

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA**

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**AISLAMIENTO DE *CRYPTOCOCCUS SPP*, Y OTROS HONGOS A PARTIR
DE HECES DE PALOMAS (*COLUMBA LIVIA*) EN EL MUNICIPIO DE
TORREÓN, COAH.**

TESIS:

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA

OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

POR:

PERLA VILLEGAS ROSAS

ASESOR PRINCIPAL

MC. JOSÉ LUIS CORONA MEDINA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

JUNIO, 2016

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA**

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**AISLAMIENTO DE *CRYPTOCOCCUS SPP* Y OTROS HONGOS A PARTIR
DE HECES DE PALOMAS (*COLUMBA LIVIA*) EN EL MUNICIPIO DE
TORREÓN, COAH.**

TESIS:

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA

OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

POR:

PERLA VILLEGAS ROSAS

ASESOR PRINCIPAL

MC. JOSÉ LUIS CORONA MEDINA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

Junio, 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Aislamiento de *Cryptococcus* spp y otros hongos a partir de heces de palomas (*Columba livia*) en el municipio de Torreón Coah.

POR

PERLA VILLEGAS ROSAS

TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORÍA
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

ASESOR PRINCIPAL:



MC. JOSE LUIS CORONA MEDINA

ASESOR:


MC. MARGARITA YOLANDA MENDOZA RAMOS

ASESOR:


MC. OLIVIA GARCIA MORALES


MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ



COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO DE 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Aislamiento de *Cryptococcus spp* y otros hongos a partir de heces de palomas (*Columba livia*) en el municipio de Torreón Coah.

POR

PERLA VILLEGAS ROSAS

TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

PRESIDENTE:


MC. JOSÉ LUIS CORONA MEDINA

VOCAL:


MC. MARGARITA YOLANDA MENDOZA RAMOS

VOCAL:



MC. OLIVIA GARCIA MORALES

VOCAL SUPLENTE:


M.V.Z CARLOS RAMIREZ FERNANDEZ


MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL


Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO DE 2016

AGRADECIMIENTOS

Agradezco el apoyo de mis amigos y familia y sobre todo a mis profesores que a través de los años que estude en esta universidad me ayudaron a ser mejor persona y a convertirme en una profesional.

A mis padres, por apoyarme en esta trayectoria y creer en mí darme todo el cariño y apoyo y por siempre darme ánimos para seguir con mis sueños.

A Mi hermano porque él ha sido mi más grande apoyo y agradezco que siempre haya creído en mí y que me apoyara en todas mis decisiones y me corrigiera en lo que estuviese mal, al igual que me impulsó a seguir adelante con mis sueños.

A mis amigos, gracias a cada uno de ellos por cada experiencia por ayudarme y enseñarme nuevas cosas por estar ahí y apoyarme cuando más lo necesitaba y sobre todo por creer en mí.

A mis profesores a través de los días, meses y años que pase en esta universidad logre obtener gran información y nuevas enseñanzas de cada uno de ellos, cada uno de ellos me enseñaron a creer en mí en ver como es la vida en realidad y sobre todo como ser una profesional, al igual que me impulsaron a seguir adelante. Todos sus regaños, no fueron en vano, me ayudaron a madurar y aprender nuevas cosas, muchas gracias por todo.

DEDICATORIAS

Este trabajo se lo quiero dedicar a mis papas y a mis profesores por todo su apoyo y por ayudarme a salir adelante y a aprender cada día más, enseñarme valores y por creer en mí y para demostrarles que cada sacrificio que he hecho valió la pena. Sin el apoyo de cada uno de ellos no hubiese logrado llegar a mi meta y cumplir una de mis tantas metas.

RESUMEN

El presente trabajo surge como respuesta a la incógnita de conocer si las palomas tienen un papel de agente transmisor de enfermedades zoonóticas. Se han realizado trabajos de investigación en diversos lugares, con diferentes climas y vegetación que pudiera servir como medio de cultivo. Sin embargo, es un buen momento para iniciar este tipo de investigaciones en México en este caso en la Comarca Lagunera de Torreón Coahuila; en esta investigación se estudiaron 62 muestras obtenidas de material fecal de palomas de: Edificios, Iglesias, Hoteles, Parques y plazas, Museos y teatros, Restaurante, Comercios, Escuelas y Hospitales. Con la finalidad de encontrar cuales son los hongos más encontrados en las heces de palomas. Los hongos juegan un papel muy importante en la salud tanto animal como humana, ya que estos son causantes de enfermedades respiratorias. Después de haber colectado las muestras estas fueron llevadas a laboratorio para así ser sembradas en cajas Petri con agar PDA y así incubar o dejar a temperatura ambiente y ver el crecimiento que se tiene de cada muestra y así poder identificarlas por medio de laminillas y verlas a microscopio, para confirmar que tipo de hongo es. se realiza otra prueba que es la de microcultivo y con esta poder identificar mejor al hongo. Como resultado se obtuvo un gran número de *Aspergillus spp* y a pesar de que en otros trabajos como el de (Mendes *et al.*, 2014) se han encontrado *Cryptococcus* en heces de palomas, en este trabajo y experimento no se encontró, lo cual depende mucho del lugar, el clima y la ciudad en la cual son tomadas las muestras.

Palabras clave: *Cryptococcus spp*, *Aspergillus spp*, Hongos, Palomas

ÍNDICE GENERAL

i

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIAS	ii
RESUMEN	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
1. INTRODUCCION	1
1.1. Objetivos	4
1.2. Hipótesis	4
2. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1. Criptococosis	5
2.1.1. Manifestaciones Clínicas	7
2.1.2. Criptococosis en los animales	7
2.1.3. Criptococosis felina	8
2.1.4. Criptococosis canina	9
2.1.5. Epidemiología	10
2.1.6. Control	10
2.1.7. Etiología de <i>Cryptococcus neoformans</i>	11
2.1.8. Teleomorfos	12
2.1.9. Fuentes naturales y distribución geográfica	13
2.1.10. Ecología y ciclo de vida	14
2.2. Descripción en general de <i>Aspergillus spp.</i>	16
2.2.1. Características microscópicas.	18
2.2.2. Características de <i>Aspergillus fumigatus.</i>	19
2.2.3. Características de <i>Aspergillus Flavus</i>	19
2.2.4. Características de <i>Aspergillus Nidulans</i>	20

2.2.5. Características macro y microscópicas de <i>Aspergillus Níger</i>	20
2.8 Epidemiología	20
2.2.6. Formas clínicas de Aspergilosis broncopulmonar alérgica	21
2.2.7. Aspergiloma	21
2.2.8. Aspergilosis invasiva	22
2.2.9. Aspergilosis del SNC	22
2.2.10. Patogenia	22
2.2.11. Diagnóstico	23
2.2.12. Tratamiento	24
3. MATERIALES Y MÉTODOS	24
3.1. Localización y área de estudio	24
3.1.1. Duración y Recolección de muestras	25
3.1.2. Equipo Utilizado Para la Toma de Muestras Personal	25
3.1.3. Material Utilizado Para la Obtención de Muestras	25
3.2. Lugar de Recolección y Distribución	26
3.1.7. Crecimiento	33
4. RESULTADOS	35
5. DISCUSIÓN	37
6. CONCLUSIONES	38

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>spp.</i>	12
Cuadro 2. Clasificación taxonómica de <i>Aspergillus spp.</i>	16
Cuadro 3.- Lugares muestreados y condiciones de la muestra.	27- 28
Cuadro 4. Resultados de la búsqueda en la siembra de heces de palomas	35
Cuadro 5. Hongos encontrados en las muestras de heces de palomas.	35
Cuadro 6. Distribución de los resultados positivos en los diferentes lugares públicos en la ciudad de Torreón, Coahuila.	35
Cuadro 7. Identificación por especie de <i>Aspergillus spp.</i>	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la levadura <i>Cryptococcus neoformans</i> , donde se puede apreciar la cápsula y todos sus componentes	7
Figura 2: Hinchazón nasal debido a una criptocosis en una gata doméstica de pelo largo, de 6 años de edad.	9
Figura 3. Colonia de <i>Aspergillus spp.</i>	18
Figura 4. Estructura microscópica de <i>Aspergillus spp</i>	19
Figura 5. Localización de la Comarca Lagunera	25
Figura 6- Distribución de los sitios muestreados	26
Figura 7.- Muestras, identificadas de acuerdo a su localización.	28
Figura 8. Muestras selladas de las excretas recolectadas, identificadas de acuerdo a su localización.	29
Figura 9. Antibióticos Cloranfenicol y Estreptomicina diluidos con excretas de palomas y solución salina fisiológica.	29
Figura 10. Preparación de los medios de cultivos (Dextrosa papa, Caldo Urea y HCL) y vaciado a las cajas Petri.	30
Figura 11: Pesado de muestras de heces de palomas	31
Figura 12.- Siembra de heces de palomas	31
Figura 13. : Cultivos incubados a temperatura ambiente.	32
Figura 14. Laminillas e Observación a microscopio a 40x	32
Figura 15: Crecimiento en algunas de las muestras	33
Figura 16. Microcultivo de resiembra de muestras	33
Figura 17. Porcentaje en base a las 39 muestras positivas a <i>aspergillus spp.</i>	36

1. INTRODUCCION

La paloma *Columba Livia*, también conocida como “urbana”, “de ciudad” o “de calle”, es descendiente de la forma domesticada de la paloma de la roca de vida libre o paloma bravía y su domesticación se caracterizó por un alto éxito anual de reproducción y mansedumbre. Esta capacidad ha llevado a que en sus actividades se produzca gran cantidad de materia fecal con la consecuente acumulación en las plazas, los monumentos y los edificios (Tarsitano *et al.*, 2010). Lo que conduce a su deterioro progresivo, dada la naturaleza corrosiva de los contenidos ácidos en su digestión. Se calcula que la paloma puede producir alrededor de 12 kg de heces al año (Magnino *et al.*, 2009).

Su alta densidad poblacional representa graves amenazas para la salud pública especialmente en lo relacionado con su papel como reservorio y transmisor de enfermedades zoonóticas (Ramírez *et al.*, 2008). Los científicos que estudian los hongos son los micólogos (del griego mykos, seta; y logos, estudio), y las enfermedades producidas por ellos tanto en humanos como en animales se conocen como micosis (Brooks, 2011). Los hongos del latín Fungí son organismos eucariotas, heterótrofos, con nutrición por absorción, unicelulares o pluricelulares, no forman tejidos, típicamente inmóviles, aerobios o aerobios facultativos y cada célula puede generar por sí sola un nuevo organismo de la misma especie. Existen más de 50.000 especies, por fortuna solo unos pocos cientos de especies participan en las enfermedades humanas y 90% de esas micosis pueden atribuirse a unas cuantas docenas de hongos. Se encuentran en la naturaleza y son imprescindibles para reciclar y descomponer la materia orgánica. Crecen mejor en hábitat oscuros y húmedos, pero se encuentran allí

donde tengan disponible materia orgánica (Brooks *et al.*, 2005). El cuerpo o estructura vegetativa de un hongo se denomina talo; su complejidad es variable, y va desde las levaduras unicelulares hasta los mohos pluricelulares. La célula del hongo está cubierta por una pared de quitina que es un polisacárido resistente pero flexible, que contiene nitrógeno y que consta de residuos de N- acetil glucosamina (Landinez *et al.*, 1996). Una levadura es un hongo unicelular con un único núcleo que se reproduce de forma asexual por gemación, división transversal o por reproducción sexual a través de la formación de esporas. Cada yema que se separa puede crecer y convertirse en una nueva levadura y algunas se agrupan para formar colonias. En general, las levaduras tienen un tamaño mayor que las bacterias, varían mucho de tamaño entre sí y suelen ser esféricas u ovoides, no tienen flagelos pero poseen la mayoría de los restantes organelos de los eucariotas (Brooks *et al.*, 2005). La reproducción sexual de los hongos implica la unión de núcleos compatibles; ésta reproducción genera esporas como por ejemplo: en los zigomicetos el cigoto evoluciona a una zigospora; en los ascomicetos, a una ascospora; y en los basidiomicetos, a una basidiospora. El basidiomiceto *Cryptococcus neoformans* es un patógeno importante que produce la enfermedad llamada criptococosis, una infección sistémica que afecta principalmente a pulmones y al sistema nervioso central (Rosario *et al.*, 2008). Por otro lado, *Cryptococcus neoformans* ha sido asociado históricamente con excrementos de paloma y otras aves, siendo aislado de estas deyecciones al igual que del suelo contaminado con las mismas. Se ha descrito que *Cryptococcus* utiliza la creatinina presente en estas deyecciones en sus procesos biológicos. Las palomas con *Cryptococcus neoformans* en sus tractos intestinales

pueden excretar la levadura durante varios meses sin desarrollar signos clínicos de la enfermedad (WALTER y YEE, 1968). Esta variedad es la más comúnmente aislada de humanos y ha sido señalada como un patógeno secundario en pacientes inmunocomprometidos (Hashemi *et al.*, 2014). *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* se ha aislado de algunas especies de árboles del género *Eucalyptus*, principalmente en las regiones tropicales y subtropicales de Australia y Sudamérica. Existen escasas publicaciones australianas sobre este tema, pero hay información de que en Ayacucho, entre 1996-1997 se realizaron aislamientos ambientales de esta levadura (Littman y Borok, 1968). La criptococosis es un proceso fúngico causado por levaduras ovals de 4-10 μm de diámetro, que se encuentran rodeadas por una gruesa cápsula gelatinosa (Brooks, 2011). Una de las zoonosis de importancia es la Aspergilosis que pueden ser transmitidas a través del aire o de las heces. La paloma ha sido declarada plaga (González-Acuña *et al.*, 2007). Se ha demostrado que el excremento de paloma es un excelente sustrato para el crecimiento de microorganismos como hongos y bacterias, en particular, para el crecimiento del micelio de algunos hongos (por ejemplo, *Aspergillus spp* y *criptococcus neoformans*). El género *Aspergillus* fue descrito por primera vez en 1729 por el biólogo Italiano P.A. Micheli. (Bouza *et al.*, 2005) Es de distribución mundial, se ha presentado en casi todos los animales domésticos y pájaros así como muchas especies salvajes (Aşkar *et al.*, 2011). El término Aspergilosis incluye enfermedades de diferente patogenia, como son la Aspergilosis broncopulmonar alérgica, las formas pulmonares crónicas no invasivas, las formas invasivas de la vía aérea, las formas cutáneas y las formas extra pulmonares y/o diseminadas. Todas ellas producidas por diferentes

especies de *Aspergillus*, mayoritariamente *A. fumigatus*, *A. flavus* y *A. terreus* (Alcazar-Fuoli *et al.*, 2008).

1.1. Objetivos

Objetivo General:

Aislar e identificar *Cryptococcus spp*, a partir de heces en poblaciones de palomas (*Columba livia*) recuperadas en diferentes sitios del municipio de Torreón, Coah.

Objetivo Específicos:

- a) Realizar estudios microbiológicos para el cultivo, aislamiento e identificación de *Cryptococcus spp*, y otros hongos, a partir de heces de palomas (*Columba livia*) en el municipio de Torreón, Coah.
- b) Determinar la presencia de hongos de importancia médica aislados a partir de heces de palomas (*Columba livia*).

1.2. Hipótesis

Las heces de palomas (*Columba livia*) del municipio de Torreón, Coah., contienen esporas de *Cryptococcus spp*, y otros hongos que pueden ser causantes de enfermedades en el hombre y los animales.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Criptococosis

La criptococosis también conocida como: torulosis, blastomicosis europea, enfermedad de Busse-Buschke es una zoonosis que corresponde a una micosis sistémica de curso subagudo o crónico que puede afectar el tracto respiratorio, la piel o al sistema nervioso central, tanto de animales como de humanos no se encuentra entre las consideradas “Enfermedades de Declaración Obligatoria” en ningún país del mundo por lo tanto existe poca información acerca de su incidencia en grupos de riesgo como son los enfermos de SIDA, pacientes con cáncer o individuos receptores de trasplantes (Littman y Borok, 1968). El término criptococosis se usa para referirse a una infección causada por un hongo encapsulado denominado *Cryptococcus neoformans*. Esta micosis presenta desde el punto de vista epidemiológico una fuente de infección exógena, una vía de transmisión respiratoria, un foco primario pulmonar y una diseminación hematológica con tropismo hacia el sistema nervioso central (Zarrin *et al.*, 2010). *Cryptococcus neoformans* es una levadura saprofítica que presenta una baja virulencia en individuos inmunocompetentes, pero que puede comprometer seriamente la vida de los pacientes inmunodeprimidos (De la Parte Pérez *et al.*, 2005), se desarrolla en heces de aves y en el suelo, tiene forma globular a ovoide, es encapsulado, gram positivo y de unas 3 a 7 micras de diámetro, se reproduce de forma sexual y es un basidiomiceto (Abulreesh *et al.*, 2015). Desde el punto de vista etiológico se describen dos variedades de *Cryptococcus neoformans*: *Cryptococcus neoformans* variedad *neoformans* y *Cryptococcus neoformans*

variedad *gattii*. Cada una de estas variedades presenta dos serotipos, en la variedad *neoformans* los serotipos A y D, mientras que en la variedad *gattii*, los serotipos B y C. Se han reportado casos de infección humana producida por otras especies de *Cryptococcus*, como *Cryptococcus albidus* y *Cryptococcus laurentii* pero estos aislamientos deben ser confirmados (Ascioglu *et al.*, 2002). La fuente más importante en la naturaleza de *Cryptococcus neoformans* variedad *neoformans* son los nidos de palomas viejos secos y llenos de deyecciones y los suelos contaminados con este material. Su hábitat natural ha sido identificado en el *Eucalyptus camaldulensis*, conocido como el árbol de goma rojo de Australia (Zarrin *et al.*, 2010).

El hombre adquiere infección por inhalación de *Cryptococcus neoformans*. Las partículas infecciosas son células pequeñas no capsuladas diseminadas en el aire, provenientes de las deyecciones secas de pájaros, o basidiosporas provenientes de la forma perfecta de este hongo, *Filobasidiella neoformans*. La protección del hospedero contra *Cryptococcus neoformans* se basa en un eficiente funcionamiento del sistema inmunológico de células T (Staib y Blisse, 1982). Las cepas de *Cryptococcus neoformans* presentan una cápsula polisacárida (Fig 1), ésta cápsula, puede ser muy voluminosa con un diámetro que varía de tamaño de 1-30 micras. En cambio, el diámetro de la cápsula se reduce cuando se realizan cultivos sucesivos e incluso se puede llegar a perder (Brooks *et al.*, 1999).

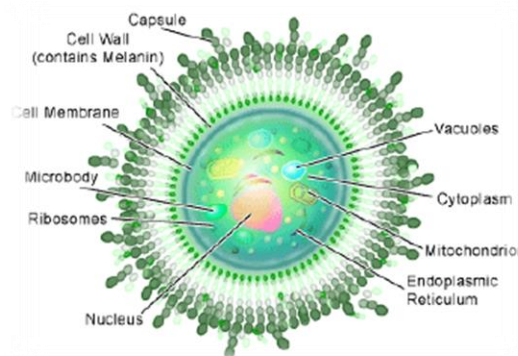


Figura 1: Esquema de la levadura *Cryptococcus neoformans*, donde se puede apreciar la cápsula y todos sus componentes (Reginaldo, 2009).

2.1.1. Manifestaciones Clínicas

Las infecciones pulmonares leves o subclínicas son las formas más comunes de criptococosis, sin embargo, éstas son menos diagnosticadas que las meningitis porque frecuentemente pasan desapercibidas, ya que muchas veces son asintomáticas. El principal órgano de choque es el sistema nervioso central, pero otros órganos también pueden ser afectados (De la Parte Pérez *et al.*, 2005).

2.1.2. Criptococosis en los animales

La enfermedad se ha reconocido en bovinos, equinos, ovinos, caprinos, perros, gatos, así como en varias especies de animales silvestres (en zoológicos), pero no en aves (Rosario *et al.*, 2008). En bovinos solamente se han descritos casos de mastitis, pudiendo afectar a muchas vacas del rebaño. Las vacas afectadas presentan anorexia, disminución de la producción de leche, tumefacción y endurecimiento de los cuartos afectados e hipertrofia de los ganglios linfáticos supramamarios. La leche se torna viscosa, mucoide y de color blanco grisáceo, o por el contrario puede ser un líquido acuoso con flóculos. En los caballos,

ovejas y cabras, la enfermedad afecta casi invariablemente al tracto respiratorio; los hongos proliferan en las cavidades nasales provocando su obstrucción (Hashemi *et al.*, 2014).

2.1.3. Criptococosis felina

La criptococosis es la micosis sistémica más frecuente en el gato, aunque su incidencia es baja. En un estudio sobre las micosis profundas en gatos en Estados Unidos, la criptococosis fue la micosis más frecuente, afectando al 0,044% de la población felina incluida en el estudio. Los gatos son especialmente susceptibles a la infección por *Cryptococcus neoformans* y en menor proporción por *Cryptococcus gattii*. En estudios realizados en Australia, en el 75% de los casos de criptococosis en perros y gatos se aisló *C. neoformans* como agente etiológico, mientras que en el 25% restante se aisló *C. gattii* (Zarrin *et al.*, 2010). No se ha descrito ninguna predisposición de edad, sexo o raza, aunque en algunos estudios apuntan que esta enfermedad es más frecuente en gatos machos de dos a tres años de edad y de raza siamesa. En los gatos los signos más frecuentes corresponden a las vías respiratorias y consisten en estornudos, secreción nasal crónica unilateral o bilateral mucopurulenta, serosa o hemorrágica, con lesiones que suelen focalizarse en la cavidad nasal (Fig. 2) (Hashemi *et al.*, 2014). Las lesiones cutáneas son igualmente comunes y se caracterizan por la presencia de pápulas y nódulos. Los signos neurológicos pueden incluir depresión, cambios de comportamiento, agresividad, movimientos en círculos y paresia. También pueden ocurrir anomalías oculares, como pupilas dilatadas sin capacidad de respuesta y ceguera por desprendimiento de retina de

tipo exudativo, corioretinitis granulomatosa, panofalmitis y neuritis óptica(Zarrin *et al.*, 2010).



Figura 2: Hinchazón nasal debido a una criptococosis en una gata doméstica de pelo largo, de 6 años de edad.

2.1.4. Criptococosis canina

La criptococosis canina suele afectar a perros de menos de cuatro años. No existe ninguna predisposición de sexo pero sí de raza, siendo más frecuente en el Dóberman, Pinscher, Pastor Alemán, Cocker Spaniel Americano, Gran Danés y Labrador. Se cree que el pastor alemán tiene predisposición genética que lo hace susceptible no sólo a la criptococosis, sino también a otras micosis sistémicas como la aspergilosis (Zarrin *et al.*, 2010). En los perros, la vía de infección también es la inhalatoria. Generalmente el 50% de los perros suele presentar afectación de las vías respiratorias altas, pero la rinosinusitis suele ser subclínica y, por lo tanto, la sintomatología respiratoria suele pasar desapercibida. La criptococosis se disemina rápidamente al sistema nervioso central, por lo que la sintomatología nerviosa es frecuente (50-80% de perros). Los síntomas neurológicos son multifocales, causados por una meningitis y una

progresiva meningoencefalomielitis, e incluyen entre otros, inclinación de la cabeza, nistagmos, parálisis facial, paresia, paraplejia o tetraplejia y ataxia. También suelen aparecer alteraciones oculares (20-40% de perros) que consisten en neuritis óptica, corioretinitis exudativa granulomatosa y hemorragia de retina asociada a pupilas dilatadas y ceguera. Además, pueden aparecer también lesiones cutáneas en el 10-20% de los perros, y al igual que en los gatos, es un marcador de diseminación hematogena. Algunos perros pueden presentar fiebre (Meissner *et al.*, 2015).

2.1.5 Epidemiología

Las especies de criptococos se hallan habitualmente formando parte de la micota ambiental. Se los ha aislado de numerosas fuentes y especialmente se los encuentra en suelos que contienen materia fecal de aves, debido a su capacidad de utilizar como fuente de nitrógeno la creatinina contenida en este tipo de excrementos. Debemos destacar, que si bien no existe evidencia de transmisión directa entre animales y de los animales al hombre o viceversa, tanto el hombre como los animales se infectan de la misma fuente a través de la inhalación de aire contaminado. La puerta de entrada habitual la constituye la vía respiratoria. Se han citado también la vía percutánea y digestiva (Meissner *et al.*, 2015). El criptococo se halla en las secreciones y excreciones de animales enfermos (Mattsson *et al.*, 1999).

2.1.6. Control

No hay medidas específicas para la prevención de la criptocosis, pero es importante controlar las enfermedades subyacentes y reducir en lo posible los tratamientos prolongados con corticosteroides. El control de la población de

palomas quizás podría prevenir una parte de los casos. Debe evitarse la exposición del hombre a acumulaciones de excrementos de paloma, en especial en palomares y nidos de aves. La eliminación de excrementos de paloma debe ser precedida por la descontaminación química o por el humedecimiento con agua para evitar los aerosoles (Rosario *et al.*, 2008).

2.1.7. Etiología de *Cryptococcus neoformans*

El género *Cryptococcus* está integrado por levaduras caracterizadas por ser, en lo general, sensibles a la actidiona, redondas y ocasionalmente ovaladas, capsuladas, y con pocas excepciones, no formadoras de pseudomicelio. Existen alrededor de 20 especies conocidas, pertenecientes al género *Cryptococcus*; sin embargo, aunque han sido registrados casos raros provocados por *Cryptococcus albidus* y *Cryptococcus laurentii*, por lo general, el agente etiológico de todos los casos de criptococosis humana es *Cryptococcus neoformans*. Los serotipos se encuentran agrupados en 2 variedades: *Cryptococcus neoformans* variedad *neoformans* (serotipos A, D y AD) y *Cryptococcus neoformans* variedad *gattii* (serotipos B y C). *Cryptococcus neoformans* está envuelto por una cápsula mucopolisacarida, que interviene como factor de virulencia y determina también los diferentes serotipos. Se ha establecido que el polisacárido principal está constituido por glucuronoxilomanano (GXM), que es un complejo de ácido glucurónico, xilosa y manano (WALTER y YEE, 1968). Este antígeno determina los serotipos y se acumula en los fluidos corporales. La producción de anticuerpos monoclonales contra el GXM se traduce por una reacción específica, reafirmando el papel de este polisacárido en la especificidad serotípica. El GXM de todos los serotipos

contiene manosa, xilosa y ácido glucurónico. En base a las reacciones de aglutinación capsulares Evans separo 12 cepas de *Cryptococcus neoformans* en tres grupos antigénicos: A, B y C. El serotipo D no fué descubierto hasta unos veinte años más tarde por Vogel (1966) y Wilson (1968). Este último autor en estudios de 106 cepas de *Cryptococcus neoformans* encontró un 70% del serotipo A, 10.4% del serotipo B, 6.6% del serotipo C y 4.7% del serotipo D. Un 3.8% de las cepas aglutinaban para el serotipo A y D a la vez. Un pequeño porcentaje, 4.7% no reaccionaba frente a ningún antisuero (Staib y Blisse, 1982).

2.1.8. Teleomorfos

El teleomorfo, estado sexual del hongo, está caracterizado por la producción de *basidiosporas* (propágulos sexuales). *Filobasidiella neoformans* corresponde al teleomorfo de la variedad *neoformans* y *F. bacillispora*, lo es de *C. neoformans* variedad *gattii* como se muestra en el cuadro 1. El género *Filobasidiella* es un miembro de los *basidiomicetos*, con dos tipos sexuales: caracterizado por tener el micelio hialino, que consiste en hifas dicarióticas con conexiones en pinza y un basidio alargado, portando *basidiosporas* sésiles y en cadena y/o gemación basípeta (Klich y Pitt, 1988).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Cryptococcus neoformans* var. *spp.*

Clasificación taxonómica	Fase anamorfa	Fase teleomorfa
Phylum	<i>Deuteromycetes</i>	<i>Basidiomycota</i>
Orden	<i>Cryptococcales</i>	<i>Filobasidiales</i>
Familia	<i>Cryptococcaceae</i>	<i>Filobasidiaceae</i>
Género	<i>Cryptococcus</i>	<i>Filobasidiella</i>
Especie	<i>C. neoformans</i>	<i>C. neoformans</i>
Variedad	<i>Neoformans</i> o <i>gattii</i>	<i>Neoformans</i> o <i>bacillispora</i>

La diferencia más notable entre *Filobasidiella neoformans* y *Filobasidiella bacillispora*, está en el tamaño y forma de las basidiosporas. *F. neoformans* tiene basidiosporas ligeramente rugosas, de 1.8 a 2.5 µm de diámetro y con forma de poco globosas a elípticas; mientras que *F. bacillispora* tiene basidiosporas lisas, angostas, de 1 a 1.5 x 3 a 8 µm, en forma de bastón con o sin curvatura. Hasta el momento, la forma sexual solo se ha obtenido *in vitro*, aunque existen reportes de que, algunas formas “basidiales” han sido observadas a partir de material vegetal de árboles de eucalipto (Brooks *et al.*, 1999).

2.1.9. Fuentes naturales y distribución geográfica

C. neoformans variedad *neoformans* (serotipos A y D) tiene una amplia distribución mundial. Ha sido aislado a partir de varias fuentes naturales (tubérculos vegetales, frutas, jugos de frutas, madera, productos lácteos y suelo), pero es notoria su asociación con desechos aviarios (pericos, loros, canarios), especialmente con excrementos de paloma. Por otro lado, con base en los aislamientos ambientales de *C. neoformans* variedad *gattii* (serotipo B), se ha establecido que esta variedad tiene una asociación ecológica específica con las especies de árboles de *Eucalyptus camaldulensis* y *E. tereticornis*. Se cree que la variedad *gattii*, ha sido exportada de Australia a varios países del mundo, por medio de semillas infectadas de *E. camaldulensis* conteniendo micelio dicariótico en latencia, puesto que la distribución geográfica del árbol coincide con la infección causada por dicha variedad. La variedad *gattii* ha sido aislada a partir de otras especies de eucaliptos, tales como *E. rudis* y *E. gomphocephala*, aunque también se ha asociado a excremento de koalas, pero esto se explica debido a que estos mamíferos se alimentan de retoños de *E. camaldulensis*. La

asociación entre *C. neoformans* variedad *gattii* y el koala paraleliza con la bien conocida asociación entre *C. neoformans* variedad *neoformans* las palomas u otras aves domésticas, sin embargo, la diferencia es que el koala está geográficamente restringido, ocurre en número bajo y los excrementos no se acumulan debido a que se depositan en hábitats expuestos a la intemperie (Brooks *et al.*, 1999), mientras que, las palomas tienen una amplia distribución mundial, ocurren en número alto, especialmente en áreas urbanas, y sus hábitos permiten grandes acumulaciones de heces infectadas en hábitats cubiertos (González-Acuña *et al.*, 2007).

2.1.10. Ecología y ciclo de vida

Se ha propuesto que *C. neoformans* puede ser un hongo semejante a un tizón o un hongo levaduriforme endo o epífita, el cual desarrolla una asociación biotrófica específica con una planta hospedera, las basidiosporas aéreas están presentes en el ambiente por períodos cortos de tiempo y son propágulos infecciosos para el humano y otros animales. Después de su diseminación, las basidiosporas pueden sintetizar material capsular y posteriormente transformarse en levaduras capsuladas; los criptococos en el suelo o los detritos vegetales expuestos a la intemperie, pueden permanecer viables por varios años. Los animales y aves que tienen una asociación con la planta hospedera pueden pasar los criptococos a través de su intestino y depositar levaduras capsuladas en sus heces; estos pueden acumularse en hábitats protegidos (cobertizos), los cuales podrían actuar como fuentes importantes para la dispersión de levaduras disecadas, las que también representan propágulos infecciosos (Zarrin *et al.*, 2010). En el caso de la variedad *gattii*, se postula que las teleutosporas o micelio dicariótico ‘hiberna’

en los ovarios o anteridios de retoños desarrollados de *E. camaldulensis*. Con la floración de la planta hospedera, las estructuras germinan para producir basidiosporas, las cuales son liberadas en el ambiente. Las basidiosporas que quedan sobre el tejido meristemático de hospederos jóvenes, inician la formación del micelio dicariótico por conjugación de esporas compatibles, lo cual conduce a la infección del tejido. Las basidiosporas que no permanecen sobre tejidos hospederos susceptibles, sintetizan material capsular y pueden posteriormente transformarse en levaduras capsuladas. Es bien conocido que los criptococos son rápidamente eliminados del ambiente y de los detritos infectados por la acción de la intemperie, especialmente por los rayos solares y microorganismos tales como bacterias y amibas, pero los criptococos acumulados en cobertizos pueden permanecer viables durante largos periodos de tiempo. En concordancia, el hábitat natural de la variedad *neoformans* es también una planta. Se cree que el hábitat natural de *C. neoformans* variedad *neoformans* es más semejante a hierbas o cereales comunes, con los cuales las aves, especialmente las palomas, se alimentan (Pedroso *et al.*, 2009). Estudios posteriores acerca de la interacción hospedero – parásito están en progreso para determinar donde ocurre la formación de los elementos hifales dicarióticos y basidios del hongo en los árboles hospederos. Finalmente, es necesario mencionar que tanto las basidiosporas como las levaduras, son células haploides, pero las levaduras son las únicas unidades vegetativas que crecen rápidamente sobre medios artificiales (Brooks, 2011).

2.2. Descripción en general de *Aspergillus spp.*

El género *Aspergillus* fue descrito por primera vez en 1729 por el biólogo Italiano Pier Antonio Micheli, quien comprobó que la cabeza conidial del hongo se parecía a un “aspergillum” instrumento utilizado para dispersar agua bendita (Bouza *et al.*, 2005). *Aspergillus spp* es un hongo filamentoso, saprófito, ampliamente distribuido en el medio ambiente con especial tropismo por el medio húmedo (Bulpa *et al.*, 2007). El género *Aspergillus* se incluye entre los *Deuteromycetes*, clase *Hyphomycetes* (Landinez Lagunero y Alberte Castiñeiras, 1998). Aunque comprende cerca de 150 especies, sólo algunas de ellas se han descrito como patógenos: *Aspergillus fumigatus*, quién produce aproximadamente el 90% de las infecciones, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus Níger*, *Aspergillus nidulans* y *Aspergillus terreus* (Brooks, 2011).

Cuadro 2. Clasificación taxonómica de *Aspergillus spp* (Abarca, 2000).

Clasificación Taxonómica

Reino	<i>Fungi</i>
Phylum	<i>Ascomycota</i>
Clase	<i>Euascomycetes</i>
Orden	<i>Eurotiales</i>
Familia	<i>Trichocomaceae</i>
Genero	<i>Aspergillus</i>

Aspergillus tiene una alta capacidad de esporulación y como consecuencia, la generación de concentraciones altas de esporas en el aire. El género *Aspergillus* posee conidiosporos que nacen en cadenas y que se originan en células especializadas llamadas *sterigmata* o *fiálides*, los conidióforos poseen una célula basal o célula pie bien diferenciadas; el órgano de reproducción asexual se

asemeja a un hisopo o aspersorio de donde deriva la palabra *Aspergillus* (Brooks, 2011). En el género *Aspergillus*, los esterigmas pueden presentarse en una o en dos filas, los esterigmas primarios y secundarios respectivamente; cuando hay dos filas, los esterigmas primarios sirven de sostén a los secundarios y a partir de éstos se originan los conidiosporos; en cambio sí hay una sola fila de esterigmas de ella se originan los conidiosporos. Cada esterigma no es más que una célula con un núcleo que se divide en dos; el núcleo que queda hacia la parte externa se rodea de protoplasma y membrana transformándose en conidiosporo. El núcleo que queda en la parte basal del esterigma vuelve a dividirse para formar otro esporo y así sucesivamente mientras el medio sea favorable; por lo tanto las conidias más viejas y maduras de la cadena son las más externas o sea las más alejadas del esterigma que les dio origen. Al germinar un conidiosporo de *Aspergillus* en un medio favorable produce un micelio vegetativo del cual nacen los conidióforos que terminan en una vesícula aspergilar, de ella se originan una o varias filas de esterigmas y a partir de éstos se forman los conidiosporos (esporos asexuados externos) y que al caer de nuevo al medio reinician el ciclo asexuado. Las colonias son planas, granulares, suaves, a menudo con ranuras radiales. La superficie de Colonia es de color amarillo al principio, pero se vuelve verde amarillento oscuro con el tiempo (Figura 3)(Montiel *et al.*, 2003). El crecimiento micelial es visible dentro de 24 horas a 37°C y las características de los conidióforos son producidas después de dos días.

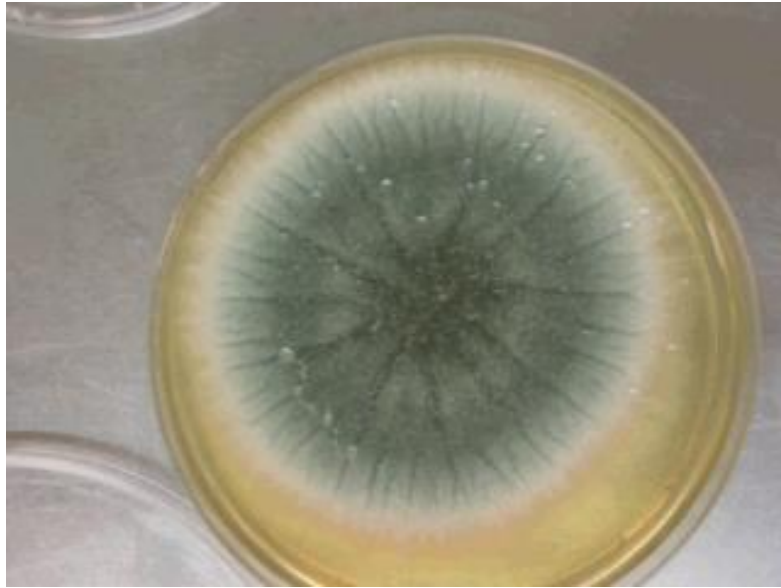


Figura 3.- Colonia de *Aspergillus spp.*

2.2.1. Características microscópicas.

Los conidióforos son hialinos, finamente rugosos. Las vesículas son globosas de 26-38 μm . Como se observa en la (Figura 4) Sus fiálides son 4,5-6.163.1- 4,5 μm . Los conidios son globosos variables de diámetro, 3.9 a 9.9 μm (Montiel *et al.*, 2003).

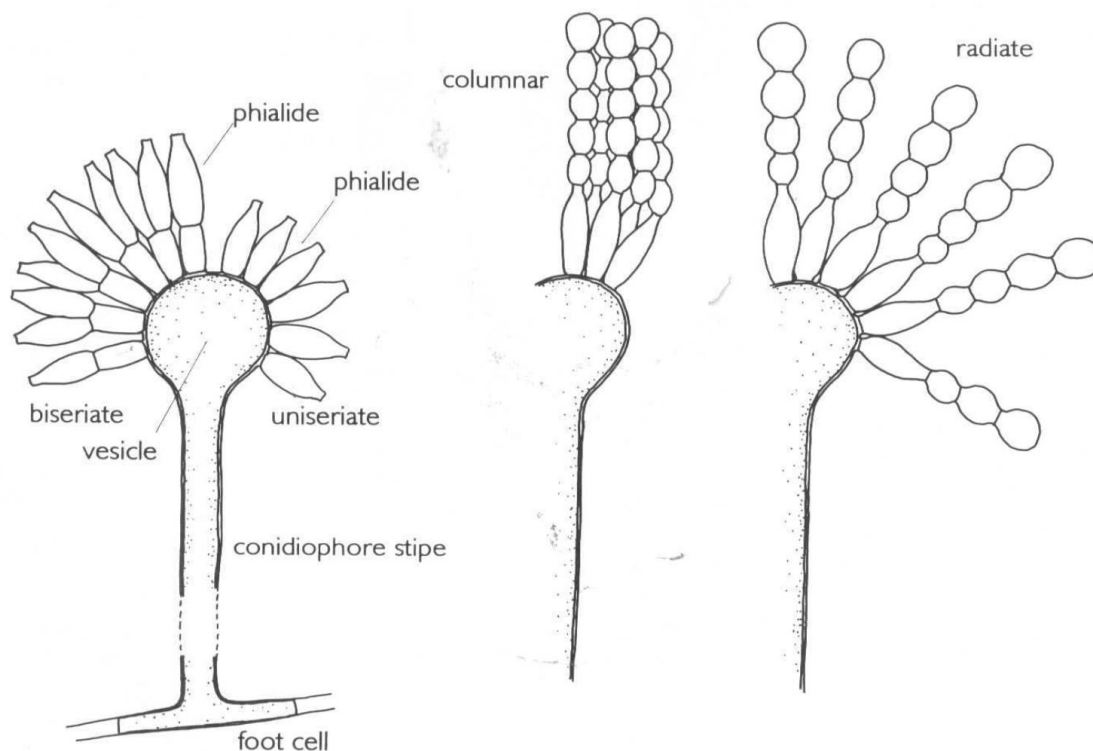


Figura 4. Estructura microscópica de *Aspergillus* spp (de Hoog *et al.*, 2000).

2.2.2. Características de *Aspergillus fumigatus*.

Las colonias son de color gris a verde y de rápido crecimiento, algunas colonias pueden presentar un pigmento lavanda, su textura es (Klich y Pitt, 1988, Arendrup *et al.*, 2010). Las hifas son septadas y hialinas, los conidios son fuertemente columnares, los conidióforos son de paredes lisas de hasta 300 micras de largo y termina en una vesícula en forma de cúpula de 20-30 m de diámetro (Alcazar-Fuoli *et al.*, 2008).

2.2.3. Características de *Aspergillus Flavus*

Las colonias son de un color verde oliva a lima de rápido crecimiento. Su textura es algodonosa y algo granular (Hedayati *et al.*, 2007). Las hifas son septadas y hialinas. Los conidióforos son rugosos de hasta 800 micras de largo x 15-20 micras de ancho, sus vesículas son globosas de 20-45 micras (de Hoog *et al.*,

2000). Los conidios son suaves y globosos de 3-6 μ m de diámetro (Sutton *et al.*, 1998).

2.2.4. Características de *Aspergillus Nidulans*

También conocido como *Emericella nidulans* es una de las muchas especies de hongos filamentosos. Es la única especie en su género apta para formar esporos sexuales a través de la meiosis, *A. nidulans* es un hongo homotálico, capaz de autofertilizarse y formar cuerpo de fructificación en ausencia del compañero sexual (Nierman *et al.*, 2005). Las colonias son de color verde con amarillo a naranja, su crecimiento es lento a moderado en comparación a otras especies de *Aspergillus* (Guillot *et al.*, 1997). Las hifas son septadas y hialinas sus conidios son columnares, los conidióforos son de color marrón de 60-150 μ m de longitud, sus paredes son lisas. Las vesículas semiesféricas pequeñas de 8-12 μ m de diámetro. Los conidios son globosos y ásperos de 3-4 μ m (Mitchell *et al.*, 1987).

2.2.5. Características macro y microscópicas de *Aspergillus Níger*

Las colonias son inicialmente blancas convirtiéndose en negro rápidamente. Las hifas son septadas y hialinas. Los conidióforos son largos (400-300 μ m), lisos y hialinos, sus vesículas son globosas, métulas y fiálides cubren toda la vesícula. Los conidios son de color marrón a negro y miden 4.5 μ m de diámetro (Raper y Fennell, 1965).

2.8 Epidemiología

La conidia que obtiene acceso a los alvéolos pulmonares germina en hifas en crecimiento que resulta en infección pulmonar, así como la enfermedad invasiva. Varios factores bioquímicos y celulares producidos por el organismo de la

infección pueden ayudar a la germinación de conidios y la penetración de las hifas en las células de los alvéolos pulmonares (Yang, 2003). La patogénesis es una reacción compleja de hipersensibilidad, observada en algunos pacientes con asma o fibrosis quística. Se produce cuando el árbol bronquial es colonizado por *Aspergillus spp.* y conlleva episodios repetidos de obstrucción bronquial, inflamación e impacto mucoso, que pueden provocar bronquiectasias, fibrosis y compromiso respiratorio (Agarwal, 2009). La eliminación de conidias inhaladas tiene lugar por células epiteliales de la vía aérea y fundamentalmente por macrófagos alveolares (Balajee *et al.*, 2007). Éstos realizan el aclaramiento de las conidias y tras reconocer determinados antígenos fúngicos de la pared celular, secretan mediadores inflamatorios que favorecen el reclutamiento de neutrófilos y la activación de la inmunidad celular, determinante en la eliminación de hifas y en la constitución de la respuesta inmunológica (Del Palacio *et al.*, 2003).

2.2.6. Formas clínicas de Aspergilosis broncopulmonar alérgica

Conlleva episodios recurrentes de obstrucción bronquial en pacientes asmáticos, con fiebre, malestar, expectoración de moldes mucosos oscuros, eosinofilia y en ocasiones hemoptisis. Atelectasias por impacto mucoso y signos característicos de bronquiectasias. Los pacientes muestran signos de obstrucción de la vía aérea (Fortún *et al.*, 2012).

2.2.7. Aspergiloma

Aspergiloma simple es una pelota fúngica compuesta por hifas, fibrina, moco y detritus celulares que anidan o colonizan una cavidad pulmonar previa. La aspergilosis crónica cavitada (anteriormente denominado aspergiloma

complicado) afecta a pacientes inmunocompetentes que desarrollan una o más cavidades durante varios meses, habitualmente en lóbulos superiores y si progresan pueden llegar a desarrollar formas crónicas fibrosantes (Del Palacio *et al.*, 2003).

2.2.8. Aspergilosis invasiva

Las formas clínicas locales más frecuentes de Aspergilosis invasiva tienen lugar a nivel pulmonar y en los senos paranasales, aunque también pueden afectar al tracto gastrointestinal o a la piel, por inoculación directa. La aspergilosis pulmonar puede cursar con una sintomatología inespecífica: fiebre, dolor pleurítico y hemoptisis (Del Palacio *et al.*, 2003).

2.2.9. Aspergilosis del SNC

La clínica neurológica puede conllevar deterioro cognitivo, déficit focal o crisis comiciales (El-Hamamsy *et al.*, 2005). Infartos corticales o subcorticales con o sin hematomas asociados; o engrosamiento de mucosa sinusal con engrosamiento dural por extensión (Klich y Pitt, 1988)

2.2.10. Patogenia

Aspergillus es un ejemplo de lo que denominamos "patógeno oportunista", es decir, que suele afectar a pacientes con mecanismos de defensa comprometidos. Entre los factores de patogenicidad de este hongo se encuentran:

- El pequeño tamaño de sus conidias que permite que sean aspiradas y que pueda causar infección en el pulmón y en los senos paranasales.
- Su capacidad de crecer a 37°C, lo que le hace idóneo para afectar al humano. Su capacidad de adherencia a superficies epiteliales y

posiblemente endoteliales y su gran tendencia a invadir los vasos sanguíneos.

- La producción de un gran número de productos extracelulares tóxicos para las células de los mamíferos (elastasa, restrictocina, fumigatoxina, etc.

2.2.11. Diagnóstico

El diagnóstico de Aspergilosis invasora debe ser establecido mediante la combinación de datos histológicos (visualización de hifas compatibles con las de *Aspergillus*) y microbiológicos (visualización de hifas en el examen en fresco y aislamiento de *Aspergillus* en cultivo), dado que ninguno de ellos puede, por sí sólo asegurar el diagnóstico (Chowdhary *et al.*, 2011). Las tinciones histológicas más utilizadas son la tinción de metenammina de plata y la de hematoxilina-eosina, aunque esta última no es útil cuando los tejidos están necrosados. La visualización en histología debe ser confirmada con el aislamiento en cultivo. La centrifugación de la muestra y el examen en fresco del sedimento incrementa de forma importante la utilidad de este procedimiento (Del Palacio *et al.*, 2003). La visualización directa se realiza con KOH, con o sin componentes fluorescentes, como el blanco de calcoflúor. La ornamentación de los conidios cambia con la edad y en unas dos semanas las esporas están totalmente maduras. Para el aislamiento se usan medios selectivos (Rosa de Bengala, Rosa de Bengala-Diclorán) con inhibidores de la proliferación bacteriana y del desarrollo exuberante de algunos mohos. Las pruebas inmunológicas de detección de anticuerpos constituyen un método diagnóstico de gran utilidad en los aspergilomas, ya que aproximadamente el 90% de los pacientes poseen

anticuerpos detectables. La técnica más utilizada es la de inmunodifusión, aunque se han desarrollado otras con mayor sensibilidad, como el enzimoimmunoensayo (ELISA), radioimmunoensayo y métodos de inmunofluorescencia indirecta (Fortún *et al.*, 2012) .

2.2.12. Tratamiento

Aspergillus fumigatus produce más del 50% de los casos de AI y es habitualmente susceptible a anfotericina B, voriconazol, itraconazol, posaconazol y equinocandinas. *A. terreus* y *A. nidulans* son resistentes a anfotericina B (Fortún *et al.*, 2012, Alcazar-Fuoli *et al.*, 2008).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización y área de estudio

El presente estudio se realizó en los meses de Octubre 2013 a Septiembre 2014 en la Ciudad de Torreón Coahuila donde se recolectaron muestras de heces de palomas procesadas en el laboratorio de Microbiología de la Unidad de Diagnóstico de la universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. . Torreón cuenta con una superficie de 1 947.7 kilómetros cuadrados, equivalente al 1.29% de la superficie total del estado de Coahuila. Limita al oriente con la ciudad de Matamoros, y al sureste con el estado de Durango. Es semidesértica de clima extremo con escasas lluvias, con una temperatura máxima anual registrada es de 44°C y temperatura mínima anual de -8°C, con una precipitación anual promedio de 243 mm.

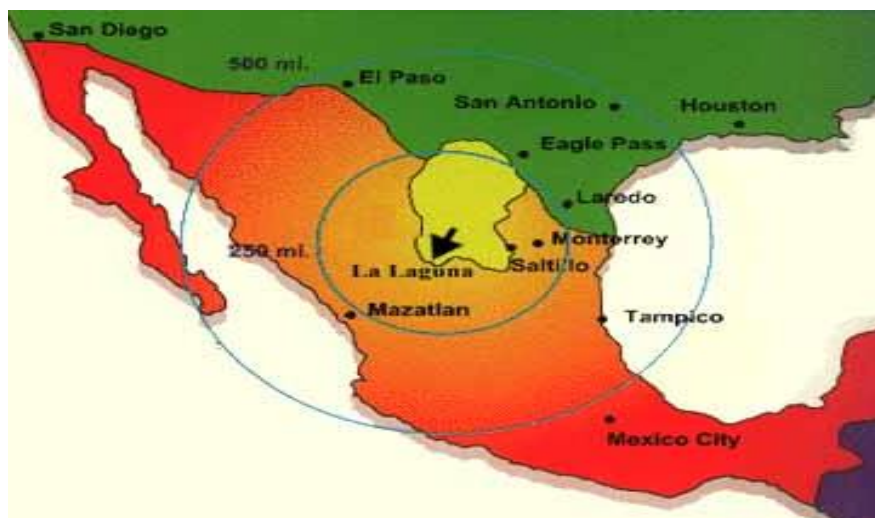


Figura 5. Localización de la Comarca Lagunera (INEGI, Carta Topográfica 150000, Matamoros G13D26, Coahuila y Durango, Edición 1999).

3.1.1. Duración y Recolección de muestras

El presente estudio se realizó en los meses de Octubre 2013 a Junio 2014 en las áreas antes mencionadas de la Ciudad de Torreón Coahuila recolectándose 100 muestras con 5 g de excretas de palomas (*Columba livia*), encontradas en los techos y aparatos de aire, en el suelo y las paredes,

3.1.2 Equipo Utilizado Para la Toma de Muestras Personal

- bata de laboratorio,
- cofia,
- cubre boca
- guantes de látex

3.1.3 Material Utilizado Para la Obtención de Muestras

- Abatelenguas de madera
- Frascos estériles (para evitar la contaminación cruzada de las muestras),
- Papel (para envolver las muestras y protegerlas);

- Cinta adhesiva
- Marcadores para identificarlas (número, lugar de recolección, fecha y ubicación).

Las muestras fueron transportadas y almacenadas en el laboratorio a temperatura ambiente; posteriormente fueron analizadas.

3.2. Lugar de Recolección y Distribución

Las heces fueron recolectadas en diversos sitios de la ciudad (Cuadro 3) (Figura 6) Con un total de 100 lugares muestreados de los cuales se recolectaron muestras de cada sitio obteniendo así un total de 100 muestras.



Figura 6- Distribución de los sitios muestreados.

Cuadro 3.- Lugares muestreados y condiciones de la muestra.

LOCALIZACION	SOL	SOMBRA	TECHO	SUELO
Oficinas Dif: Blvrd. Revolución	X			X
Torre de la antigua fundación: av. Pdte. Carranza y calle Idelfonso fuentes		X	X	
Edificio hidalgo: Treviño sur		X	X	
Siglo de torreón: Av. Matamoros	X			X
ICOCULT: av. Juárez y Calzada Colon	X			X
Palacio federal: Av. Juárez y Galeana	X			X
Banco de México: Av. Morelos	X			X
Procuraduría Gral.: Ignacio Zaragoza	X			X
Parroquia del sagrado corazón de Jesús: Artes gráficas oriente		X		X
Iglesia bautista: Calle Cepeda	X		X	
Iglesia del perpetuo socorro: Av. Juárez		X		X
La iglesia de Jesucristo: Av. J. Rodríguez.	X			X
Hotel Río Nazas: av. Morelos y Carranza.	X			X
Hotel calvete: calle Ramón corona	X			X
Hotel del Paseo: Av. Morelos	X			X
Hotel Palacio Real: Av. Morelos	X	X		X
Plaza Armas de torreón: entre las calles Cepeda y Valdés Carrillo	X	X		X
Plaza la tortuga: Blvrd. Revolución, pino Torreón jardín.		X		X
Bosque Venustiano Carranza: Av. Juárez y Cuauhtémoc.		X		X
Alameda Zaragoza: Av. Juárez y calzada colón	X			X
Museo del ferrocarril: Blvd. Revolución y Calle Valdez Carrillo	X			X
Museo del algodón: av. Juárez pte	X			X
Edificio Arocena san Jorge: calle cepeda	X			X
Auditorio Municipal: col. Luis Echeverría	X	X		X
Restaurant chino alameda: Av. Juárez y Donato Guerra		X		X
<u>Pollos santos</u> : Av. Morelos, Donato Guerra	X			X
<u>El Taconzote</u> : Av. Morelos Pte	X			X
Mercado Juárez: Av. Juárez esquina Calle Blanco.		X		X
Mercado alianza: <u>calle Muzquiz,</u>		X		X
Soriana colón: Calzada Colón Sur	X			X
Banco Banamex colón: Calzada Colón Av. Hidalgo	X			X
Preparatoria Treviño: Jiménez Sur.	X		X	

Cuadro 3.- Lugares muestreados y condiciones de la muestra (Continuación).

LOCALIZACION	SOL	SOMBRA	TECHO	SUELO
UAAAN UL: Periférico Raúl López Sánchez		X		X
CONALEP: Calle del coleadero Col. La Merced		X	X	
IMSS #18: Boulevard Revolución Ote		X		X
BBVA Bancomer Alameda: Av. Juárez.		X		X
ISSSTE: Av. Allende y Donato Guerra.		X		X
Cruz Roja: Av. Pdte. Carranza y Calz. Cuauhtémoc		X		X
H. cuerpo de Bomberos: Degollado SN Luis Echeverría Álvarez		X		X
Hipermart: Blvd Independencia Ote	X			X
Facultad de Odontología: Av. Juárez y Calle 17	X	X		X
Oficinas de Coordinación UAdeC: Blvd. Revolución y Comonfort.	X			X

Se utilizaron frascos de vidrio estériles de tamaño mediano, donde se depositó materia fecal de palomas, y por cada lugar se obtuvo 2 muestras, como se observa en la Figura.7.



Figura 7.- Muestras, identificadas de acuerdo a su localización.

3.2.1. Material del Laboratorio

Para llevar a cabo el procesamiento de las muestras en el laboratorio fue necesario la utilización de

- Cajas Petri,
- Matraces de Erlenmeyer,

- Báscula,
- Centrífuga clínica,
- Portaobjetos y cubreobjetos,
- Medios de cultivo: Agar Dextrosa Papa, Caldo Urea , Ácido clorhídrico, colorante lacto fenol azul,
- Pipetas en presentación de 1 a 10ml,
- Solución salina estéril al 0.9% ,
- Antibióticos tales como cloranfenicol y estreptomicina.



Figura 8. Muestras selladas de las excretas recolectadas, identificadas de acuerdo a su localización.



Figura 9. Antibióticos Cloranfenicol y Estreptomicina diluidos con excretas de palomas y solución salina fisiológica.



Figura 10. Preparación de los medios de cultivos (Dextrosa papa, Caldo Urea y HCL) y vaciado a las cajas Petri.

3.2.2. Procesamiento de la muestra

Se realizó el cultivo microbiológico de heces de palomas para la posterior identificación de hongos por medio de microscopía, para dicho procedimiento fue necesario contar con material estéril y medios de cultivo previamente preparados de acuerdo a las instrucciones del fabricante en este caso se utilizaron el Agar Dextrosa Sabouraud, Agar Papa Dextrosa y caldo Urea.

3.1.6. Procedimiento:

- 1.- Se agregó en un recipiente estéril 5g de heces, agregar 20 ml de solución salina estéril al 0.9% conteniendo 0.25 ml de cloranfenicol y 0.2 ml de estreptomina para inhibir el crecimiento de bacterias, dejándolas reposar durante 10 minutos.
- 2.- La muestra se mete a centrifugar a 2500 rpm durante 5 minutos para obtener el sobrenadante.

3.-Se tomó 0.5 ml de sobrenadante del tubo con heces anteriormente diluidas y centrifugadas, se vacía en un caja Petri con Agar papa dextrosa, Caldo Urea y Hcl se distribuye el contenido con una asa (figura 12).



Figura 11: Pesado de muestras de heces de palomas



Figura 12.- Siembra de heces de palomas

4.-Se realizó una siembra doble para confirmar el resultado

5.- Se Incubo a temperatura ambiente por un periodo de 96 a 120 hrs y se revisaron cada 24 horas las cajas para observar el crecimiento (Figura 13).



Figura 13: cultivos incubados a temperatura ambiente.

6.- los cultivos que presentaron crecimiento se tomó nota de aspectos como morfología de las colonias, color y textura.

7.- Se resembraron las colonias para separar las que sean diferentes.

8.- Se Realizó un Microcultivo de las resiembras.

9.- Se Observaron las laminillas al microscopio a 10 y 40x para la identificación.

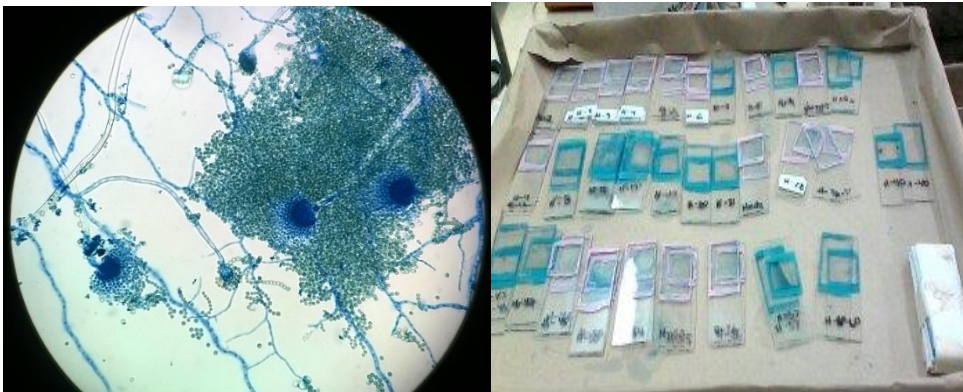


Figura 14. Laminillas e Observación a microscopio a 40x

3.1.7. Crecimiento



Figura 15. Crecimiento en algunas de las muestras.

3.2. Otras Técnicas de identificación

3.2.1. *Microcultivo:*

- Se Colocó una porción de Agar papa dextrosa en el portaobjetos que está sobre un soporte de vidrio en una caja de Petri como se observa en la Figura 16



Figura 16. Microcultivo de resiembra de muestras.

- Se tomó con el asa él inóculo del hongo previamente seleccionado,
- Se sembró con el asa en cada uno de los lados.,
- Colocar sobre el Agar un cubreobjetos y presionar ligeramente para que se adhiera al medio,

- Agregar 5 ml solución salina estéril en la caja Petri para mantener la humedad, incubar a temperatura ambiente y observar el crecimiento cada 24 horas,
- Si el hongo ya se ha desarrollado se procede a preparar la laminilla para identificarla por medio de microscopía,
- Agregar 5 ml de formaldehído al 10 % para inactivar el hongo dejar la solución por un periodo de 20 minutos,
- Desprender con cuidado el cubreobjetos que se encuentra sobre el cuadro de Agar y colocarlo sobre un portaobjetos que contenga una gota de lacto fenol azul de anilina,
- Sellar la preparación con resina, una vez que se secó la preparación se observa al microscopio a 10x y 40x.

4. RESULTADOS

En este estudio se analizaron un total de 100 muestras de heces de paloma encontradas en diversas áreas de la Ciudad de Torreón, como pisos y techos, de las cuales se obtuvieron un total de 56 negativas mientras que 47 resultaron positivas a crecimiento de hongos de diversos géneros principalmente *Aspergillus spp* (Cuadro 4).

Cuadro 4. Resultados de la búsqueda en la siembra de heces de palomas

Resultados	Frecuencia	Porcentaje
Positivos	47	47%
Negativos	53	53%
	100	100%

Cuadro 5. Hongos encontrados en las muestras de heces de palomas.

Especies	Frecuencia	Porcentaje
<i>Aspergillus spp</i>	39	39%
<i>Rizophus</i>	4	4%
<i>Cryptococcus</i>	0%	0%
Negativos	53	53%

Por lo tanto estos datos nos indica que el 39% de las muestras resultaron positivas a *Aspergillus spp* y obtuvimos un 0 % de *criptococcus*.

Cuadro 6. Distribución de los resultados positivos en los diferentes lugares públicos en la ciudad de Torreón, Coahuila.

Lugares	Frecuencia
Hospitales	2
Restaurantes	3
Comercios	4
Escuelas	5
Hoteles	6
Otros sitios	7
Edificios	16
Hoteles	16
Parques y Plazas	20
Iglesias	21

Posteriormente se hizo un conteo de las muestras positivas al hongo *Aspergillus spp* y luego se procedió a identificar cada una de ellas por especie, los resultados de dicha clasificación se muestran en el cuadro 7.

Cuadro 7. Identificación por especie de *Aspergillus spp.*

Especie	Frecuencia
A. Nidulans	1
A. Flavus	2
A. Niger	15
A. Fumigatus	21

La especie que más observamos es A. fumigatus seguida por A. niger, A. flavus y por ultimo A. nidulans.

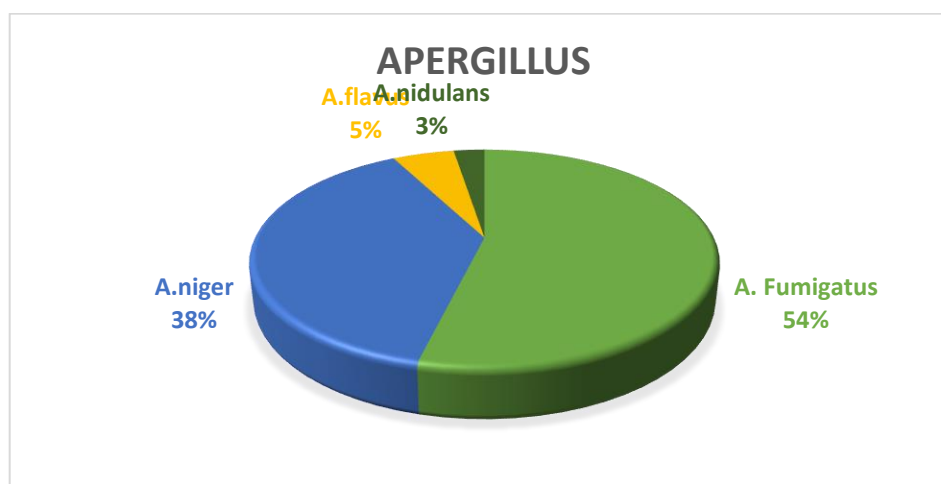


Figura 17. Porcentaje en base a las 39 muestras positivas de *Aspergillus spp.*

5. DISCUSIÓN

Dada la presencia de gran cantidad de palomas en los parques, lugares públicos y techos de edificios; y sabiendo que en las heces de palomas pueden persistir todo tipo de hongos y que algunos de ellos producen infecciones en los animales y los hombres, es necesario analizar los resultados generales obtenidos en las diferentes áreas donde se obtuvieron las muestras, para determinar el riesgo que representa. En los resultados obtenidos se encontró que en las plazas, parques e iglesias son los lugares en donde se encontraron mayor porcentaje de hongos en las heces de palomas, es por eso que debemos de tener mayor cuidado en donde estemos y donde más frecuente la gente. Dependiendo del lugar la temperatura y si están a sol o a sombra es como más frecuentemente se pueden encontrar hongos al igual que puede causar más infecciones en los humanos, los cuales frecuentan muy seguido estos lugares, como lo son ancianos y niños, siendo ellos un poco más susceptibles a contraer este hongo ya que los niños tienden a tomar cosas del suelo, jugar en la tierra y los ancianos suelen sentarse en bancas donde están las heces de las palomas y así estar más susceptibles a ello. El hecho que ellos sean más susceptibles no quiere decir que las demás personas no puedan contraer este hongo. A comparación del trabajo hecho por (Aşkar *et al.*, 2011) se explicó como al igual que lo que se encontró en este trabajo las palomas son una plaga y fuente de infección de varias enfermedades no solo por hongos sino por bacterias, virus etc.. y por otro lado como explico (Costa *et al.*, 2010) las palomas en estos tiempo ya están más domesticadas lo cual se hace más difícil controlar a este tipo de aves.

6. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados que se obtuvieron se puede determinar:

- Esta investigación corrobora la presencia de una alta presencia de hongos, en las heces de palomas.
- Se comprobó que la presencia de palomas se relaciona directamente con la presencia del hongo *Aspergillus spp* (*A. Fumigatus* , *A. Niger*) tomando de cuenta la temperatura y el lugar de donde se tomaron las muestras.
- La presencia de estas aves se debe de considerar un riesgo sanitario, ya que sus excrementos constituyen un hábitat importante para los humanos. La elevada capacidad de supervivencia de los microorganismos aún bajo condiciones de desecación por el sol, los convierte en potencial fuentes de infección, aunque deben existir factores externos, que un no conocemos, que pueden influir en la presencia en cada uno de ellos, en este ambiente.
- No hay que perder de vista que existe un riesgo potencial a la salud de las personas que frecuentan esos lugares, en especial a los niños y ancianos dada la presencia del *A. Fumigatus*.
- A pesar de que en este trabajo no se encontraron resultados positivos en *Cryptococcus* no quiere decir que no se encuentren en las heces de palomas ya que

LITERATURA CITADA

- ABARCA, M. 2000. [Taxonomy and identification of the species involved in nosocomial aspergillosis]. *Revista iberoamericana de micologia*, 17, S79-84.
- ABULREESH, H. H., ORGANJI, S. R., ELBANNA, K., OSMAN, G. E. H., ALMALKI, M. H. K. y ABDEL-MALLEK, A. Y. 2015. First report of environmental isolation of *Cryptococcus neoformans* and other fungi from pigeon droppings in Makkah, Saudi Arabia and in vitro susceptibility testing. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5, 622-626.
- AGARWAL, R. 2009. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Chest*, 135, 805-26.
- ALCAZAR-FUOLI, L., MELLADO, E., ALASTRUEY-IZQUIERDO, A., CUENCA-ESTRELLA, M. y RODRIGUEZ-TUDELA, J. L. 2008. *Aspergillus* section *Fumigati*: antifungal susceptibility patterns and sequence-based identification. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52, 1244-1251.
- ARENDRUP, M. C., MAVRIDOU, E., MORTENSEN, K. L., SNELDERS, E., FRIMODT-MØLLER, N., KHAN, H., MELCHERS, W. J. y VERWEIJ, P. E. 2010. Development of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* during azole therapy associated with change in virulence. *PLoS One*, 5, e10080.
- ASCIOGLU, S., REX, J., DE PAUW, B., BENNETT, J., BILLE, J., CROKAERT, F., DENNING, D., DONNELLY, J., EDWARDS, J. y ERJAVEC, Z. 2002. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and

hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clinical Infectious Diseases*, 34, 7-14.

AŞKAR, Ş., SAKARYA, F. y YILDIRIM, M. 2011. The potential risk in epizootiology of bacterial zoonosis: Pigeon (*Columba livia domestica*) feces. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17, S13-S16.

BALAJEE, S., HOUBRAKEN, J., VERWEIJ, P., HONG, S., YAGHUCHI, T., VARGA, J. y SAMSON, R. 2007. *Aspergillus* species identification in the clinical setting. *Studies in Mycology*, 59, 39-46.

BOUZA, E., GUINEA, J., PELAEZ, T., PEREZ-MOLINA, J., ALCALA, L. y MUNOZ, P. 2005. Workload due to *Aspergillus fumigatus* and significance of the organism in the microbiology laboratory of a general hospital. *Journal of clinical microbiology*, 43, 2075-2079.

BROOKS, G. 2011. *Jawetz, Melnick y Adelberg: microbiología médica (25a)*, McGraw Hill Mexico.

BROOKS, G. F. B., MORSE, J. S. y STEPHEN, A. 1999. *Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*.

BULPA, P., DIVE, A. y SIBILLE, Y. 2007. Invasive pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal*, 30, 782-800.

CHOWDHARY, A., KATHURIA, S., RANDHAWA, H. S., GAUR, S. N., KLAASSEN, C. H. y MEIS, J. F. 2011. Isolation of multiple-triazole-resistant *Aspergillus fumigatus* strains

carrying the TR/L98H mutations in the *cyp51A* gene in India. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, dkr443.

COSTA, A. K., SIDRIM, J. J., CORDEIRO, R. A., BRILHANTE, R. S., MONTEIRO, A. J. y ROCHA, M. F. 2010. Urban pigeons (*Columba livia*) as a potential source of pathogenic yeasts: a focus on antifungal susceptibility of *Cryptococcus* strains in Northeast Brazil. *Mycopathologia*, 169, 207-213.

DE HOOG, G. S., GUARRO, J., GENÉ, J. y FIGUERAS, M. 2000. *Atlas of clinical fungi*, Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS).

DE LA PARTE PÉREZ, M. A., BRUZUAL, E., BRITO, A. y HURTADO, M. D. P. 2005. *Cryptosporidium* spp. y criptosporidiosis. *Rev. Soc. Venez. Microbiol*, 25, 4-14.

DEL PALACIO, A., CUÉTARA, M. S. y PONTÓN, J. 2003. El diagnóstico de laboratorio de la aspergilosis invasora. *Rev Iberoam Micol*, 20, 90-98.

EL-HAMAMSY, I., DÜRRELMAN, N., STEVENS, L.-M., PERRAULT, L. P. y CARRIER, M. 2005. *Aspergillus* endocarditis after cardiac surgery. *The Annals of thoracic surgery*, 80, 359-364.

FORTÚN, J., MEIJE, Y., FRESCO, G. y MORENO, S. 2012. Aspergilosis. Formas clínicas y tratamiento. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30, 201-208.

GONZÁLEZ-ACUÑA, D., SILVA, F., MORENO, L., CERDA, F., DONOSO, S., CABELLO, J. y LÓPEZ, J. 2007. Detección de algunos agentes zoonóticos en la paloma doméstica (*Columba livia*) en la ciudad de Chillán, Chile. *Revista chilena de infectología*, 24, 199-203.

- GUILLOT, J., COLLOBERT, C., GUEHO, E., MIALOT, M. y LAGARDE, E. 1997. *Emericella nidulans* as an agent of guttural pouch mycosis in a horse. *Journal of medical and veterinary mycology*, 35, 433-435.
- HASHEMI, S. J., JABBARI, A. G., BAYAT, M. y RAFIEI, S. M. 2014. Prevalence of *Cryptococcus neoformans* in domestic birds referred to veterinary clinics in Tehran. *Eur. J. Exp. Biol*, 4, 482-486.
- HEDAYATI, M., PASQUALOTTO, A., WARN, P., BOWYER, P. y DENNING, D. 2007. *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*, 153, 1677-1692.
- KLICH, M. A. y PITT, J. I. 1988. *A laboratory guide to the common Aspergillus species and their teleomorphs*, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of Food Processing.
- LANDINEZ LAGUNERO, R. y ALBERTE CASTIÑEIRAS, A. 1998. Hongos productores de micosis oportunistas II. *García-Rodríguez JA, Picazo JJ. Microbiología médica. 1ª edición. Madrid: Harcourt-Brace*, 691-702.
- LITTMAN, M. L. y BOROK, R. 1968. Relation of the pigeon to cryptococcosis: natural carrier state, heat resistance and survival of *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia*, 35, 329-345.
- MAGNINO, S., HAAG-WACKERNAGEL, D., GEIGENFEIND, I., HELMECKE, S., DOVČ, A., PRUKNER-RADOVČIĆ, E., RESIDBEGOVIĆ, E., ILIESKI, V., LAROUCAU, K. y DONATI, M. 2009. Chlamydial infections in feral pigeons in Europe: Review of data and focus on public health implications. *Veterinary microbiology*, 135, 54-67.

- MATTSSON, R., HAEMIG, P. D. y OLSEN, B. 1999. Feral pigeons as carriers of *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus uniguttulatus* and *Debaryomyces hansenii*. *Medical Mycology*, 37, 367-369.
- MEISSNER, W., DYNOWSKA, M., GÓRALSKA, K. y RZYSKA, H. 2015. Mallards (*Anas platyrhynchos*) staying in urban environments have higher levels of microfungi biota diversity than do birds from non-urban areas. *Fungal Ecology*, 17, 164-169.
- MENDES, J. F., ALBANO, A. P. N., COIMBRA, M. A. A., FERREIRA, G. F. D., GONÇALVES, C. L., NASCENTE, P. D. S. y MELLO, J. R. B. D. 2014. Fungi isolated from the excreta of wild birds in screening centers in Pelotas, RS, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 56, 525-528.
- MITCHELL, R., CHAPLIN, A. y MACKENZIE, D. 1987. *Emericella nidulans* in a maxillary sinus fungal mass. *Journal of medical and veterinary mycology*, 25, 339-341.
- MONTIEL, D., DICKINSON, M. J., JEENES, D. J., ROBERTS, I. N., JAMES, S., FULLER, L. J., MATSUCHIMA, K. y ARCHER, D. B. 2003. Genetic differentiation of the *Aspergillus* section *Flavi* complex using AFLP fingerprints. *Mycological research*, 107, 1427-1434.
- NIERMAN, W., MAY, G., KIM, H., ANDERSON, M., CHEN, D. y DENNING, D. 2005. What the *Aspergillus* genomes have told us. *Medical mycology*, 43, 3-5.
- PEDROSO, R. S., FERREIRA, J. C. y CANDIDO, R. C. 2009. The isolation and characterization of virulence factors of *Cryptococcus* spp. from saprophytic sources in the city of Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. *Microbiological research*, 164, 221-227.

- RAMÍREZ, O., AMADOR, M., CAMACHO, L., CARRANZA, I. J., CHAVES, E., MOYA, A., VEGA, M., VERDESIA, J. y QUIROS, W. 2008. Conocimiento popular de la Paloma de Castilla (*Columba livia*) en el Parque Central de Alajuela. *Zeledonia*, 12, 14-19.
- RAPER, K. B. y FENNELL, D. I. 1965. The genus *Aspergillus*. *The genus Aspergillus*.
- ROSARIO, I., ACOSTA, B. y COLOM, F. 2008. La paloma y otras aves como reservorio de *Cryptococcus* spp. *Revista Iberoamericana de Micología*, 25, S13-S18.
- STAIB, F. y BLISSE, A. 1982. Bird manure filtrate agar for the formation of the perfect state of *Cryptococcus neoformans*, *Filobasidiella neoformans*. A comparative study of the agars prepared from pigeon and canary manure. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A*, 251, 554-62.
- SUTTON, D. A., FOTHERGILL, A. W. y RINALDI, M. G. 1998. *Guide to clinically significant fungi*, Williams & Wilkins.
- TARSITANO, E., GRECO, G., DECARO, N., NICASSIO, F., LUCENTE, M. S., BUONAVOGLIA, C. y TEMPESTA, M. 2010. Environmental monitoring and analysis of faecal contamination in an urban setting in the city of Bari (Apulia region, Italy): health and hygiene implications. *International journal of environmental research and public health*, 7, 3972-3986.
- WALTER, J. E. y YEE, R. B. 1968. Factors that determine the growth of *Cryptococcus neoformans* in avian excreta. *American journal of epidemiology*, 88, 445-450.
- YANG, Y.-L. 2003. Virulence factors of *Candida* species. *Journal of Microbiology Immunology and Infection*, 36, 223-228.

ZARRIN, M., JORFI, M., AMIRRAJAB, N. y ROSTAMI, M. 2010. Isolation of *Cryptococcus neoformans* from pigeon droppings in Ahwaz, Iran. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 40, 313-316.