

AISLAMIENTO DE *Cryptococcus neoformans* EN HECES DE PALOMAS (*Columba livia*) EN EL CASCO URBANO DEL MUNICIPIO DE PASTO, COLOMBIA

Darío Antonio Vallejo Timarán¹
Carmenza Janneth Benavides Melo²
Carlos Alberto Chaves Velásquez³
María Isabel Morillo Caicedo⁴
Angie María Castillo Ceballos⁵

RESUMEN

El hongo *Cryptococcus neoformans* es el causante de criptococosis en humanos y animales. La enfermedad se ha relacionado con la exposición de los pacientes a excretas de aves, de las cuales la paloma urbana (*Columba livia*) es la más importante como reservorio del hongo. **Objetivo:** Aislar *C. neoformans* en heces de palomas en el casco urbano del municipio de Pasto (Colombia). **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio transversal, en zonas con alta densidad de palomas y afluencia de personas. Las zonas correspondieron a iglesias ubicadas dentro del casco urbano que cumplieron con el criterio de inclusión. Se realizó cultivo de 128 muestras de excretas de palomas en agar Sabouraud dextrosa con cloranfenicol. Posteriormente se realizó un extendido de capa fina del cultivo donde hubo crecimiento del patógeno y se le agregó una

gota del colorante tinta china para visualizar el agente en el microscopio. Las variables analizadas fueron: presencia del hongo en heces de palomas y prevalencia en las zonas de muestreo, características de la muestra y características de las áreas en las que se aisló el agente. **Resultados:** La prevalencia de *C. neoformans* en el casco urbano del municipio de Pasto es del 90%. El 26,56% de las muestras fueron positivas. Se encontró relación significativa entre la presencia del agente y las variables de la muestra en suelo ($p = 0,0025$), muestra fresca ($p = 0,004$), muestra húmeda ($p = 0,031$), muestra seca ($p = 0,001$), sin contaminación ($p = 0,01$), alta exposición a la luz ($p = 0,016$), baja humedad de la zona ($p = 0,001$), y densidad de palomas ($p = 0,007$). El estudio permitió establecer la presencia de *C. neoformans* en excretas de paloma en el municipio de Pasto. Se encontraron características particulares en la zona y la muestra que aumentan la probabilidad de aislamiento.

Palabras clave: criptococosis, aves, prevalencia.

¹ Médico Veterinario Esp. Docente, Departamento de Salud Animal, Grupo de investigación en Medicina Interna y Farmacología Veterinaria –MIFARVET–, Universidad de Nariño. Pasto, Colombia. Correo electrónico: dario1@gmail.com
ORCID: 0000-0002-6682-7743

² Médico Veterinario Esp. Docente, Departamento de Salud Animal, Grupo de investigación en Medicina Interna y Farmacología Veterinaria –MIFARVET–, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. Correo electrónico: benavidesmelo@gmail.com
ORCID: 0000-0002-9369-3816

³ Médico Veterinario Esp. Docente, Departamento de Salud Animal, Grupo de investigación en Medicina Interna y Farmacología Veterinaria –MIFARVET–, Universidad de Nariño. Pasto, Colombia. Correo electrónico: cachavesv@unal.edu.co
ORCID: 0000-0002-5815-4788

⁴ Médico Veterinario. Práctica privada. Pasto, Colombia. Correo electrónico: m.isa@hotmail.com
ORCID: 0000-0001-5133-2716

⁵ Médico Veterinario. Práctica privada. Pasto, Colombia. Correo electrónico: angiecace@gmail.com
ORCID: 0000-0002-4662-7234

***Cryptococcus neoformans* ISOLATION IN PIGEON (*Columba livia*) FECES IN THE URBAN AREA OF THE MUNICIPALITY OF PASTO, COLOMBIA**

ABSTRACT

The fungus *Cryptococcus neoformans* is the cause of cryptococcosis in humans and animals. The disease has been linked to the exposure of patients to excreta of birds, of which the urban pigeon (*Columba livia*) is the most important reservoir of the fungus. Objective: Isolating *C. neoformans* in pigeon feces in the urban area of the municipality of Pasto (Colombia). **Objective:** To isolate *C. neoformans* on stool of pigeons (*Columba livia*) in the municipality of Pasto, Colombia. **Materials and methods:** A descriptive transversal study was carried out in areas with high density of pigeons and great number of people. The areas included the churches located within the city which met the inclusion criteria. A culture of 128 samples of pigeon stool was performed on Sabouraud Dextrose

Agar with chloramphenicol. Subsequently, a spread of thin layer of the culture where the pathogen grew was carried out and a drop of India ink was added to visualize the agent in the microscope. The variables analyzed were: presence of *C. neoformans* on pigeon stool and prevalence of the fungus in sampling areas, characteristics of the sample, and characteristics of the areas in which the agent was isolated.

Results: The prevalence of *C. neoformans* within the municipality of Pasto town was 90%. Out of the total samples collected, 26.56% were positive. Significant relationship between the presence of the agent and the variables of the sample was found ($p = 0.0025$), fresh sample ($p = 0.004$), wet sample ($p = 0.031$), dry sample ($p = 0.001$), sample without contamination ($p = 0.01$), high light exposure ($p = 0.016$), low humidity of area ($p = 0.001$) and pigeon density ($p = 0.007$). The study allowed establishing the presence of *C. neoformans* on pigeon stool in the municipality of Pasto. Particular characteristics were found in the area and the sample which increase the likelihood of isolation.

Key words: criptococosis, birds, prevalence.

INTRODUCCIÓN

El hongo *Cryptococcus neoformans* es el causante de criptococosis en humanos y gran variedad de animales. Esta enfermedad es una micosis oportunista, la cual tiene predilección por el sistema nervioso central. Afecta a pacientes inmunodeprimidos e inmunocompetentes, y se adquiere por la inhalación de las esporas del hongo, pequeñas levaduras encapsuladas y probablemente también basidiosporas, presentes en el medio ambiente (1, 2).

En los últimos 25 años los casos de criptococosis humana y animal han aumentado considerablemente, en gran medida debido a la supervivencia de enfermos con alteraciones

en el sistema inmunológico. A partir de 1981, como consecuencia de la epidemia del Sida y otro tipo de condiciones de inmunosupresión, las infecciones por este hongo se han convertido en una causa importante de morbilidad y mortalidad. En la actualidad esta micosis se clasifica entre las tres infecciones oportunistas más importantes que conducen a la muerte en pacientes con Sida (1).

La paloma juega un papel importante como portadora de hongos patógenos. Entre las enfermedades transmitidas por palomas al ser humano se encuentran la histoplasmosis, clamidiosis, salmonelosis, colibacilosis, criptococosis, encefalitis de San Luis, alveolitis alérgica, neumoencefalitis, tripanosomiasis y

tuberculosis (3). La enfermedad se ha relacionado con la exposición de los pacientes a excreciones de aves. De ellas, la paloma urbana (*Columba livia*) es la más importante como reservorio del hongo. Emmons, en 1955, aisló *C. neoformans* de excretas de palomas urbanas (*Columba livia*), siendo el primero en establecer la relación existente, y actualmente consolidada, entre el microorganismo y las heces de estas aves (4). Las aves raramente desarrollan signos clínicos asociados a la enfermedad y sirven como un reservorio potencial de infección en humanos, la cual no sucede por la transmisión directa con aves sino más bien de la exposición a los organismos en el medio ambiente. Por lo tanto, no se considera una zoonosis (5).

Dada la importancia que en salud pública tiene el conocer el reservorio de un microorganismo patógeno, la posible presencia y permanencia del hongo en el tubo digestivo de las palomas, su distribución y los factores que favorecen su crecimiento, son temas de gran interés para la implementación de medidas de control sanitarias enfocadas a reducir la posibilidad de transmisión de la enfermedad a la población.

Estudios realizados en otros países y ciudades (2, 6, 7) revelan la importancia de realizar control sanitario de las palomas, consideradas potenciales plagas transmisoras de múltiples enfermedades. En Colombia no se realiza ningún tipo de control sanitario, ya que no es una enfermedad motivo de vigilancia epidemiológica.

En el municipio de Pasto no hay estudios previos que hayan establecido la presencia de *C. neoformans*. Por lo tanto, se desconoce la prevalencia del patógeno y su impacto en la población. Adicionalmente, en la ciudad se han observado poblaciones densas de palomas que particularmente habitan iglesias, parques, plazas y casas antiguas. Actualmente no existe control sanitario de las poblaciones de palomas en la ciudad de San Juan de Pasto y es de gran importancia atender esta situación y entender su implicación en la salud pública.

Es de interés dar un aporte de tipo epidemiológico, de aspectos relacionados con el comportamiento de la criptocosis en nuestro medio estableciendo si las palomas son reservorio de la enfermedad en nuestro medio y si se requiere la implementación de un control sanitario de estas aves. El objetivo del presente estudio fue aislar *C. neoformans* en heces de palomas (*Columba livia*) en el municipio de pasto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal, doble ciego de tipo descriptivo. El estudio se realizó en el municipio de Pasto, en zonas en las cuales se evidenció una alta densidad en la población de palomas y un contacto entre estas aves y las personas.

Se estableció como criterio de inclusión una zona con alta densidad de palomas, aquella en la que se observe poblaciones o grupos numerosos de palomas y afluencia de personas. La muestra fue obtenida de un total de 38 iglesias registradas en el municipio de Pasto, se incluyeron 24 iglesias que se encontraban dentro del casco urbano de las cuales 9 cumplieron con el criterio de inclusión: San Felipe Neri, San Juan Bautista, San Andrés, Catedral, San Sebastián, San Agustín, Santiago Apóstol, La Merced, Cristo Rey. Debido a la alta densidad de palomas, la plaza central de la ciudad fue incluida en el estudio.

Para el tamaño de la muestra se tuvo en cuenta la fórmula de tamaño de muestra para estimar una proporción (8), con una proporción del 14% de *C. neoformans* en heces de palomas con base en un estudio realizado en Cundinamarca (Colombia) en 2015 (2).

Se tomaron un total de 128 muestras de heces de palomas, en diferentes zonas, condiciones medioambientales y características de la muestra. Las muestras fueron distribuidas aleatoriamente en un total de 10 zonas (9 iglesias y la plaza central del municipio de Pasto) que cumplieron con el criterio de inclusión.

Las 128 muestras fueron recolectadas mediante muestreo aleatorio simple con características diversas, con el fin de evaluar en qué condiciones se encuentra el agente con mayor probabilidad en nuestro medio. Lo anterior, debido a que en la literatura existen ciertas contradicciones sobre los criterios de muestreo para determinar la presencia de este hongo. Las muestras fueron tomadas de exteriores (estructura, suelo y jardines) e interiores (cúpula y campanario) de cada zona. Se colectaron heces frescas y no frescas, con humedad y secas. La mayoría de las muestras consistieron en heces sin detritos, algunas se encontraban contaminadas con tierra y vegetales y otras con plumas. Las muestras tuvieron una exposición a la luz y exposición al medio ambiente variable. Se caracterizaron y clasificaron las zonas de muestreo como alta, media y baja, según las condiciones medioambientales de cada zona.

Se recolectaron las excretas de palomas de acuerdo a la técnica descrita en el estudio realizado por Curo et al. (6), a la cual se le realizaron modificaciones. Las muestras se recogieron en bolsas de polietileno de primer uso, las cuales fueron marcadas. Posteriormente, las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño. Para el procesamiento de las muestras se pesaron 30 g de cada muestra y se suspendieron en 30 ml de solución salina estéril al 0,85%. Cada muestra se homogenizó durante 15 min, luego se dejó decantar durante 30 min. Se tomó con el asa una muestra del sobrenadante y se sembró sobre agar Sabouraud dextrosa (ASD) con cloranfenicol (CAF) a razón de 0,1 g de CAF por litro de ASD. Se utilizó una temperatura de

incubación de 37°C durante 5 a 7 días (6, 9).

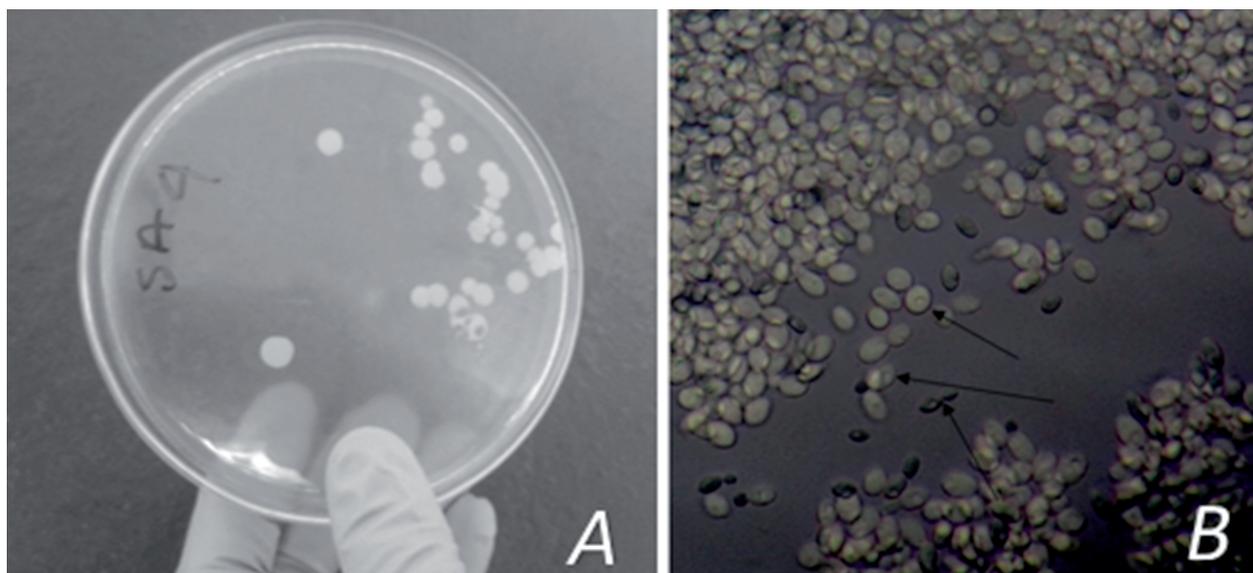
Se realizó un extendido de capa fina del cultivo donde hubo crecimiento del patógeno y se le agregó una gota del colorante tinta china. Posteriormente, se visualizó la lámina en el microscopio en un aumento de 40 a 100x (6, 9).

Las variables a analizar fueron: presencia de *C. neoformans* en heces de palomas, prevalencia de *C. neoformans* en las zonas de muestreo, características de la muestra y características de las áreas en las que se aisló el agente.

Para el análisis estadístico se empleó estadística descriptiva, determinando la participación porcentual del agente en la población y en cada zona en la que se realizó el muestreo. Se estimó la prevalencia (p) de *C. neoformans* en el casco urbano del municipio de Pasto mediante la fórmula: $p = \text{Número de zonas en donde se aisló el agente} / \text{Total de zonas en donde se realizó el muestreo} \times 100$. Para estimar una relación de dependencia entre el aislamiento de *C. neoformans* y la zona de muestreo, se utilizó la prueba no paramétrica de Chi-cuadrado a partir de tablas de contingencia estimando mediante riesgo relativo la probabilidad de encontrar el agente según las características de la muestra o de la zona. Para el análisis estadístico se empleó el software IBM SPSS Statistics 20.0 bajo licencia shareware.

RESULTADOS

Del total de muestras recolectadas, el 26,56% fueron positivas a *C. neoformans* (Figura 1).



A: Colonias de *Cryptococcus neoformans* en agar Sabouraud con cloranfenicol. B: Extendido de capa fina con tinción de tinta china (100x) en donde se observa la cápsula de polisacárido del hongo (flechas).

Figura 1. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans*.

Santiago Apóstol no se obtuvieron aislamientos del patógeno (Tabla 1).

El agente se aisló en 9 de 10 de las zonas en donde se realizó el muestreo, con una prevalencia de *C. neoformans* en heces de palomas en el casco urbano del municipio de Pasto del 90%.

Tabla 1. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en heces de palomas en el municipio de Pasto.

Iglesia / Zona	# muestras	Muestras positivas	Porcentaje (%)
San Felipe Neri	19	1	5,26
San Juan Bautista	7	5	71,42
Plaza Nariño	10	4	40
San Andrés	8	1	12,5
Catedral	15	2	13,33
San Sebastián	13	8	61,53
San Agustín	11	8	72,72
Santiago Apóstol	16	0	0
La Merced	11	4	36,36
Cristo Rey	18	1	5,55
Total	128	34	26,56

El 80% de las muestras tomadas no eran frescas y en su gran mayoría fueron tomadas secas, en exteriores, principalmente del suelo sin contaminación con ningún otro material.

El 70% de las muestras se encontraban expuestas a la luz y al medio ambiente. Se caracterizaron las zonas de muestreo con base en las variables relacionadas en la Tabla 2.

En la mayoría de las zonas la exposición a la luz, la circulación del aire y la permanencia de la excretas en el medio ambiente fueron altas. La humedad en la mayoría de las áreas de muestreo fue baja (60%). En el 30% de las áreas donde se realizó el muestreo se observaron mortalidades. A pesar de que la afluencia de personas y la densidad de palomas fueron altas, el contacto con las palomas fue bajo.

Tabla 2. Características de la muestra y de la zona de muestreo.

Variable	Característica	Porcentaje (%)
Lugar de muestreo	Exterior	70
	Interior	30
Lugar toma de la muestra	Tierra	20
	Estructura	30
	Suelo	50
Consistencia	Fresca	20
	No fresca	80
Humedad	Húmeda	40
	Seca	60
Contaminación de la muestra	Sola	60
	Con tierra y vegetales	30
	Con plumas	10
Exposición al ambiente	Expuesto	70
	No expuesto	30
Exposición a la luz	Alta	60
	Media	20
	Baja	20
Humedad de la zona	Alta	30
	Media	10
	Baja	60
Circulación del aire	Alta	70
	Media	10
	Baja	20
Afluencia de personas	Alta	50
	Media	20
	Baja	30
Densidad de palomas	Alta	50
	Media	20
	Baja	30
Contacto con palomas	Alta	30
	Media	30
	Baja	40
Contacto con excretas	Alta	40
	Media	20
	Baja	40
Permanencia de excretas	Alta	60
	Media	30
	Baja	10

Se encontró relación estadísticamente significativa entre la presencia del agente y las variables de la muestra en suelo ($p = 0,0025$), muestra fresca ($p = 0,004$), muestra húmeda ($p = 0,031$), muestra seca ($p = 0,001$), sin contaminación ($p = 0,01$), alta exposición

a la luz ($p = 0,016$), baja humedad de la zona ($p = 0,001$), y baja densidad de palomas ($p = 0,007$). En la Tabla 3 se observa la tabulación cruzada entre las características de la muestra y la zona de muestreo con la presencia/ ausencia de *Cryptococcus*.

Tabla 3. Tabulación cruzada de variables relacionadas con la muestra y zona de muestreo.

Muestra	Muestra en suelo		Muestra fresca		Muestra húmeda		Muestra seca		Excretas solas	
	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí
<i>Cryptococcus</i> No	37	57	12	82	61	33	33	61	38	56
<i>Cryptococcus</i> Sí	21	13	12	22	13	21	21	13	7	27
Zona de muestreo	Alta exposición a la luz		Baja humedad		Baja densidad de palomas					
	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí		
<i>Cryptococcus</i> No	50	44	61	33	52	42				
<i>Cryptococcus</i> Sí	9	25	13	21	31	3				

Posteriormente, se estimó la probabilidad de aislamiento del agente con base en tablas de contingencia (Tabla 4).

Tabla 4. Probabilidad de aislamiento del agente.

Variable = <i>Cryptococcus neoformans</i>	Valor	Intervalo de confianza al 95%	
		Superior	Inferior
Muestreo en suelo = No	1,586	1,004	2,505
Muestra fresca = No	1,348	1,038	1,748
Muestra húmeda = Sí	1,697	1,080	2,668
Muestra seca = No	0,568	0,388	0,832
Excretas solas = Sí	1,964	0,971	3,971
Alta exposición a la luz = Sí	0,637	0,474	0,875
Baja humedad = Sí	1,697	1,080	2,668
Baja densidad de palomas = No	5,064	1,679	15,269

De acuerdo a los resultados obtenidos, no se encontró el agente en 57 muestras tomadas del suelo. La probabilidad de no encontrar el agente es 1,58 veces mayor si la muestra es tomada del suelo, el cual consistía en pavimento o cerámica. El agente no se encontró en 82 muestras frescas. La posibilidad de no encontrar *C. neoformans* es

1,34 veces mayor si la muestra es fresca.

En 27 de 34 muestras en las que se aisló el agente, las excretas se tomaron solas sin ningún tipo de contaminación. La probabilidad de aislamiento es 1,96 veces mayor si las excretas están solas sin contaminación.

Se aisló el agente en zonas con alta exposición a la luz con una probabilidad 0,63 veces mayor, y en zonas de baja humedad con una probabilidad 1,69 veces mayor. De 34 muestras positivas, el agente se aisló en 25 muestras en las cuales la exposición a la luz fue alta y en 21 con humedad baja de la zona de muestreo.

Cuando la densidad de palomas es alta, la probabilidad de aislar el agente es 5 veces mayor. Solamente se aisló el agente en 3 muestras con zonas de baja densidad de palomas.

En la zona correspondiente a la iglesia de Santiago Apóstol no se obtuvieron muestras positivas a la presencia de *C. neoformans*. Las muestras recolectadas en esta zona provenían del suelo y estructura, eran secas, y no estaban contaminadas con otro tipo de material. En el estudio, la probabilidad de no encontrar el agente es 1,58 veces mayor si la muestra es tomada del suelo y 0,56 veces menor si la muestra es seca. Por esta razón, aunque no se encontraron muestras positivas en esta zona no se descarta la presencia del hongo en el ambiente.

DISCUSIÓN

El porcentaje de muestras en las que se aisló el agente en el presente estudio (26,56%), se encuentran dentro del rango de lo reportado por otros autores. Similar a lo reportado en lugares públicos de Santiago de Chile en donde se detectó la presencia del agente en el 26% de las muestras (7). Por encima de lo reportado en Cundinamarca (Colombia) en donde se aisló el agente en el 21% de excrementos de palomas (2), y por debajo a lo encontrado en 1996 en el perímetro urbano del municipio de Cali (Colombia) en donde se estableció la presencia del agente en el 46,3% en heces de palomas (10), y en 2001 en El Salvador, en donde se aisló el agente en el 36,5% de las muestras (11).

La prevalencia de *C. neoformans* en heces de palomas en el casco urbano del municipio de Pasto (Colombia) se estableció en el 90%, un resultado mayor en un 17% al reportado en pisos térmicos de Cundinamarca -Colombia- (73%) (2).

No existen estudios que establezcan las condiciones de muestreo adecuadas para determinar la presencia del patógeno. Esto puede atribuirse a la variabilidad de las condiciones o factores de cada zona geográfica, las cuales afectan el crecimiento del hongo.

La probabilidad de aislar el agente fue menor en muestras frescas. Algunos estudios establecen que este hongo no suele aislarse en deyecciones recientes y otros estudios no muestran diferencias significativas en la frecuencia de aislamiento entre los excrementos secos y los frescos, entendiendo como secos a las heces envejecidas, o incluso han aislado el microorganismo con más facilidad en heces frescas (4).

En el estudio, la probabilidad de encontrar *Cryptococcus* es mayor si la muestra es húmeda, similar a los aislamientos realizados en Cundinamarca (Colombia) en donde el 88% de los aislamientos fueron recuperados en el piso térmico frío, indicando que las condiciones ambientales relacionadas con precipitaciones y humedad relativa alta, pocas horas de brillo solar, y temperaturas poco extremas, pero en promedio altas, favorecen la ocurrencia y propagación del hongo en el ambiente (2).

La probabilidad de aislar el hongo en el estudio fue mayor si las excretas están solas sin ningún otro material. El hongo puede desaparecer cuando los detritos de estas aves se mezclan con el suelo y pocas veces se aísla de suelos orgánicamente enriquecidos (4). Por otro lado, la alta concentración de creatinina en el estiércol de estas aves favorece el crecimiento de los criptococos (4, 9, 12).

Se aisló el agente en zonas con alta exposición a la luz y en zonas de baja humedad. Actualmente se considera que la capacidad de las especies patógenas de *Cryptococcus* para producir pigmentos melanoides no solo les permite sobrevivir a la radiación solar, sino que además pueden llegar a utilizar las radiaciones como energía metabólica (4, 13, 14). La baja humedad de la zona o lugar de muestreo en el estudio fue una característica favorable para el aislamiento del hongo. Este hallazgo no concuerda con lo reportado por Baró en 2002, quien establece que el *Cryptococcus* se multiplica extremadamente bien en las heces de palomas que no se colocan directamente en la luz del sol, especialmente en un ambiente húmedo (15), ni con lo reportado por Casadevall et al. en 2003, quienes aseveran que el agente se encuentra frecuentemente en zonas poco iluminadas y húmedas previamente contaminadas con excreta de palomas (16).

En zonas de alta densidad de palomas se aisló el agente con mayor probabilidad. Lo anterior, debido a que la alta densidad de

palomas propicia la acumulación de excremento. Este hecho es sustentado por varias investigaciones que han demostrado que las deposiciones de paloma son un importante reservorio del microorganismo (4, 9, 15-17).

Cabe destacar que existe una mayor probabilidad de aislamiento cuando se acumulan excrementos de una alta población de palomas en un mismo lugar (4, 18). Con base en lo anterior, es importante evitar la acumulación de deyecciones de palomas y establecer las condiciones que favorecen el crecimiento del microorganismo, ya que si el grado de contaminación ambiental es elevado, puede convertirse en un peligro para la salud pública.

El estudio permitió establecer la presencia de *C. neoformans* en excretas de paloma en el municipio de Pasto (prevalencia del agente en el casco urbano del 90%) y permitió determinar las características particulares en la zona y la muestra que aumentan la probabilidad de aislamiento.

REFERENCIAS

1. Escandon P. Results of the national surveillance program for the years 2006-2010. *Biomédica* 2012; 32:387-398.
2. Quintero E, Castañeda E, Ruiz A. Distribución ambiental de *Cryptococcus neoformans* en el departamento de Cundinamarca - Colombia. *Rev Iberoam Micol* 2005; 22:93-98.
3. Pollock C. Fungal diseases of columbiformes and anseriformes. *North Am Vet Clin Exot Anim* 2003; 6:351-361.
4. Rosario I, Acosta B, Colom F. La paloma y otras aves como reservorio de *Cryptococcus* spp. *Rev Iberoam Micol* 2008; 25:13-18.
5. Evans E. Zoonotic diseases of common pet birds: Psittacine, Passerine, and Columbiform Species. *North Am Vet Clin Exot Anim* 2011; 14:457-476.
6. Curo M, Salinas M, Casquero J. *Cryptococcus neoformans* en excretas de palomas, suelo y aire de los palomares del perímetro urbano de Ica. *Rev Perú Med Exp Salud Pública* 2005; 22(4):262-266.
7. Arredondo C. *Cryptococcus neoformans* en heces de palomas recolectadas en lugares públicos de la ciudad de Santiago, Chile. [Tesis de Grado]. Santiago de Chile: Facultad de Medicina Veterinaria, Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Iberoamericana de Ciencias y Tecnología; 2006.
8. Pita F. Determinación del tamaño muestral. *Cad Aten Primaria* 1996; 3:138-144.
9. Xiaorong L. *Cryptococcus neoformans*: Morphogenesis, infection, and isolated. *Elsevier Genetics and Evolution* 2009; 9:404-424.

10. Caidedo L. *Cryptococcus neoformans* en excretas de palomas del perímetro urbano de Cali. Colombia Médica 1996; 27:106-109.
11. Ayala D, López F, Valencia R. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en muestras del ambiente contaminadas con excrementos de palomas en diferente zonas en el salvador. Minerva Revista en Línea CIC-UES 2011; 2(1):21-27.
12. Cabañes J. Micosis y Zoonosis: *Cryptococcus* spp. Rev Iberoam Micol 2008; 25:1-3.
13. Vergara C, Quilez J. Criptosporidiosis: Una zoonosis parasitaria. MVZ-Córdoba 2004; 9(1):363-372.
14. Castañeda E. En búsqueda del hábitat del *Cryptococcus* var. *gattii* en Colombia. Rev Acad Col Cienc Microb 2001; 25(94):105-114.
15. Baró M. Caracterización de los aislados de *Cryptococcus neoformans*. [Tesis Doctoral]. Barcelona: Departamento de Genética I Microbiología, Universidad Autónoma de Barcelona; 2002.
16. Casadevall A, Steenbergen J, Nosanchuk J. 'Ready made' virulence and 'dual use' virulence factors in pathogenic environmental fungi: The *Cryptococcus neoformans* paradigm. Curr Opin Microbiol 2003; 6(4):332-337.
17. Colom F, Alberdi M, Inmaculada M, Torres J. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en muestras de medio ambiente de Alicante. Rev Iberoam Micol 1997; 14:63-64.
18. Harlim R, Wade L. Bacterial and parasitic diseases of columbiformes. North Am Vet Clin Exot Anim 2009; 12:453-473.