



Revista MINERVA

Plataforma digital de la revista: <https://minerva.sic.ues.edu.sv>

Artículo Científico | Scientific Article

***Cryptococcus neoformans* en las instalaciones del Hospital Nacional Rosales de El Salvador**

Cryptococcus neoformans in the Rosales National Hospital of El Salvador

Karen Lisseth López Flores^{1,3}, Francis Alfredo Segura Calderón^{2,4}

Correspondencia:
karen.lopez2@ues.edu.sv

- 1 Universidad de El Salvador
- 2 Hospital Nacional El Salvador
- 3 ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-1397-8503>
- 4 ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-2754-1519>

RESUMEN

La criptococosis, micosis oportunista causada por una levadura capsulada: *Cryptococcus neoformans*, la cual, taxonómicamente, está clasificada dentro del reino fungi, phylum Basidiomycota, familia Tremellaceae. El microorganismo fue aislado de heces y nidos de palomas *Columba livia*. Las excretas de estas especies constituyen el hábitat ideal para el microorganismo debido a que contienen las sustancias orgánicas necesarias para la viabilidad y crecimiento del hongo. El Hospital Nacional Rosales (HNR), principal nosocomio de San Salvador y del país, posee una numerosa población de palomas. La investigación se planteó por objetivo: comprobar la existencia de *Cryptococcus neoformans* en heces de palomas que habitan dentro de las instalaciones del HNR. Método: se realizaron cultivos

DOI: <https://doi.org/10.5377/revminerva.v7i4.19261>

Enviado: 12 de marzo de 2024
Aceptado: 06 de noviembre de 2024

Palabras clave: Salud pública, heces, *Columba livia*

Keywords: Public health, feces, *Columba livia*



Este contenido está protegido bajo la licencia CC BY
(<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

a partir de excretas de palomas provenientes del suelo y restos de nidos que se encontraron en las instalaciones; se realizó la siembra en agar semilla de girasol y a partir del crecimiento, se hicieron preparaciones al fresco y prueba de ureasa, para su identificación. Los resultados muestran la presencia de *Cryptococcus neoformans* en las instalaciones del HNR y además se concluye que, independientemente de la procedencia de las muestras ambientales, existe igual posibilidad de recuperar el hongo aunque se trate de excretas secas o frescas (húmedas), lo que constituye un factor de riesgo de infección para los pacientes hospitalizados inmunosuprimidos y población en general que trabaja o visita el nosocomio. Si a la condición de inmunosupresión, ya sea por enfermedad o iatrogénica, se suma la inhalación de esporas del hongo, se constituye en un problema de salud pública por resolver.

ABSTRACT

Cryptococcosis, an opportunistic mycosis caused by a capsulated yeast: *Cryptococcus neoformans*, which is taxonomically classified within the kingdom fungi, phylum Basidiomycota, family Filobasidiella. The microorganism was isolated from feces and nests of *Columba livia*, pigeons. The excreta of these species constitute the ideal habitat for the microorganism because they contain the organic substances necessary for the viability and growth of the fungus. The Rosales National Hospital (HNR), the main hospital in San Salvador and in the country, has a large population of pigeons. The objective of this research was to prove the existence of *Cryptococcus neoformans* in the feces of pigeons living in the HNR facilities. Method: cultures were made from pigeon droppings from the floor and remains of nests found in the facilities; sowing was performed in sunflower seed agar and from the growth, fresh preparations and urease test were made for identification. The results show the presence of *Cryptococcus neoformans* in the HNR facilities, and it is also concluded that, regardless of the origin of the environmental samples, there is an equal possibility of recovering the fungus even if they are dry or fresh (wet) excreta, which constitutes a risk factor of infection for immunosuppressed hospitalized patients and the general population that works or visits the HNR. If the condition of immunosuppression, whether due to disease or iatrogenic, is added to the inhalation of fungal spores, it becomes a public health problem to be solved.

INTRODUCCIÓN

El género *Cryptococcus* se compone de dos especies patógenas: *C. neoformans* y *C. gattii*. *Cryptococcus neoformans* presenta dos variedades, var. *grubii* (serotipo A) y var. *neoformans* (serotipo D), existiendo también un híbrido AD. *Cryptococcus gattii* incluye los serotipos B y C. Estas especies y variedades tienen características, morfológicas y de cultivo, similares en medios no selectivos (Tapia et. al., 2014). El complejo *Cryptococcus neoformans/ Cryptococcus gattii* es el responsable de la infección de distribución mundial denominada criptococosis. Dicho agente se caracteriza por ser una levadura capsulada con un elevado tropismo por el sistema nervioso central. Se conoce que *C. neoformans* afecta principalmente a pacientes inmunosuprimidos, con mayor frecuencia a personas con virus de inmunodeficiencia humana en etapa avanzada, por lo cual, se considera una micosis sistémica oportunista. En cambio, *C. gattii* se ha aislado en personas que no sufrían de ningún tipo de inmunosupresión, por lo que es considerada una especie patógena (Duarte et. al., 1994). Independientemente de la especie, la criptococosis inicia cuando ingresan al organismo por vía aérea, a través de las estructuras infecciosas del hongo que se encuentran en el ambiente.

El hábitat de *C. gattii* se ha determinado que son los árboles de eucalipto, estos juegan un papel importante en el ciclo de vida del hongo, sobre todo en su fase teleomórfica, pues el microorganismo infecta las semillas del árbol y es capaz de mantenerse ahí por mucho tiempo de forma latente; cabe destacar que se han realizado numerosos aislamientos de este hongo en tejidos vegetales de las especies *Eucalyptus camaldulensis* y *E. tereticornis*. Por otra parte, *Cryptococcus neoformans* está asociado a lugares contaminados con excretas de aves, especialmente de palomas (*Columba livia*); el guano de estas es, generalmente, alcalino y representa una fuente rica en productos nitrogenados que mantienen viable al hongo hasta por varios meses, en especial si persiste cierta humedad (Bonifaz, 2012).

La levadura capsulada de *Cryptococcus neoformans* posee una amplia distribución mundial, y su hábitat

está ligado a las aves, principalmente a las palomas *Columba livia*, ya que en sus excretas es donde se aísla con mayor frecuencia en la naturaleza, expone Marín (2017), también, es la infección oportunista más importante especialmente en el SIDA (Escandon y Montilla, 2010); en África, junto con la tuberculosis pero muchos casos se han informado mediante los registros nacionales en Francia y Atlanta (Arenas, 2014).

El cuadro clínico puede ser leve o severo. La afección pulmonar es una entidad clínica que generalmente cursa de forma asintomática y subclínica, y sólo se puede detectar mediante correlación de cambios radiológicos sugestivos y por serología, a través de la detección de anticuerpos por inmuno-fluorescencia indirecta (Arenas, 2014). El agente etiológico se disemina hacia cualquier órgano, en especial el sistema nervioso central (Gómez y Zarco, 2011), sistema digestivo (Hani et al., 2014); riñón (Paneque et al., 2007).

En El Salvador, la población de estas aves (*Columba livia*) se encuentra distribuida en numerosos lugares, desde domicilios particulares hasta sitios de uso público con afluencia de muchas personas, tal es el caso del Hospital Nacional Rosales (HNR) en donde la cantidad de aves aumenta con el pasar del tiempo. Un factor crucial que ha contribuido a este aumento, es la frecuente alimentación antrópica que reciben las aves, generando así un lugar propicio para la concentración de las mismas. Es por ello que este estudio se planteó por objetivo evidenciar la presencia de *Cryptococcus neoformans* en las palomas que habitan dentro de las instalaciones del Hospital Nacional Rosales, San Salvador López et al. (2018) en excretas acumuladas o restos de nidos y heces frescas (húmedas) o desecadas.

METODOLOGÍA

El estudio se realizó entre los meses de junio y julio de 2018. De tipo experimental, transversal, prospectiva y descriptiva. Las muestras se tomaron de las excretas de palomas y restos de nidos acumulados en diversos sitios dentro de las instalaciones del Hospital Nacional Rosales. Los datos del estudio se obtuvieron a través del procesamiento de muestras de excretas

de palomas y restos de nidos, auxiliándose para ello de procedimientos de laboratorio, tales como cultivo micológico, pruebas fisiológicas y preparaciones al fresco a partir del cultivo.

Se identificaron, en las instalaciones del Hospital, aquellas zonas que cumplían con el criterio de inclusión, que fue la presencia de excretas acumuladas que podrían albergar a la levadura o restos de nidos en desuso de las aves.

Para la recolección de muestras se identificaron 4 zonas (área administrativa, servicio 2° medicina interna hombres, edificio de consulta externa y torre de comité gestor de camas), estas áreas comprendían bodegas, escaleras, techos y pasillos en donde las excretas de palomas se encuentran expuestas a condiciones medioambientales variables.

Las muestras recuperadas fueron clasificadas en excretas acumuladas y restos de nidos, además, estas muestras presentaron una o más de las siguientes características: heces frescas (húmedas) o secas, con o sin alta exposición a la luz solar; a fin de evaluar si las condiciones ambientales favorecen la existencia de *C. neoformans*.

Las excretas de palomas se recolectaron con espátulas de latón, raspando el área seleccionada para obtener mayor cantidad de muestra posible. Este proceso se realizó con equipo de protección personal: gabacha, guantes, mascarilla (N95), gorro y gafas protectoras. Cada muestra recolectada fue depositada en una bolsa de polietileno de cierre hermético previamente rotulada con un número de identificación asignado. Posteriormente, las muestras fueron transportadas, cumpliendo el triple embalaje, hacia el Laboratorio del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de El Salvador, donde se procesaron de acuerdo con el protocolo de identificación micológico establecido.

El procesamiento inicial de las muestras consistió en la eliminación de cualquier contaminación bacteriana acompañante, para ello se realizó una suspensión de 10 gramos de la muestra en un Erlenmeyer con 30 ml de solución salina al 0.85 % estéril con una combinación de antibióticos (estreptomina y

penicilina). A continuación, se colocaron los frascos que contenían la suspensión en un rotador para homogenizar durante 30 minutos, luego se dejó reposar aproximadamente 45 minutos, Tello et.al. (2013). Después, se procedió a inocular 3 placas de agar semilla de girasol (ASG), más cloranfenicol, por muestra, utilizando 100 µl de sobrenadante por placa, luego se incubaron a 37 °C durante un periodo que osciló entre 3 a 7 días, y se observaban diariamente para registrar el desarrollo de cada cultivo, plantea Ayala et.al. (2011).

Para garantizar el aislamiento adecuado del hongo, se les realizó a los medios de cultivo, previo a la inoculación de las muestras, un control de funcionalidad, haciendo uso de cepas conocidas de *C. neoformans* proporcionadas por el Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de El Salvador, obteniendo resultados favorables que garantizaron el correcto funcionamiento del medio de cultivo.

para el análisis multivariado, donde fueron incluidas las variables significativas resultantes del análisis bivariado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

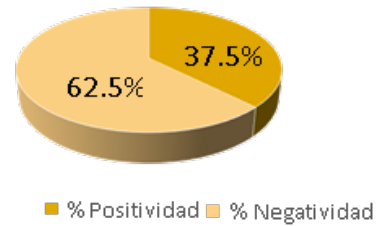
Se recolectó un total de 16 muestras de excretas de palomas provenientes de 4 áreas diferentes dentro de las instalaciones del Hospital Nacional Rosales: área administrativa (zona 1), Servicio de 2.º Medicina Interna Hombres (zona 2), edificio de consulta externa (zona 3), torre de comité gestor de camas (zona 4).

De acuerdo con esta distribución, se obtuvo el siguiente número de muestras correspondiente a cada zona respectivamente: 10, 2, 3 y 1. Todas las zonas cumplían con los criterios de la investigación.

Se obtuvieron 6 muestras positivas, que corresponde a un 37.5 % de aislamiento de *C. neoformans* (Figura 1), un resultado comparable con el logrado por Ayala et al. (2011) en diversos lugares de El Salvador, el cual fue de 36.5 %; cabe destacar que en ese estudio se procesaron 2 muestras recolectadas de las instalaciones del HNR y una de ellas fue positiva al aislamiento de esta levadura. Además, un estudio reciente sobre este mismo tema es el realizado en

Figura 1

Frecuencia de aislamiento de *Cryptococcus neoformans*



Colombia por Vallejo et al. (2016) en el que obtuvo un porcentaje de positividad del 26.56 %. Sin embargo, el porcentaje de positividad obtenido en la presente investigación es 3 veces mayor respecto al estudio realizado por Curó et al. (2005) que fue de 12.5 %, este resultado probablemente sea debido a que en esa investigación los autores incluyeron como muestras no solo excretas de palomas, sino también, de ambiente aéreo y suelo de palomares.

Es importante mencionar que del total de muestras positivas obtenidas (6 muestras), 4 de estas (66.6 %) provienen del área administrativa (Zona 1) y el restante 33.3 % (2 muestras) del área de consulta externa (zona 3) del HNR, lo que refleja el riesgo que representa la zona 1, por su elevado porcentaje de positividad a *C. neoformans*. En el trabajo de Ayala et al. (2011), no se especifican las zonas del hospital de donde obtuvieron sus muestras, por lo que no es posible determinar si la muestra que resultó ser positiva en aquella ocasión, se encontraba dentro de las zonas muestreadas en el presente estudio.

Con relación a la muestra en la que con mayor frecuencia se aísla *C. neoformans*, se obtuvo un 66.6 % del total de positividad, en muestras correspondientes a excretas acumuladas, y el restante 33.3 % de restos de nidos, para lo cual se determinó que no existe una diferencia estadística significativa al obtener un valor de 0.020 para chi cuadrada entre los dos tipos de muestras estudiados. Este resultado indica que la posibilidad de recuperar a la levadura es igual independientemente de qué muestra se trate (Tabla 1).

Del total de muestras procesadas (16 muestras), 2 eran muestras frescas (húmedas), y 14 eran

Tabla 1

Frecuencia en el aislamiento de *Cryptococcus neoformans* con respecto al tipo de muestra

	+	-	
	<i>C. neoformans</i>	<i>C. neoformans</i>	Subtotal
Material de nidos con excretas	2	3	5
Excretas acumuladas	4	7	11
TOTAL	6	10	16

$\chi^2 = 0.020$

muestras secas. Todas las muestras húmedas fueron negativas al aislamiento de *C. neoformans* por lo que la totalidad de muestras positivas corresponde a muestras secas. Al aplicar el estadístico de prueba se obtiene un resultado de 1.37 para chi cuadrada, por tanto, no existe diferencia estadística significativa que indique mayor probabilidad de aislar al hongo en excretas secas respecto a las frescas (Tabla 2).

Estos resultados discrepan de los obtenidos por Vallejo et al (2016), quienes demuestran que existe mayor probabilidad de aislar al microorganismo en excretas secas; y asimismo, con los hallazgos de otras investigaciones como la ejecutada por Mattson et al (1999), que sugiere, el hongo no suele aislarse en deyecciones recientes (frescas).

Además, se tomó en cuenta la exposición a la luz solar en los sitios de muestreo, es así como, 5 muestras presentaban exposición variable a los rayos solares, de estas, 3 muestras presentaron una exposición entre 2 a 3 horas, y 2 lo hacían entre 6 a 8 horas. Se aisló *C. neoformans* en 2 muestras, ambas coinciden en que tenían una exposición a la luz solar entre 2 a 3 horas, lo cual indica que es posible aislar la levadura aún bajo estas condiciones; este resultado es comparable con el obtenido en Colombia por Vallejo et al (2016), en

Tabla 2

Frecuencia en el aislamiento de *C. neoformans* con respecto a las características de la muestra.

	+	-	
	<i>C. neoformans</i>	<i>C. neoformans</i>	Subtotal
Muestras frescas	0	2	2
Muestras secas	6	8	14
TOTAL	6	10	6

$\chi^2 = 1.37$

donde se aisló el hongo en zonas con alta exposición a la luz solar. Hasta hace poco se consideraba que esta condición inhibía por completo el crecimiento del microorganismo (Baró, 2002) e incluso se creyó que los rayos solares eran letales para la levadura (Caicedo et.al., 1996); sin embargo, el estudio realizado por Dadachova et al., (2007), demostró en sus ensayos que las especies patógenas de *Cryptococcus* productoras de pigmentos melanoides reflejan un aumento en la actividad metabólica de la célula al ser sometidas a radiación ionizante, lo que mejora las propiedades químicas de la melanina y, esto le permitiría al microorganismo sobrevivir (Mattson et al., 1999; Rosario-Medina, 2004).

CONCLUSIÓN

El hongo levaduriforme *Cryptococcus neoformans* se encontró presente en las instalaciones del Hospital Nacional Rosales con gran frecuencia, lo que supone un inminente peligro de contagio para los trabajadores y pacientes si se tiene presente que la vía de entrada es casi siempre respiratoria; exacerbándose el peligro si se toma en consideración que buena parte de la población del nosocomio son pacientes inmunodeprimidos por enfermedad o iatrogénicamente.

Al margen de la procedencia de las muestras ambientales para el aislamiento de *C. neoformans*, ya sean excretas acumuladas o restos de nidos, excretas secas o frescas (húmedas), la posibilidad de recuperar al hongo es la misma; con lo cual se dibuja la urgencia de crear una estrategia de salud ambiental que logre erradicar el riesgo que suponen las poblaciones de *Columba livia* del HNR y de los nosocomios en general, puesto que *C. neoformans* y *Columba livia* son especies que mantienen una estrecha relación ecológica.

AGRADECIMIENTOS

Una especial mención a Jennifer V. Vásquez por permitirnos realizar este estudio a partir de la tesis que ejecutamos juntos.

REFERENCIAS

Arenas, R. (2014). *Micología médica ilustrada*. 5a ed. McGraw Hill. pp 261-269.

- Ayala de Chavarrilla, D., López de Henríquez, F.M. Valencia de Recinos, R.E. (2011) Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en muestras del ambiente contaminadas con excrementos de palomas en diferentes zonas de El Salvador. *Minerva*. Vol.2, (1); pp: 21-27.
- Baró Tomás, M. T. (2002). Epidemiología de la Criptococosis en España. Caracterización de los aislados *Cryptococcus neoformans* [Tesis doctoral] Barcelona, España. URL: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/3864/mtbt1de2.pdf?sequence=1>
- Bonifaz, A. (2012). *Micología médica básica* 4a ed. México D. F.: McGraw Hill; pp.348-362.
- Caicedo, B, L. D., Álvarez Valle, M. I., Llanos, C. E., & Molina, D. (1996). *Cryptococcus neoformans* en excretas de palomas del perímetro urbano de Cali. *Colombia Médica*, 27(3,4), 106-109. <https://colombiamedica.univalle.edu.co/index.php/comedica/article/view/29>
- Curó, María, Salinas F, Marianella, & Casquero C, José. (2005). *Cryptococcus neoformans* en excretas de palomas, suelo y aire de los palomares del perímetro Urbano de Ica, 2002. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 22(4), 262-266. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342005000400004&lng=es&tlng=es.
- Dadachova, E, Bryan RA, Huang X, Moadel T, Schweitzer AD, Aisen P, et al. (2007) La radiación ionizante cambia las propiedades electrónicas de la melanina y mejora el crecimiento de los hongos melanizados. *MÁS UNO* 2(5): e457. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000457>
- Duarte, A., Ordoñez, N., & Castañeda, E.. (1994). Asociación de levaduras del género *Cryptococcus* con especies de *Eucalyptus* en Santafe de Bogotá. *Revista Do Instituto De Medicina Tropical De São Paulo*, 36(2), 125-130. <https://doi.org/10.1590/S0036-46651994000200006>
- Escandon, P. Montilla A. (2010). Tipificación molecular de aislamientos del complejo *Cryptococcus neoformans/C. gattii*. *Asociación colombiana de microbiología, Revista Infectio*. 2010; pp. 127-130. [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(10\)70130-2](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(10)70130-2)
- Gómez, B. y Zarco L., Montero, L.A. (2011) Criptococosis meníngea: características clínicas y de laboratorio. *Acta Neurol Colomb.[en línea]*. vol. 27, n. 1, págs. 19-27. ISSN 0120-8748. https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/51461/acta_2011_27_19_27.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Hani, Albis C, Vargas, Rómulo, Concha, Alejandro, & Costa, Valeria Atenea. (2014). Criptococosis esófago-gastroduodenal: reporte de caso. *Revista colombiana de Gastroenterología*, 29 (3), 296-302. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572014000300014&lng=en&tlng=es.
- López Flores, K. L., Segura Calderón, F.A. y Vásquez Munguía, J.V. (2018) Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en excretas de palomas (*Columba livia*) encontradas en suelo y nidos dentro de las instalaciones del Hospital Nacional Rosales de El Salvador, en el periodo de junio-julio 2018. Tesis. <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/19337>
- Mattsson, R., Haemig, P. D., & Olsen, B. (1999). Feral pigeons as carriers of *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus uniguttulatus* and *Debaryomyces hansenii*. *Medical mycology*, 37(5), 367-369. <https://doi.org/10.1046/j.1365-280x.1999.00241.x>
- Marín Ricart, M.R.L.(2017) Fenotipificación y factores de virulencia del complejo *Cryptococcus neoformans/ Cryptococcus gattii* de origen clínico de algunos hospitales de Paraguay [Tesis]. Paraguay: Universidad Nacional del Nordeste. <http://repositorio.unne.edu.ar/handle/123456789/873>
- Paneque Rodríguez, I., Valdivia J., Aguiar Agramante A., Castillo Castillo, I., Martínez

Arroyo M., y Delgado Almora E. (2007). Criptococosis en pacientes con trasplante renal. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 59(2) http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602007000200016&lng=es&tlng=es.

Rosario Medina, M. I., (2004). La paloma (*Columba livia*) como portadora de *Cryptococcus* spp. Y otros hongos levaduriformes con impacto en la salud pública; estudio en la Isla de Gran Canaria [tesis doctoral] Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. <http://hdl.handle.net/10553/21369>

Tapia, C., Correa, N. (2014) Género *Cryptococcus*. Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v31n6/art12.pdf>

Tello, M., Gutiérrez E., Béjar V., Galarza C., Ramos W., Ortega Loayza A. (2013). Criptococosis. *Revista Médica Risaralda*, 19 (2):147-153.

Vallejo Timarán, D. A., Benavides Melo, C. J. , Cháves Velásquez, C. A. ., Morillo Caicedo, M. I. ., y Castillo Ceballos, A. M. . (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>