemin en 1901, clasificó a la levadura aislada en estos pacientes dentro del género *Cryptococcus* y su especie *C. neoformans*¹⁻³.

El hongo se encuentra como saprófito en frutas (durazno) o jugos, leche de animales, madera, suelo, pasto, establos, excremento de aves y tubérculos como papa y zanahoria. Este hongo monomórfico presenta tres variedades, la var. *neoformans* se aísla en asociación principalmente con excretas de palomas, canarios y loros, la var. *gattii* tiene distribución geográfica restringida, prevalece en regiones tropicales y subtropicales como Australia, Brasil, California, Colombia y México: se relaciona con diversas especies de eucaliptos (*E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. gomphocephala*), mientras que la var. *grubii* se desprende del serotipo A de la var. *neoformans*^{1,2,4-8}.

¹ Facultad de Ciencias, Universidad Nacional San Luis Gonzaga. Ica, Perú.

² Laboratorio de Micología, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú.

La criptococosis es la cuarta enfermedad oportunista que afecta a personas con SIDA, debido a que la inmunosupresión celular es un factor predisponente y su frecuencia ha aumentado conjuntamente con el número de individuos con alteraciones inmunitarias. La mortalidad oscila entre 15% a 30% y es frecuente en personas expuestas a excrementos de paloma o aire acondicionado contaminado con este microorganismo¹. Existen escasas publicaciones nacionales sobre este tema pero hay información de que en Ayacucho, entre 1996-1997 se realizaron aislamientos ambientales de esta levadura⁹.

La importancia de realizar estudios ambientales es poder identificar las zonas donde se encuentra el hongo; aislar esta levadura en áreas cercanas a centros hospitalarios puede tener implicancia en la salud pública puesto que puede infectar a pacientes inmunodeprimidos.

El objetivo del estudio es aislar e identificar las variedades de *C. neoformans* que existen en excretas de palomas, suelo y aire de palomares del perímetro urbano de la ciudad de Ica.

MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO

Estudio observacional, descriptivo y transversal que se desarrolló entre mayo y julio del año 2002.

ÁREA DE ESTUDIO

El departamento de Ica, está situado en la costa central del litoral peruano entre 12° 57' 42" y los 75° 36' 43" y 76° 23' 48" de longitud al oeste del meridiano de Greenwich. Está conformado por 14 distritos y cinco provincias, tiene un área de 21 327 km² de extensión. Presenta un clima cálido y seco con pocas lluvias, tiene una temperatura anual promedio de 23 °C.

Las zonas de muestreo fueron los palomares de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga, la capilla del Hospital Socorro, La Victoria, los viñedos de Santa María y San Joaquín, los cuales se encuentran cerca de los dos grandes hospitales de la ciudad de Ica (Figura 1). Las áreas de los viñedos de Santa María y San Joaquín, son zonas más abiertas, por lo que la incidencia de radiación solar es directa a diferencia de las otras zonas de estudio, donde los palomares están protegidos, además no se realiza su limpieza acumulándose las excretas, condiciones que pueden favorecer el crecimiento de *C. neoformans*.

PROCEDIMIENTOS

Se recolectaron 100 g de excretas de palomas y tierra contaminada con deyecciones de los palomares, las cuales fueron colocadas en bolsas de polietileno de primer uso. Posteriormente, las muestras fueron trasladadas, en un tiempo promedio de tres horas, al la-

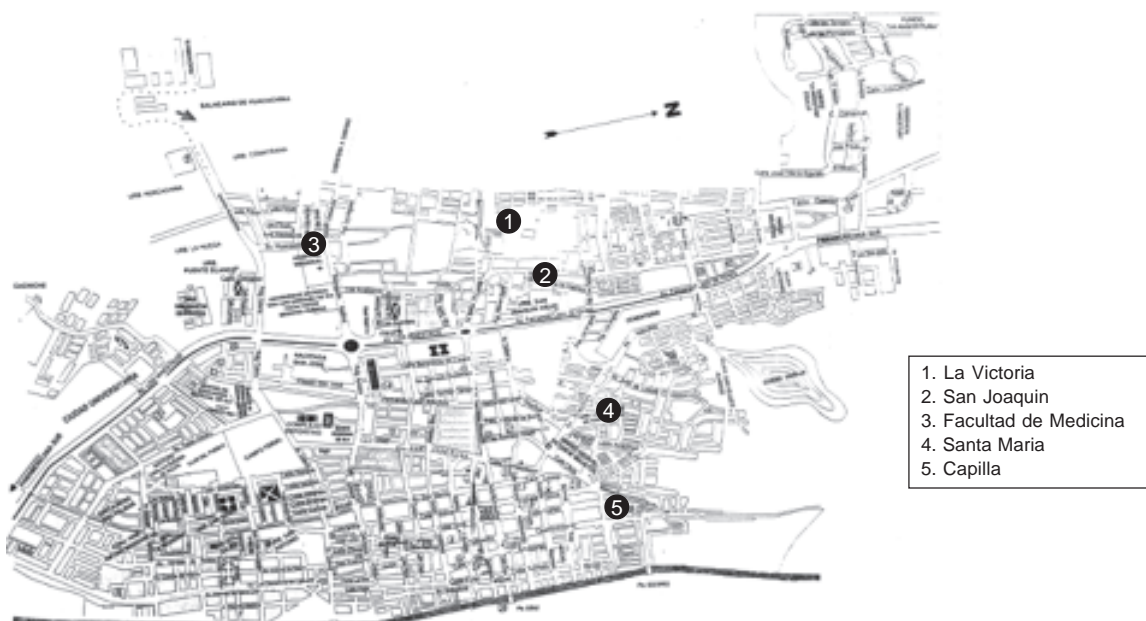


Figura 1. Mapa de la ciudad de Ica, precisando los lugares de estudio

boratorio de microbiología de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga, donde se pesaron 5 g de excretas y de tierra contaminada y se suspendieron en 30 mL de solución salina estéril al 0,85%. Las muestras fueron homogeneizadas agitándolas vigorosamente durante 15 minutos, luego, se las dejó reposar durante 30 minutos. A partir del sobrenadante se obtuvo una asada y se sembró sobre agar Sabouraud dextrosa (ASD) con cloramfenicol (CAF).

Para coleccionar muestras de ambientes aéreos se expusieron placas Petri abiertas al aire libre por espacio de diez minutos; dichas placas contenían ASD con CAF (método de Koch).

Los tres tipos de muestra se incubaron a 25 °C y 37 °C durante tres a cinco días⁵. Se identificaron aquellas colonias lisas mucoides, blancas o de color crema que desarrollaron en ambas temperaturas^{1,2}.

En el Laboratorio de Micología del INS se realizó la tipificación por género y especie, haciendo uso de pruebas convencionales como la visualización de la cápsula de polisacárido empleando tinta china, formación de película en caldo Sabouraud dextrosa, características microscópicas sobre agar arroz, desarrollo a 25 °C y 37 °C, asimilación de carbohidratos, reducción rápida de nitrato y pruebas de la ureasa y fenoloxidasa modificada¹⁰⁻¹⁶.

Para diferenciar las variedades las cepas en estudio fueron sembradas en el medio de cultivo agar canavanina glicina azul de bromotimol sódico (CGB). Se incubaron a 28 °C durante cinco días. La prueba positiva fue indicada por un cambio del color amarillo oro hacia un azul cobalto del medio; si éste mantiene su color inicial se trata de una prueba negativa^{10,17}.

ANÁLISIS DE DATOS

La información obtenida se consolidó en una base de datos de Excel®; los datos fueron analizados con estadística descriptiva calculando las frecuencias.



Figura 2. Palomar de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga.

RESULTADOS

Se coleccionaron 124 muestras de palomares de zonas aledañas a dos hospitales de la ciudad de Ica, las cuales correspondieron a la Facultad de Medicina (16/124), Capilla del Hospital Socorro (16/124), los Viñedos de Santa María (18/124), La Victoria (19/124) y San Joaquín (55/124).

Se recolectó un total de 56 muestras de excretas de paloma, 34 del suelo de palomares y 34 de ambientes aéreos de palomares. Se aislaron 26 cepas (20,9%) correspondientes al género *Cryptococcus sp.*, el 50% procedieron de excretas de palomas y proporciones similares fueron aisladas de suelo y aire de palomares (Tabla 1).

Se identificó 9/26 cepas (35%) como *C. neoformans* var. *neoformans* aisladas de excretas de palomas y suelo contaminado. Asimismo, se tipificó 17 cepas como *Cryptococcus spp.* (65%) procedentes de los tres tipos de muestras. El 78% de los aislamientos de *C. neoformans* var. *neoformans* proceden de excretas (6/7) y suelo (1/7) del palomar de la Facultad de Medicina (Figura 1), registrándose en menor proporción aislamientos en palomares de la capilla del Hospital Socorro y la Victoria (Tabla 2).

Tabla 1. Proporción de cepas de *Cryptococcus sp.* aisladas del perímetro urbano de la ciudad de Ica, 2002.

	Facultad de Medicina		Capilla del Hospital de Socorro		Los Viñedos de Santa María		La Victoria		San Joaquín		Total		
	Muestras	Cepas aisladas	Muestras	Cepas aisladas	Muestras	Cepas aisladas	Muestras	Cepas aisladas	Muestras	Cepas aisladas	Muestras	Cepas aisladas	%
Excretas	10	6	10	1	6	1	9	3	21	2	56	13	23,2
Suelo	3	2	3	3	6	0	5	1	17	0	34	6	17,7
Ambientes aéreos	3	0	3	0	6	2	5	0	17	5	34	7	20,6
Total	16	8	16	4	18	3	19	4	55	7	124	26	20,9

Tabla 2. *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* aislados del perímetro urbano de la ciudad de Ica, 2002.

	Excretas	Suelos	Ambientes aéreos	Total
Facultad de Medicina				
<i>C. neoformans</i>	6	0	0	6
<i>Cryptococcus</i> sp.	0	2	0	2
Capilla del Hospital de Socorro				
<i>C. neoformans</i>	1	0	0	1
<i>Cryptococcus</i> spp.	0	3	0	3
Viñedos de Santa María				
<i>C. neoformans</i>	0	0	0	0
<i>Cryptococcus</i> spp.	1	0	2	3
La Victoria				
<i>C. neoformans</i>	0	0	0	0
<i>Cryptococcus</i> spp.	3	1	0	4
San Joaquín				
<i>C. neoformans</i>	0	0	0	0
<i>Cryptococcus</i> spp.	2	0	5	7
Total	13	6	7	26
<i>C. neoformans</i>	7	2	0	9
<i>Cryptococcus</i> spp.	6	4	7	17

DISCUSIÓN

En nuestro estudio y en el de Quicaño *et al.*⁹ se aisló esta levadura en heces y suelo contaminado con excretas de palomas; sin embargo, sólo en este último estudio se logró aislar una cepa a partir del ambiente aéreo, lo cual indicaría que las pequeñas formas celulares del hongo puedan ser fácilmente transportadas por el aire, ser inhaladas y alojadas en los alvéolos pulmonares por un hospedero humano susceptible, siendo por tanto las deyecciones de aves un importante reservorio natural^{5,7,9,18-24}.

Nuestro hallazgo de *C. neoformans* en excretas de palomas (12,5%) es inferior a lo hallado por Caicedo *et al.*¹⁹ que aislaron 59 cepas (49,6%) de 119 muestras, pero es similar a lo observado en Chile, donde identificaron 35 cepas (15,6%) a partir de 225 muestras²⁴. Sin embargo, en Venezuela notificaron que en 36 muestras de excretas de palomas, sólo se aisló una cepa de esta levadura²⁰.

El aislamiento de esta levadura es más frecuente en excretas de palomas en cautiverio que las que habitan libremente en zonas urbanas⁵. Así mismo, al estudiarse en diferentes pisos térmicos en Cundinamarca, Colombia, se encontró una predilección por el piso térmico que presenta temperaturas entre 12 y 18 °C²¹.

En Ayacucho, de 100 cepas aisladas se identificaron diez cepas de *C. neoformans* a partir de excretas de

paloma, una cepa del suelo y una cepa del ambiente aéreo de vivienda⁹.

El hallar otras especies de *Cryptococcus* sp. diferentes a *C. neoformans* en excretas, suelo y aire de los palomares también a sido descrito por diversos investigadores que aislaron esta levadura de suelos contaminados con excretas, hojas, flores y polen de plantas ornamentales como: eucalipto, pino, acacia, jacarandá y tilo^{5,18,22,23}.

En los palomares de la Facultad de Medicina se aisló en mayor proporción a *C. neoformans* var. *Neoformans*; esto es debido a las condiciones en que se encuentran estos palomares, como la mayor acumulación de aves e insuficiente ventilación, lo cual incrementa la población micótica, a diferencia de otras zonas (Viñedos de Santa María y San Joaquín) donde las condiciones de los palomares son diferentes; áreas más abiertas y mayor incidencia de radiación solar directa, factores que inhiben el crecimiento del microorganismo (Figura 2). Todo ello permite manifestar que el mayor acúmulo de heces proporciona sustancias nutritivas como el nitrógeno, lo que constituye una fuente importante para la presencia del hongo en la naturaleza^{2,3,5,25}.

La presencia de *C. neoformans* var. *neoformans* en palomares de áreas cercanas a los hospitales de la ciudad de Ica es de importancia epidemiológica debido a que esta levadura es un riesgo potencial para que se presente esta micosis en aquellas personas con depresión de su sistema inmune.

De acuerdo con nuestros hallazgos, se recomienda realizar muestreos durante todo el año en los palomares estudiados para que de este modo podamos conocer en que meses existe una mayor frecuencia de aislamientos; también recomendamos que las cepas tipificadas sean comparadas con aislamientos clínicos y sometidas a estudios moleculares para determinar el origen de la infección. Asimismo, para disminuir la presencia del hongo en zonas aledañas a los centros hospitalarios se debería realizar una limpieza periódica de las excretas por el riesgo que implica su presencia.

AGRADECIMIENTOS

A la Sra. Alida Navarro Mariñas del Laboratorio de Micología del Instituto Nacional de Salud, por su colaboración en la preparación del material de laboratorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arenas R. Micología médica ilustrada. México: Editorial Interamericana-McGraw-Hill; 1993.
2. Ordóñez N, Castañeda E. La criptococosis y su agente etiológico. *Medicas UIS* 1992; 6(3): 207-15.
3. Hajjeh R, Brandt M, Pinner R. Emergence of cryptococcal disease: epidemiologic perspectives 100 years after its discovery. *Epidemiol Rev* 1995; 17(2): 303-20.
4. Argüero LB, Garza GD, Torres ZM. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* de *Eucalyptus tereticornis*. *Rev Iberoam Micol* 1996; 13(1): 27-28.
5. Colom MF, Alberdi M, Meseguer I, Torres J. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en muestras de medio ambiente de Alicante. *Rev Iberoam Micol* 1997; 14(1): 63-64.
6. Fernández C, Martínez G, Llinait T, Purera M, Gonzales M. Identificación de *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* en aislamientos clínicos cubanos. *Rev Cub Med Trop* 1998; 50(2): 167-69.
7. Sorrell T, Ellis D. Ecology of *Cryptococcus neoformans*. *Rev Iber Micol* 1997; 14(1): 42-43.
8. Franzot SP, Salkin IF, Casadevall A. *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*: separate varietal status for *Cryptococcus neoformans* serotype A isolates. *J Clin Microbiol* 1999; 37(3): 838-40.
9. Quicaño L, Romero S, Zurita S, Casquero J. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en heces, suelo y aire de viviendas con palomas domésticas «*Columbia livia*» – Ayacucho. En: Libro de Resúmenes del III Congreso Latinoamericano de Micología. Venezuela: Sociedad Latinoamericana de Micología; 1999. p. 101.
10. Canelo C. Determinación de las variedades *neoformans* y *gattii* en cepas de *Cryptococcus neoformans* de origen clínico conservadas en el INS. [Tesis de bachiller]. Lima: Facultad de Biología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1999.
11. Canelo C, Casquero J. Fenoloxidasas modificadas: clave para identificar cepas de *Cryptococcus neoformans*. *Rev Med Exp* 2000; 17(1-2): 5-8.
12. Casquero J, Guevara M, Urcia F. Guía de prácticas del curso «Enfermedades micóticas emergentes y reemergentes». Lima: Instituto Nacional de Salud; 2000.
13. Hopkins JM, Land GA. Rapid method for determining nitrate utilization by yeasts. *J Clin Microbiol* 1977; 5(4): 497-500.
14. Koneman E, Roberts G. Micología práctica de laboratorio. 3ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1992.
15. Zerpa R, Huicho L, Guillén A. Modified India in preparation for *Cryptococcus neoformans* in cerebrospinal fluid specimens. *J Clin Microbiol* 1996; 34(9): 2290-91.
16. Zurita S, Casquero J. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de micosis oportunista y profunda. Lima: Instituto Nacional de Salud; 1994. Serie de Normas Técnicas N° 23.
17. Kyung J, Kwon - Chung, Polacheck I, Bennett J. Improved diagnostic medium for *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotypes B and C). *J Clin Microbiol* 1982; 15(3): 535-37.
18. Bernardo F, Martins M, Lúcia M. Fontes urbanas de *Cryptococcus spp.* - Lisboa. *Rev Port Ciênc Vet* 2001; 96(539): 157-60.
19. Caicedo L, Alvarez M, Llanos C, Molina D. *Cryptococcus neoformans* en excreta de palomas del perímetro urbano de Cali. *Colombia Med* 1996; 27 (3-4): 106-9.
20. Cermeño J, Hernández I, Cabello A, Caraballo Y, Orellán A, Padrón J et al. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* e *Histoplasma capsulatum* en excreta de palomas, en Ciudad de Bolívar, Venezuela. En: Libro de Resúmenes del IV Congreso Latinoamericano de Micología. Veracruz: Sociedad Latinoamericana de Micología; 2002. p. 435.
21. Quintero E, Castañeda E, Ruiz A. Distribución ambiental de *Cryptococcus neoformans* en el departamento de Cundinamarca – Colombia. *Rev Iberoam Micol* 2005; 22(2): 93-98.
22. Maldona B. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* de excretas de palomas en un Hospital Público. En: Libro de Resúmenes del IV Congreso Latinoamericano de Micología. Veracruz: Sociedad Latinoamericana de Micología; 2002. p. 449.
23. Rivas F, De Martín MC, Rojas V. Primer aislamiento de *Cryptococcus neoformans* a partir de suelos en Panamá. *Rev Med Panama* 1999; 24(1): 4-6.
24. Sammann S, Diaz L, Salamanca F, Prado V. *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuillemin en aves confinadas y recintos hospitalarios de la región Metropolitana (Chile). *Boletín Mycol* 1994; 9 (1-2): 65-72.
25. Cabral L. Wood, animals and human beings as reservoirs for human *Cryptococcus neoformans* infection. *Rev Iberoam Micol* 1999; 16(2): 77-81.

Correspondencia: María Curo Ignacio.

Dirección: San Joaquín nuevo. Av. Los Angeles N° 166. Ica. Correo electrónico: estrellacuro188@hotmail.com