

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**Especies de Cryptococcus en excretas de aves y sus
ambientes. Ayacucho, 2010-2011.**

**TESIS PARA OBTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGA.
CON MENCIÓN EN LA ESPECIALIDAD DE MICROBIOLOGÍA.**

PRESENTADO POR:

BACH. GUTIÉRREZ MÉNDEZ, ROSA VIRGINIA

AYACUCHO, PERÚ

2011

Para mis padres y mis hermanos.
Nadie me ha dado más afecto
ni un apoyo tan incondicional
como el que ustedes me han dado.
Los amo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, *alma máter* de mi formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, a sus profesores, personal administrativo y compañeros, por haber sido parte de mi formación académica y personal.

Al Centro Ecológico Recreacional y Experimental la "Totorilla", por haberme permitido muestrear en sus instalaciones.

Al personal profesional y técnico de Laboratorio de Patología Clínica del Hospital II Es Salud Huamanga, por su apoyo en la preparación de los medios de cultivo.

Al Mg. Serapio Romero Gavilán, por su apoyo y asesoramiento en la realización del trabajo de tesis y en la redacción del presente informe.

A la Biga. Lucía Ccorahua Taxi, encargada del Área de Microbiología del Hospital Regional de Ayacucho, por su invalorable colaboración.

A mis padres, hermanos y sobrinos, por la alegría que todos los días muestran al ver que me hago profesional.

A mis amigos y amigas, quienes contribuyeron en el desarrollo de la tesis.

Y en especial a Farha Emily, por ser la luz que guía mi camino, siempre estarás en mi corazón.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	
2.1 Antecedentes	4
2.2 Los hongos	8
2.3 Las levaduras	8
2.4 Los Cryptococcus	8
2.5 La criptococosis	10
2.6 Las aves	16
III. MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1 Ubicación de la zona de estudio	23
3.2 Población	23
3.3 Tamaño de muestra	24
3.4 Recolección de datos	24
3.4.1 Toma de muestra y siembra	24
3.4.2 Aislamiento de colonias	25
3.4.3 Identificación de las colonias	25
3.4.4 Identificación de la especie de Cryptococcus	27
3.4.5 Determinación de variantes	27
3.5 Diseño de investigación	27
3.6 Prueba estadística	28
IV. RESULTADOS	29
V. DISCUSIÓN	39
VI. CONCLUSIONES	46
VII. RECOMENDACIONES	47
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
ANEXOS	51

Especies de *Cryptococcus* en excretas de aves y sus ambientes.

Ayacucho, 2010-2011.

Autor: Gutiérrez Méndez, Rosa Virginia.

Asesor: Mg. Romero Gavilán, Serapio.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo conocer las especies de *Cryptococcus* existentes en las excretas de aves y sus ambientes, determinar la distribución de *Cryptococcus* y relacionarlos con las variables: especie del ave, lugar de muestreo, temperatura ambiental, humedad ambiental, aspecto de la excreta: seco, fresco, disposición de la excreta: tierra, pavimento. Ayacucho 2010-2011.

La investigación se realizó en el Laboratorio de Micología y Epidemiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH, durante los meses de octubre del 2010 hasta el mes de marzo del 2011, siendo del tipo Básica-Descriptiva. La población estuvo constituida por todas las aves de la ciudad. El tamaño de muestra fue de 216 excretas y 30 ambientes.

Las muestras de excreta se tomaron con espátulas estériles y conducidas en frascos con SSF al laboratorio donde fueron sembradas en Agar Sabouraud Dextrosa (ASD). Mientras que para los ambientes se empleó la técnica de exposición directa de placas con ASD, todas éstas fueron incubadas a 37 °C por 3 días. Con base a las características macroscópicas, microscópicas y pruebas bioquímicas y enzimáticas, se realizó la identificación de las especies de *Cryptococcus*.

Se aislaron 82 cepas de *Cryptococcus*, 51 identificadas como *C. neoformans* y 31 como *Cryptococcus spp.*, existiendo relación estadística entre las especies de *Cryptococcus* y la disposición de las excretas; mientras que características como: especie del ave, lugar de muestreo, temperatura ambiental, humedad ambiental, y aspecto de la excreta no se relacionan estadísticamente con las especies de *Cryptococcus*.

Cryptococcus neoformans y *Cryptococcus spp.* están distribuidos en diferentes aves y lugares, y la presencia de éstos están relacionados con la disposición de las excretas.

Palabras clave: *Cryptococcus*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus spp.*

I. INTRODUCCIÓN

Los criptococos son levaduras redondas u ovals (3-8 μm), que se reproducen por gemación única, poseen una cápsula de naturaleza polisacárida, crecen en los medios de cultivo formando colonias mucosas blanquecinas, tienen metabolismo aerobio, producen ureasa y utilizan varios hidratos de carbono. Las distintas especies de criptococos se diferencian entre sí por una serie de características: crecimiento a 37 °C, asimilación de la sacarosa, lactosa, galactosa, maltosa y rafinosa, utilización de KNO_3 y producción de ureasa y fenil-oxidasa (Brooks y col., 1999).

El género *Cryptococcus* incluye muchas especies, de las que solo *C. neoformans* se considera patógeno, aunque existen referencias en la literatura de otras especies (*Cryptococcus laurentii* y *Cryptococcus albidus*) que han producido enfermedad en humanos, especialmente en los inmunodeprimidos. Dentro de *Cryptococcus neoformans*, se diferencian dos variedades, *C. neoformans* var. *neoformans* se ha relacionado con la infección en los pacientes inmunodeprimidos, siendo de distribución mundial, mientras que el *C.*

neoformans var. *gattii* se ha descrito en infecciones de pacientes inmunocompetentes y su distribución está más restringida (Arenas, 2008).

El hábitat natural más importante son las heces de las palomas y el suelo contaminado por ellas y de otras aves (loros, papagayos, gallinas, etc.) A pesar de que las heces de paloma son la fuente más importante de infección, estos animales no padecen la enfermedad y la adquisición en el hombre es por vía respiratoria. La infección se adquiere por inhalación de las levaduras desecadas (<3 μm) existentes en la naturaleza (suspendidas en el aire), estas levaduras pueden mantenerse viables en excretas de aves durante largos periodos de tiempo. Por lo cual las deyecciones y los ambientes en los cuales se desarrollan las aves deben ser consideradas como factores de riesgo para la criptococosis (Brooks y col., 1999; Deacon, 1993 y Muller y Loeffler, 1976).

Los criptococos están implicados en enfermedades como la micosis sistémica que afecta el sistema nervioso central (Brooks y col. 1999).

Está claro, pues, que los pacientes con sida son el grupo de riesgo más importante, seguido de los trasplantes, pero existe otro grupo de pacientes distintos a los señalados anteriormente que podrían ser afectados (individuos debilitados por enfermedad de Hodgkin, leucemia, diabetes, sarcoidosis, colagenopatías, así como a sujetos en tratamiento con antibióticos, glucocorticoides o inmunosupresores, entre otros) (Brooks y col., 1999 y Conant y Baker, 1972).

Con el presente trabajo se pretende identificar las especies de *Cryptococcus* existentes en las excretas y ambientes de las aves, y relacionar la presencia de éstos con caracteres peculiares observados en el momento de la recolección de las muestras. Para lo cual se plantearon los siguientes objetivos.

OBJETIVO GENERAL.

- Conocer las especies de *Cryptococcus* existentes en las excretas de aves y sus ambientes. Ayacucho, 2010-2011.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Identificar las especies de *Cryptococcus* en excretas de aves. Ayacucho, 2010-2011.
- Identificar las especies de *Cryptococcus* en los ambientes de las aves. Ayacucho, 2010-2011.
- Determinar la distribución de *Cryptococcus* y relacionarlos con las características peculiares de cada ave (especie), y del ambiente en el cual anidan y pernoctan dichas aves (temperatura ambiental, humedad ambiental, aspecto de la excreta: seco, fresco, disposición de la excreta: tierra, pavimento y el lugar de muestreo). Ayacucho 2010-2011.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Ordóñez y Castañeda, 1994, Colombia, en su trabajo de investigación "Serotipificación de aislamiento clínico del medio ambiente de *Cryptococcus neoformans* en Colombia", de las 163 cepas que se aislaron entre 1972 a 1992; 127 (77.9%) fueron aislamientos de los 5 últimos años, 21 (12.9%) de de 1972-1984. Del medio ambiente aislaron 29 cepas de *Cryptococcus*; 1 de los 146 (0.86%) de muestras de tierra y 28 de las 52 (53.85%) muestras de excretas de palomas, no se obtuvo aislamientos de excretas de otras aves.

Sammann, 1994, Chile, en su trabajo titulado "*Cryptococcus neoformans* en accesos confinados y recintos hospitalarios de la Región Metropolitana de Chile", analizaron un total de 225 muestras de excretas de aves, de los cuales 81 muestras de deposiciones de palomas de recintos hospitalarios, expuestos a la lluvia, con la influencia directa de los rayos solares, resultaron todas estas negativas y de las 114 muestras de excretas protegidas provenientes del zoológico resultaron 35 de éstas positivas a *Cryptococcus neoformans*.

Maldonado y col., 2001, Venezuela, aislaron levaduras del género *Cryptococcus* de excretas de palomas, tales como *C. uniguttulatus*, *C. laurentii* y *C. albidus*. Entre las especies de *Candida* se aisló: *C. holmii*, *C. curvata*, *C. globosa*, *C.*

se encontraron muestras positivas en el piso térmico de páramo. La densidad poblacional en excrementos de paloma osciló entre 50 y $9,2 \times 10^6$, en eucaliptos entre 50 y 1×10^7 y en almendros fue 50 UFC/g. De los 104 aislamientos 31% fueron serotipo A, 59% serotipo B y 10% serotipo C. El 96% de los aislamientos crecieron a 37 °C y todos mostraron cápsula. En conclusión, *C. neoformans* se recuperó en tres de los cuatro pisos térmicos estudiados, con predilección por el piso térmico frío que presenta temperaturas entre 12 y 18°C y alturas sobre el nivel del mar entre 2.000 y 3.000 m. Las densidades poblacionales no permitieron definir un patrón estándar de ocurrencia.

Curo y col., 2002, Ica, en su investigación "*Cryptococcus neoformans* en excretas de paloma, suelo y aire de los palomares del perímetro urbano de Ica". Aislaron 26 cepas del género *Cryptococcus*, correspondiendo 9 (34,6%) a *C. neoformans var. neoformans* y 17 (65,4%) a *Cryptococcus spp.* No se encontraron diferencias en el aislamiento de *C. neoformans var. neoformans* a partir de excreta de paloma y suelo, siendo lo inverso con el ambiente aéreo.

Quicaño y col., 1996, Ayacucho, con el objetivo de determinar la "Frecuencia de *Cryptococcus neoformans* en heces, suelo y aire en viviendas con palomas domésticas (*Columba livia*) en Ayacucho", analizaron 180 muestras, de las cuales se aislaron 14 cepas (31,7%) de *Cryptococcus sp.* de muestras de heces de palomas, 41 cepas (68,3%) de otras levaduras, 9 cepas (15%) de *Cryptococcus sp.* en muestras de suelos contaminados con excrementos de paloma y 51 cepas (85%) de otras levaduras, de igual forma aislaron 7 cepas (11,7%) de *Cryptococcus sp.* a partir de las habitaciones de palomas y 53 cepas (88,3%) de otras levaduras.

Hurtado, 2007, Ayacucho, en su investigación "*Cryptococcus neoformans* en excretas de *Zenaida auriculada* "rabiblanca" a 2760-2740 m.s.n.m. Ayacucho", recolectó 260 muestras de excretas de "rabiblanca", de las diferentes zonas de

recolección, el 21.2% fueron positivos para *Cryptococcus neoformans*, y 78.8 negativo (otras levaduras), de la ciudad universitaria se obtuvo el 10.77% y del CERE 10.38%,

2.2 Los hongos

Son organismos eucarióticos, heterotróficos que se alimentan por absorción, presentan talo micelial, levaduriforme y pseudomicelial, las hifas muestran crecimiento apical, sus paredes celulares son rígidas y están formadas por quitina preponderantemente, celulosa, glucanos y mananos, se reproducen tanto sexual como asexualmente, pero en cualquier caso forman esporas como producto final (Alexopoulos, 1977; Deacon, 1993 y García y Pizarro, 2000).

2.3 Las levaduras

Crece en los medios de cultivo como colonias pastosas, que se reproducen por gemación o bien por fisión binaria, algunas tienen telemorfismo ascomicético o basidiomicético. Estos son hongos verdaderos y no difieren fundamentalmente de las formas miceliales. De hecho algunos pasan de la forma micelial a la de levadura y viceversa, en respuesta a los cambios ambientales. Estos hongos dimórficos que incluyen algunos patógenos del hombre presentan la forma micelial a temperaturas de 20 a 25 °C y la de levadura a 37°C (Alexopoulos, 1972 y Deacon, 1993).

2.4 Los Cryptococcus

2.4.1 Clasificación taxonómica

Reino	:	Fungi
División	:	Amastygomicota
Subdivisión	:	Deuteromycotina
Clase	:	Deuteromycetes

Sub clase	:	Blastomycetidae
Orden	:	Cryptococcales
Género	:	<i>Cryptococcus</i> (García y Pizarro, 2000).

2.4.2 Descripción

Cryptococcus, cuyo significado es "esfera oculta", es un género del reino fungi, son levaduras redondas u ovals (3-8 µm) que se reproducen por gemación. Las formas perfectas (sexuales) o teleomorfas de las especies de *Cryptococcus* son hongos filamentosos en el género *Filobasidiella*. El nombre *Cryptococcus* se usa al referirse a las formas imperfectas (estado de levadura) del hongo. Una cápsula polisacárida característica de espesor variable (1-30 micras) rodea a estas levaduras. En su medio natural, la cápsula es más delgada y la levadura más pequeña, mientras que son más gruesas cuando están infectado Tejidos (<http://es.wikipedia.org/wiki/Cryptococcus/>).

Hay alrededor de 37 especies reconocidas de *Cryptococcus*, pero la taxonomía del grupo está siendo reevaluada con métodos más actualizados. Entre las especies podemos mencionar (<http://es.wikipedia.org/wiki/Cryptococcus/>):

- Cryptococcus aerius* (Saito) Nann.;
- Cryptococcus albidus* (Saito) C.E. Skinner;
- Cryptococcus aquaticus* (E.B.G. Jones & Slooff) Rodr. Mir. & Weijman;
- Cryptococcus curvatus* (Diddens & Lodder) Golubev;
- Cryptococcus diffluens* (Zach) Lodder & Kreger-van Rij;
- Cryptococcus dimennae* Fell & Phaff;
- Cryptococcus flavus* (Saito) Á. Fonseca, Boekhout & Fell;
- Cryptococcus gastricus* Reiersöl & di Menna;
- Cryptococcus gattii* (Vanbreus. & Takashio) Kwon-Chung & Boekhout;
- Cryptococcus laurentii* (Kuff.) C.E. Skinner;
- Cryptococcus luteolus* (Saito) C.E. Skinner;
- Cryptococcus macerans* (Freder.) Phaff & Fell;
- Cryptococcus magnus* (Lodder & Kreger-van Rij) Baptist & Kurtzman;

Cryptococcus neoformans (San Felice) Vuill.;
Cryptococcus oeirensis Á. Fonseca, Scorzetti & Fell;
Cryptococcus podzolicus (Babeva & Reshetova) Golubev;
Cryptococcus skinneri Phaff & Carmo Souza;
Cryptococcus terreus Di Menna;
Cryptococcus victoriae M.J. Montes et al.

Entre estos, *Cryptococcus neoformans* es la especie Más patógena para los seres humanos.

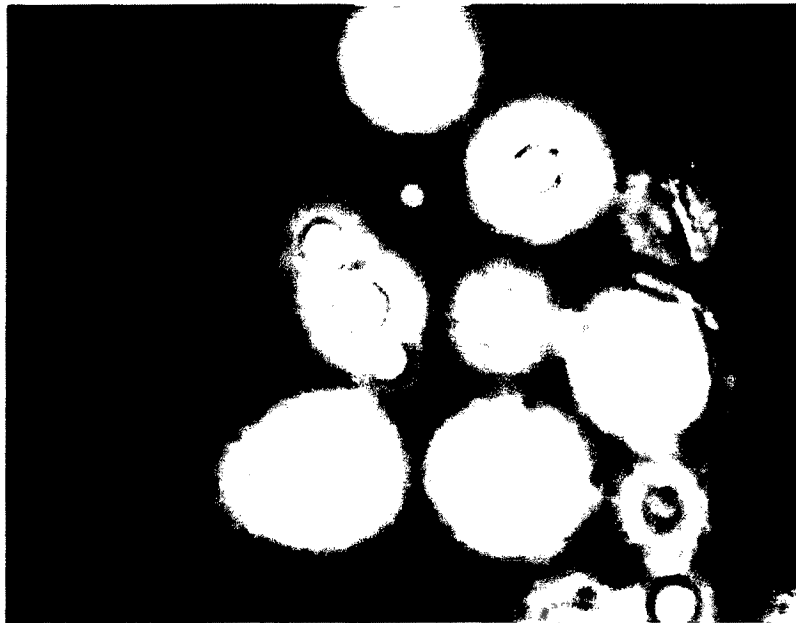


Figura Nº 01: *Cryptococcus neoformans* (Tinta China)

<http://es.wikipedia.org/wiki/Cryptococcus/>.

2.4.3 Hábitat

Cryptococcus suele encapsularse; la levadura se encuentra en el tubo digestivo de aves, en el suelo contaminado con excrementos de las palomas y otras aves o los árboles de eucalipto y madera en descomposición (García y Pizarro, 2000).

2.5 La Criptococosis

2.5.1 Definición

La criptococosis es una micosis pulmonar aguda, subaguda o crónica, sistémica o meníngea causada por *Cryptococcus neoformans* (vars. *neoformans* y *gattii*).

La forma pulmonar es generalmente transitoria, leve y no reconocida. Las lesiones cutáneas, óseas o viscerales pueden presentarse durante la

diseminación de la enfermedad, pero la inclusión del sistema nervioso central con meningitis subaguda o crónica es la forma más familiar de la micosis (Arenas, 2008; Brooks y col., 1999; Conant y Baker, 1972 y Koneman y Roberts, 1987).

Aunque el hongo tiene una amplia distribución mundial y se encuentra de manera abundante en la naturaleza, solamente causa enfermedad grave en personas con resistencia inmunológica muy baja. En la actualidad, la incidencia de las infecciones por *C. neoformans* es paralela a la presentada por el SIDA (Arenas, 2008; Brooks y col., 1999; Conant y Baker, 1972 y Koneman y Roberts, 1987).

2.5.2 Epidemiología

En cuanto a frecuencia, la criptococosis es esporádica y aún cuando puede ocurrir en pacientes aparentemente inmunocompetentes, su presencia está íntimamente ligada a personas con deficiencias en el sistema inmunitario (Arenas, 2008; Brooks y col., 1999; Conant y Baker, 1972; Koneman y Roberts, 1987 y Maldonado y col., 2001).

a) Incidencia diferencial. No hay diferencias marcadas relacionadas a la edad, raza u ocupación en la frecuencia de la criptococosis. La micosis es más frecuente en hombres que en mujeres (3:1) (Arenas, 2008; Brooks y col., 1999; Conant y Baker, 1972; Koneman y Roberts, 1987 y Maldonado y col., 2001).

b) Vía de infección. Es aérea, las partículas infecciosas penetran al hospedero a través de la inhalación. Excepcionalmente, se presentan casos cutáneos primarios, ocasionados por la entrada del agente mediante una solución de continuidad (Arenas, 2008; Brooks y col., 1999; Conant y Baker, 1972; Koneman y Roberts, 1987 y Maldonado y col., 2001).

c) Fuentes naturales y distribución geográfica. *C. neoformans* var. *neoformans* tiene una distribución mundial amplia. Se ha 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 aviares (pericos, loros, canarios) y especialmente con excrementos de palomas. Por otro lado, los aislamientos ambientales de *C. neoformans* var. *gattii*, han establecido que esta variedad tiene una asociación ecológica estrecha con algunas especies de árboles de eucalipto como *Eucalyptus camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. rudis* y *E. gomphocephala*.

La criptococosis tiene una distribución geográfica amplia. Los casos causados por la var. *neoformans* predominan en lugares de clima templado. Por otra parte, los casos provocados por la var. *gattii* predominan en países de clima tropical y subtropical.

Se ha apreciado una estrecha relación entre las cepas var. *neoformans* en pacientes con SIDA y las cepas var. *gattii* con pacientes inmunocompetentes (Arenas, 2008; Brooks y col., 1999; Conant y Baker, 1972; Koneman y Roberts, 1987 y Maldonado y col., 2001).

2.5.3 Agentes etiológicos

Existen alrededor de 37 especies conocidas, pertenecientes al género *Cryptococcus*; aunque han sido registrados casos raros provocados por *Cryptococcus albidus*, *C. laurentii* y *C. uniguttulatus*, formalmente se reconoce a *C. neoformans* como el agente etiológico de los casos de criptococosis humana. *C. neoformans* es la única especie que crece bien a 37°C, pero temperaturas arriba de 40°C lo inhiben (Arenas, 2008 y Brooks y col., 1999).



Figura N° 02: *Cryptococcus neoformans*. Levaduras encapsuladas.
<http://es.wikipedia.org/wiki/Cryptococcus/>.

Figura N° 03: *Cryptococcus albidus*.
<http://es.wikipedia.org/wiki/Cryptococcus/>.

2.5.4 Factores de virulencia

Las características que más se han estudiado en *C. neoformans* son la presencia de la cápsula polisacárida y la producción de melanina. El polisacárido capsular puede: Inhibir la producción de ciertas linfocinas provocando respuestas tanto celular como humoral muy débiles, enlazar e inmovilizar parcialmente a los anticuerpos dirigidos contra la pared celular y la cápsula del hongo y además, enmascarar a los anticuerpos.

La presencia de la melanina funciona como un escudo que protege al hongo contra: los anticuerpos del hospedero, agentes oxidantes y la anfotericina B (Brooks y col., 1999; Conant y Baker, 1972 y Pumarola y col., 1999).

2.5.5 Fisiopatogenia

Al entrar por las vías respiratorias altas, el hongo coloniza el árbol bronquial, y la evidencia sugiere que la criptococosis inicia como una enfermedad pulmonar con diseminación a la piel, huesos, vísceras abdominales y particularmente hacia el sistema nervioso central.

Generalmente, las lesiones pulmonares sanan espontáneamente y son

asintomáticas (Brooks y col., 1999; Conant y Baker, 1972 y Pumarola y col., 1999).

2.5.6 Formas clínicas

a) **Criptococosis pulmonar.** Generalmente, las lesiones pulmonares se encapsulan y sanan. La criptococosis pulmonar crónica ha sido reportada ocasionalmente. Los signos clínicos no son específicos, pero como principales signos y síntomas se presentan: tos y escaso esputo mucoso con o sin hemoptisis, febrícula, malestar general y pérdida de peso (Conant y Baker, 1972).

b) **Criptococosis del sistema nervioso central (SNC).** Las manifestaciones corresponden a una meningitis, meningoencefalitis o lesiones focales con cefalea intermitente y severidad incrementada. Aunque el resultado usualmente es insidioso y el curso crónico, el paciente puede desarrollar súbitamente vértigo, cefalea frontal severa, temporal o postorbital y vómito. El curso agudo y severo puede indicar la presencia de lesiones cerebrales de rápida diseminación. Las manifestaciones corresponden a las de una lesión intracraneal extensa o meningitis cerebroespinal con fiebre elevada, rigidez de nuca y sensibilidad. El paciente puede estar irritable o apático, incoherente o comatoso y anorético, sin pérdida de peso aparente. Los reflejos de rótula y talón pueden estar disminuidos pero algunos pacientes muestran hiperreflexia. Puede estar presente papiledema importante que requiere de frecuentes drenajes espinales para prevenir un daño óptico irreversible. Pueden ocurrir ambliopía, diplopía, estrabismo, nistagmus, fotofobia, neurorretinitis, hemorragia retinal y atrofia del nervio óptico. La duración de la criptococosis del SNC varía de pocos meses a 15 - 20 años, aunque el curso usual es rápido y marcado por una deterioración progresiva. En la mayoría de los casos crónicos, hay períodos de remisión y eventualmente se presenta la recurrencia a la enfermedad progresiva (Conant y

acumulan el alimento. El estómago presenta una parte encargada de segregar jugo gástrico —el estómago glandular—, y una molleja con grandes paredes musculares, cuya función es trituradora. El intestino arranca de esta molleja y desemboca en la cloaca. El hígado y el páncreas vierten sus jugos, por sendos conductos, en la primera parte del intestino, o duodeno (<http://w.w.w.aparato digestivo de las aves.com./estudio/>).

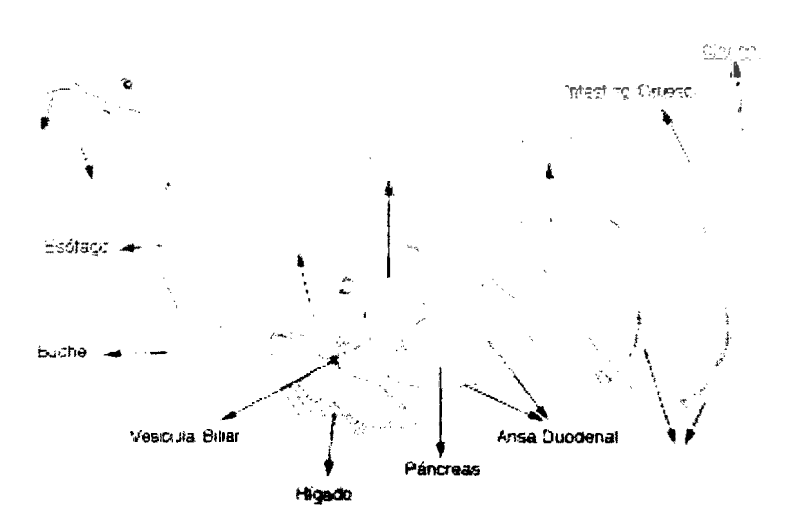


Imagen N°: 04. Sistema digestivo de las aves. <http://w.w.w.aparato digestivo de las aves.com./estudio/>.

2.6.1 Orden: Galliformes

Son aves neognatas, que cuenta con 283 especies. Incluye las gallinas, perdices, pavos, pintadas y chachalacas, entre otros. Son principalmente aves terrestres, de picos y patas fuertes. Son malos voladores, limitándose su vuelo a planeos cortos y de escasa elevación. Habitan en la mayor parte de los continentes, a excepción de las regiones más áridas y los hielos perpetuos (<http://w.w.w. Birdife International. 2009>).

a) Gallos

Reino : Animalia
 Filo : Chordata

Clase : Aves
Orden : Galliformes
Familia : Phasianidae
Género : Gallus
Especie : *Gallus gallus*

Nombre vulgar: "gallo"

2.5.2 Orden: Columbiformes

Son aves neognatas que incluye las palomas, tórtolas y formas afines, que son aves compactas, con alas amplias, redondas y poderosas; pico, patas y cuello cortos. Varían en peso desde 30 gramos hasta 3 kilogramos (<http://w.w.w. Birdife International. 2009>).

a) Paloma doméstica

Reino : Animalia
Filo : Chordata
Clase : Aves
Orden : Columbiformes
Familia : Columbidae
Género : Columba
Especie : *Columba livia*

Nombre vulgar: "paloma doméstica" (<http://w.w.w. Birdife International. 2009>).

b) Rabiblanca

Familia : Columbidae
Género : Zenaida
Especie : *Zenaida auriculata*

Nombre vulgar: "rabiblanca" (<http://w.w.w. Birdife International. 2009>).

2.5.3 Orden: Psittaciformes

Son un orden de aves que incluye aproximadamente 86 géneros con 353 especies que se encuentran en las zonas más tropicales. Se divide en dos familias: las Cacatuidae o cacatúas y las Psittacidae o papagayos.

Todos los miembros del orden tienen como característica común la forma encorvada del pico, con el maxilar superior con movilidad reducida en la juntura con el cráneo y una posición generalmente erguida (<http://w.w.w. Birdife International. 2009>).

Habitano principalmente las partes calurosas del mundo, como la India, el sudeste de Asia y el oeste de África. El mayor número de especies de loros ahora está en Australasia, Sudamérica y Centroamérica (<http://w.w.w. Birdife International. 2009>).

a) Perico australiano

Reino : Animalia
Filo : Chordata
Clase : Aves
Orden : Psittaciformes
Familia : Psittacidae
Género : Melopsittacus
Especie : *Melopsittacus undulatus*

Nombre vulgar: "perico australiano" (<http://w.w.w. Birdife International. 2009>).

b) Loro frentirrojo

Familia : Psittacidae
Género : Aratinga
Especie : *Aratinga mitrata*

Nombre vulgar: "loro frentirrojo" (<http://w.w.w. Birdife International. 2009>).

c) Guacamayo dorado

Familia : Psittacidae
Género : Ara
Especie : *Ara rubrogenys*

Nombre vulgar: "guacamayo dorado" (<http://w.w.w. Birdife International. 2009>).

d) Guacamayo rojo

Familia : Psittacidae
Género : Ara
Especie : *Ara chloropterus*

Nombre vulgar: "guacamayo rojo" (<http://w.w.w. Birdife International. 2009>).

e) Guacamayo escarlata

Familia : Psittacidae
Género : Ara
Especie : *Ara macao*

Nombre vulgar: "Guacamayo escarlata" (<http://w.w.w. Birdife International. 2009>).

2.7 Las aves y los Cryptococcus

El papel de la paloma como portadora de hongos patógenos fue establecido por Emmons en 1955, el cual aisló *C. neoformans* de las 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. Estudios posteriores realizados por el propio Emmons y por otros investigadores muestran que las excreciones viejas de palomas son la fuente conocida más abundante de dicho microorganismo.

Según algunos autores, este hongo no suele aislarse en deyecciones recientes, pero sí en las acumuladas y secas existentes en palomares, aleros de edificios, áticos o balcones de casas abandonadas donde duermen las palomas. Este hábitat desecado, alcalino, rico en sales y nitrógeno, es ecológicamente

restrictivo pero no es infrecuente en el medio ambiente urbano. Parece que la alta concentración de creatinina en el estiércol de paloma favorece el crecimiento de los criptococos, pero, además, las heces de pichón, brindan otras características: ambiente alcalino, hiperosmolar y rico en muchos compuestos nitrogenados, además de la creatinina.

Se ha estimado que la permanencia de la levadura en deyecciones de palomas a la sombra, húmedas o desecadas, puede ser de hasta más de dos años. Aunque hasta hace poco se consideraba que la exposición directa al sol destruía el hongo o inhibía su crecimiento, actualmente parece que la capacidad de las especies patógenas de *Cryptococcus* para producir pigmentos melanoides no sólo les permite sobrevivir a la radiación solar, sino que pueden llegar a utilizar las radiaciones como energía metabólica. Este hecho, posiblemente, les permite sobrevivir hasta que los excrementos se convierten en polvo. El polvo vehicula levaduras de solo 1-2 micras de diámetro y acapsuladas, lo que les permite alcanzar fácilmente el espacio alveolar al ser inhaladas.

Además de las características propias de las heces de las aves, otros factores pueden determinar la probabilidad de encontrar a esta levadura en las excreciones de palomas.

Sin embargo, es frecuente que los autores concluyan que, si bien la paloma es portadora de *C. neoformans*, estas aves no deben considerarse reservorios de la misma. Como hemos visto, el hábitat principal de *C. neoformans* es el suelo contaminado con deyecciones de paloma, pero también se ha aislado de nidos de otros pájaros y de excreciones de otras aves. Muchos de ellos muestran el aislamiento de *C. neoformans* y otros criptococos, tanto de muestras de excreciones como de buche o cloaca de las aves, mientras que en otros, a veces realizados con las mismas especies, apenas si se detecta la levadura. Esto sugiere que deben existir factores independientes de la propia composición de

las heces o de la temperatura y condición del tubo digestivo de las aves, que influyen decisivamente en la presencia y persistencia de la levadura en este entorno.

El primer caso de criptococosis humana directamente atribuido al contacto con excreciones de palomas fue documentado por Littman en el año 1959. En los estudios realizados para la búsqueda de cepas del complejo *C. neoformans*, algunos autores describen la presencia de otras especies de *Cryptococcus*, con valoraciones diversas acerca de la importancia de este hallazgo. Las especies descritas incluyen *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus uniguttulatus*, *Cryptococcus humiculus*, *Cryptococcus curvatus* y *Cryptococcus adeliensis*. *C. laurentii* ha sido aislado de excrementos de diferentes especies aviares tales como lechuzas, martín pescador, loros, y gallinas enfermas y sanas; este último trabajo llega a la conclusión de que el confinamiento de estas aves puede ser una potencial fuente de contagio para el personal relacionado con la industria avícola que presente alterado su sistema inmune (Rosario y col., 2008).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

Los distritos de la provincia de Huamanga del departamento de Ayacucho se ubican en la Sierra Central del territorio peruano, en una altitud de 2760 m.s.n.m. con unos metros de variante en zonas específicas (Ramírez, 1998).

Las localidades se ubican en la zona de vida denominada estepa espinosa Montano Bajo Subtropical (ee-MBS). La biotemperatura media anual máxima es de 17 °C y la media anual mínima 12.8 °C. El promedio máximo de precipitación total por año es de 590mm y el promedio mínimo 216mm. La humedad relativa está tipificada como provincia húmeda: semi árida (Ramírez, 1998).

LUGAR DE MUESTREO

Los lugares de muestreo fueron determinados por conveniencia, debido a que son lugares muy frecuentados y a su vez son habitados por las aves en estudio. Se abarcó sólo algunos distritos de la Ciudad Metropolitana de Ayacucho, entre éstos Jesús de Nazareno y Ayacucho. Dentro del lugar de estudio se aplicó el muestreo probabilístico a las excretas y los ambientes (Córdova, 2002; Moya, 1988 y Wayne, 1991).

3.2 POBLACIÓN

Estuvo constituida por todas las aves de la ciudad de Ayacucho, 2010-2011.

3.2.1 Criterios de inclusión

- Excretas de las aves de las órdenes Psittaciformes, Galliformes y Columbiformes de la ciudad de Ayacucho, 2010-2011.
- Ambientes (lugares donde las aves anidan, pernoctan y se acumulan las excretas, ya sean creadas por las mismas o habilitadas por el hombre) de las aves de las órdenes en estudio de la ciudad de Ayacucho, 2010-2011.

3.2.2 Criterios de exclusión

- Excretas de aves de otras órdenes.
- Ambientes de aves de otras órdenes y los de difícil acceso de las aves incluidas en el estudio.

3.3 TAMAÑO DE MUESTRA

El tamaño de muestra se determinó por el método de estimación de proporciones de una población, donde $p=0.20$ y $q=0.8$. Con $E=0.05$. (Córdova, 2002; Moya, 1988 y Wayne, 1991)

$$n = \frac{Z^2 pq}{E^2} \quad n = \frac{(1.96)^2 (0.2) (0.8)}{(0.05)^2} \quad n=246$$

3.4 RECOLECCIÓN DE DATOS

3.4.1 Toma de muestra y siembra

La recolección de las muestras se realizó en las primeras horas de la mañana, durante los meses de diciembre del 2010 y enero del 2011; con la ayuda de espátulas estériles (para evitar contaminaciones cruzadas) se recogió las excretas de las aves a frascos estériles debidamente rotulados (especificando lugar, hora y fecha) los cuales fueron trasladados al Laboratorio donde fueron procesados (Arenas, 2008 y Cedric y col., 1995).

A partir de la muestra de excreta (seca o fresca) de determinada ave, recogida en frascos estériles con 5 mL de solución salina fisiológica estéril, se hizo una suspensión que se llevó a un volumen final de 15 mL, las muestras fueron

homogenizadas agitándolas vigorosamente durante 15 minutos, luego, se las dejó reposar durante 30 minutos, transcurrido el periodo se tomó una alícuota del sobrenadante con la ayuda de un asa de kolle en condiciones estériles y se sembró por la técnica de agotamiento sobre una placa con Agar Sabouraud Dextrosa (ASD) con cloranfenicol, el cual se incubó a 37°C por 3 a 5 días. De igual manera se expuso la placa de petri con Agar Sabouraud Dextrosa más cloranfenicol, en el ambiente natural del ave, por un espacio de 10 minutos, transcurrido el periodo fue incubado a 37 °C por 3 a 5 días (Arenas, 2008 y Cedric y col., 1995).

3.4.2 Aislamiento de las colonias

Cultivo puro

Observadas colonias mucoides, brillantes, de un color blanco amarillento, poco elevadas y de bordes continuos sobre el ASD; se repicaron en tubos de prueba con ASD (más cloranfenicol) para la identificación correspondiente (Guevara y col., 2007).

3.4.3 Identificación de las colonias

A) Observación macroscópica

Se tomó en cuenta todos los caracteres morfológicos culturales tales como: forma, aspecto, color, consistencia, tamaño, estructura, pigmento, reverso, etc. (Guevara y col., 2007).

B) Observación microscópica

Se observó levaduras redondas de 7 a 15 μm de diámetro, en algunos casos se observaron blastoconidias. Su principal característica fue la de presentar una cápsula que la circundaba, visible al examen directo con la tinta china (Guevara y col., 2007).

C) Identificación mediante criterios bioquímicos y enzimáticos

C.1 Asimilación de carbohidratos

Los patrones de asimilación de azúcares (glucosa, lactosa, sacarosa, maltosa, galactosa y rafinosa) permitieron identificar las diferentes especies (Guevara y col., 2007).

Procedimiento

Se utilizó el medio base para azúcares con el azúcar determinado, en el cual se inoculó una asada de la levadura en estudio. Los medios se incubaron a 37 °C durante 24 horas en condiciones anaerobias.

Interpretación:

Positivo: viraje del color del medio de cultivo hacia el amarillo.

Negativo: no se produce viraje de color, permaneciendo el color del medio de cultivo en verde o azulado.

C.2 Producción de ureasa

Se basa en la capacidad de producir la enzima ureasa, la cual desdobla la urea en dióxido de carbono y amonio, incrementando el pH del medio y produciendo un cambio de color rojo– púrpura en el indicador rojo de fenol (Guevara y col., 2007).

Procedimiento

Se utilizó el medio de Christensen, en el cual se inoculó una asada de la levadura en estudio. Los medios se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

Interpretación

La prueba se consideró positiva cuando se alcalinizó el medio, lo que produjo un cambio de color original (amarillo) a rosa o rojo.

C.3 Prueba de reducción del nitrato

La capacidad que tienen algunas cepas de levaduras de producir nitritos a partir de nitratos (presencia de enzima nitrato reductasa Sc.) (Guevara y col., 2007).

Procedimiento

Se utilizó el medio caldo nitrato, en el cual se inoculó una asada de la levadura en estudio. Los medios se incubaron a 37 °C durante 24 horas en condiciones anaerobias.

Interpretación

Se agregó 2 gotas del reactivo A (Ácido Sulfanílico + Ácido Acético) más 2 gotas del reactivo B (alfa naftilamida + Ácido Acético), la aparición de un color rojo grosella nos indicó positividad a la prueba.

3.4.4 Identificación de las especies de *Cryptococcus*

Se realizaron las siguientes pruebas:

Morfología de la colonia, Tinción negativa con tinta china, tolerancia a la temperatura de 37°C, prueba de la ureasa, asimilación de carbohidratos: glucosa, lactosa, sacarosa, galactosa, maltosa y rafinosa, reducción rápida del nitrato (Arenas, 2008; Guevara y col., 2007 y Muller y Loeffler, 1976).

3.4.5 Determinación de variantes

La determinación de las variantes como son: aspecto de la excreta, disposición de éstas y el lugar de muestreo; fueron determinadas por observación, mientras que la especie del ave se determinó siguiendo claves taxonómicas y la temperatura y humedad ambiental se tomaron con la ayuda de un termómetro digital; todos estos datos fueron registrados en una ficha adjunta al anexo.

3.5 Diseño de investigación

No experimental. Tipo de investigación: Básica – Descriptiva

3.6 Prueba estadística

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante la elaboración de cuadros de distribución de frecuencias, porcentajes y se les aplicó la prueba de Ji cuadrado.

IV. RESULTADOS

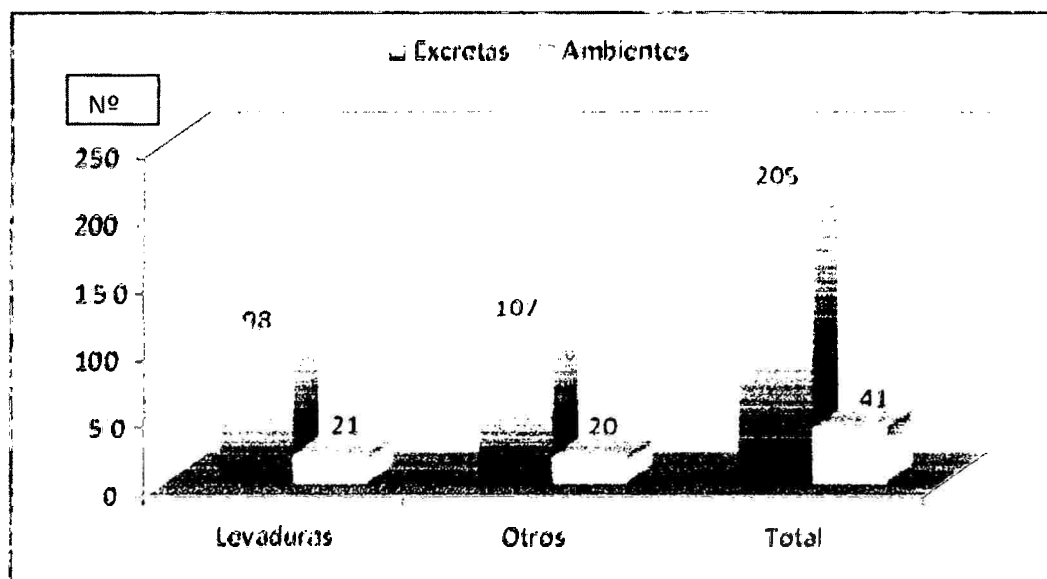


Gráfico 01: Frecuencia de levaduras y otras colonias aisladas de excretas de aves y sus ambientes. Ayacucho. 2010-2011.

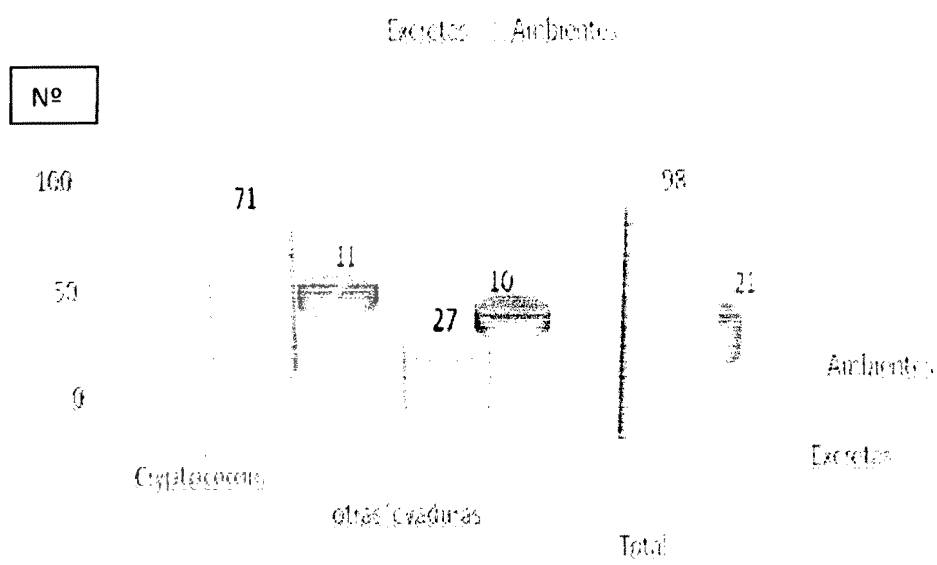


Gráfico 02: Frecuencia de *Cryptococcus* y otras levaduras aisladas de excretas de aves y sus ambientes. Ayacucho. 2010-2011.

Tabla 01: Frecuencia de especies de *Cryptococcus* aisladas de excretas de aves y sus ambientes. Ayacucho. 2010-2011.

Especies de <i>Cryptococcus</i>	Excretas		Ambientes		Total
	n	%	n	%	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	46	56.1	5	6.1	51
<i>Cryptococcus spp.</i>	25	30.5	6	7.3	31
Total	71	86.6	11	13.4	82

$$\alpha = 0.05, X^2_c = 1.443, X^{2t} = 3.841.$$

Tabla 02: Frecuencia de especies de *Cryptococcus* con relación al aspecto de la excreta de las aves. Ayacucho. 2010-2011.

Especies de <i>Cryptococcus</i>	Aspecto de la excreta				Total
	Seco		Fresco		
	n	%	n	%	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	40	56.3	6	8.5	46
<i>Cryptococcus spp.</i>	24	33.8	1	1.4	25
Total	64	90.1	7	9.9	71

$$\alpha = 0.05, X^2_c = 1.6, X^2 = 3.841.$$

Tabla 05: Frecuencia de especies de *Cryptococcus* con respecto a la humedad ambiental. Ayacucho. 2010-2011.

Especies de <i>Cryptococcus</i>	Humedad ambiental				Total
	H1		H2		
	n	%	n	%	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	49	59.8	2	2.4	51
<i>Cryptococcus spp.</i>	30	36.6	1	1.2	31
Total	79	96.3	3	3.7	82

Donde: H1: 15-19%. H2: 20-24%.

$$\alpha = 0.05, X^2_c = 0.0145, X^2_{\text{f}} = 3.841.$$

Tabla 06: Frecuencia de especies de *Cryptococcus* con relación a la especie del ave. Ayacucho. 2010-2011.

Especies de <i>Cryptococcus</i>	Especie del ave												Total				
	<i>Gallus gallus</i>		<i>Columba livia</i>		<i>Zenaidura macroura</i>		<i>Melospiza undulata</i>		<i>Aratinga mitrata</i>		<i>Ara rubrocapillus</i>			<i>Ara chloropterus</i>			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		n	%		
<i>Cryptococcus neoformans</i>	7	8.5	3	39.0	3	3.7	3	3.7	2	2.4	1	1.2	1	1.2	2	2.4	5
<i>Cryptococcus spp.</i>	1	1.2	1	18.3	5	6.1	1	1.2	2	2.4	1	1.2	3	3.7	3	3.7	3
Total	8	9.8	4	57.3	8	9.8	4	4.9	4	4.9	2	2.4	4	4.9	5	6.1	8

$$\alpha = 0.05, X^2_c = 9.423, X^{2l} = 14.067.$$

Tabla 07: Frecuencia de especies de *Cryptococcus* con relación al lugar de muestreo. Ayacucho. 2010-2011.

Especies de <i>Cryptococcus</i>	Lugares de muestreo								
	Centro de la ciudad		Ciudad universitaria		CERE		Granja X		Tot al
	n	%	n	%	n	%	n	%	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	4	4.9	2	2.4	3	46	7	8.5	51
<i>Cryptococcus spp.</i>	7	8.5	4	4.9	1	23	1	1.2	31
Total	11	13.4	6	7.3	5	69	8	9.8	82

$\alpha = 0.05$, $X^2_c = 7.66$, $X^{2t} = 3.841$.

los ambientes; y 31 pertenecientes a la especie *Cryptococcus spp*, 25 obtenidas de excretas y 6 de los ambientes. (Tabla 01). $\alpha=0.05$, $X^2_c=1.443$.

Se obtuvo un mayor número de aislamientos de las excretas secas (64); 40 identificadas como *C. neoformans* y 24 como *Cryptococcus spp*, en comparación a las excretas frescas (7), 6 de *C. neoformans* y 1 de *Cryptococcus spp*. (Tabla 02). $\alpha=0.05$, $X^2_c=1.6$.

Tomando en cuenta la disposición de las excretas de las diferentes aves en estudio; 56 aislamientos fueron obtenidos de lugares tipificados como: tierra, 42 de *C. neoformans* y 14 de *Cryptococcus spp*, mientras que tan solo 15 fueron aislados de lugares pavimentados, 4 *C. neoformans* y 11 *Cryptococcus spp*. (Tabla 03). $\alpha=0.05$, $X^2_c=12.1$.

La temperatura N°2 (20-24°C) y humedad N°1 (15-19%) ambiental registradas al momento del muestreo de las excretas y los ambientes de las aves en estudio, se mostraron más favorables, para el aislamiento de cepas de *Cryptococcus* pues la frecuencias obtenidas fueron de 81 y 79 respectivamente (Tabla 04 y 05) en comparación a la temperatura N°1 y humedad N°2 (15-19°C y 20-24%) con la que solo se obtuvo 1 y 3 aislamientos. (Tabla 04 y 05). $\alpha=0.05$, $X^2_c=0.0145$.

El Ji Cuadrado muestra no significancia estadística $\alpha=0.05$, $X^2_c=9.423$. Entre la especie del ave y las especies de *Cryptococcus*; en nuestro trabajo se obtuvieron aislamientos en muestras de *Columba livia*, 47, seguido de *Gallus gallus* y *Zenaida auriculata*, 8, el *Ara macao*, 5, el *Melopsittacus undulatus*, *Aratinga mitrata* y *Ara chloropterus* con 4 y el *Ara rubrogenys* con 2 (Tabla 06).

El lugar de muestreo en el que se obtuvo mayor número de cepas de *Cryptococcus* fue el Centro Ecológico Recreacional y Experimental "La Totorilla", CERE, con 57 aislamientos, seguido por el Centro de la Ciudad, constituido a su vez por la Plaza Mayor, la Iglesia Paula, la Iglesia San Agustín, el local Garcilazo De La Vega de La UNSCH y la Catedral, con 11, la Granja "X" 8 y la Ciudad

Universitaria (constituido por la E.F.P. de Farmacia y Bioquímica, E.F.P. de medicina Veterinaria y el frontis del Cafetín universitario) con 6 (Tabla 07). $\alpha=0.05$, $X^2_c=7.66$.

Diversos trabajos de investigación en temas relacionados al nuestro, nos muestran resultados concordantes y aproximados a los obtenidos en éste. De éstos trabajos podemos mencionar a:

Ordóñez y Castañeda, 1994, de las 163 cepas que se aislaron entre 1972 a 1992; 127 (77.9%) fueron aislamientos de los 5 últimos años, 21 (12.9%) de 1972-1984. Del medio ambiente aislaron 29 cepas de *Cryptococcus*; 1 de los 146 (0.86%) de muestras de tierra y 28 de las 52 (53.85%) muestras de excretas de palomas, quienes no obtuvieron aislamientos de excretas de otras aves. A diferencia del nuestro en el que si se obtuvo aislamientos de otras aves.

Sammann, 1994, analizaron un total de 225 muestras de excretas de aves, de los cuales 81 muestras fueron de deposiciones de palomas de recintos hospitalarios, expuestos a la lluvia, con la influencia directa de los rayos solares, resultaron todas estas negativas y las 114 protegidas provenientes del zoológico resultando 35 de éstas positivas a *Cryptococcus neoformans*. Concordante con nuestros resultados.

Maldonado y col., 2001, aislaron levaduras del género *Cryptococcus* de excretas de palomas, tales como *C. uniguttulatus*, *C. laurentii* y *C. albidus* no logrando aislar *Cryptococcus neoformans*. Especies que no pudimos identificar por falta de recursos materiales.

Rosario y col., 2008, investigaron a la paloma y otras aves como reservorio de *Cryptococcus spp*; concluyen que la paloma urbana es un reservorio importante de la levadura, pero que no es la única portadora, y que la relación de estas aves como fuente la criptococosis está recientemente comenzando a demostrarse. Conclusión a la que nosotros también llegamos.

Caicedo y col., 2000, en su búsqueda de *Cryptococcus neoformans* en excretas de aves en el zoológico de la ciudad de Cali, Analizando un total de 380 muestras, 110 excremento y 270 ambientes. *C. neoformans* var. *neoformans* se encontró uno en las excretas de aves (0,9%) y el otro de aire dentro de una jaula (0,7%). La muestra positiva fue el excremento recogido en la grieta de un árbol muerto en el que dos caranchos cresta (*Polyborus plancus*) anidaban, las heces se secaban, estaban acumuladas, y con un pH de 6 y la otra dentro de la jaula de estas aves, sin embargo, muestras tomadas en un estudio de dispersión de 0,5, 1, 5 y 10 m alrededor de la jaula fueron negativos. Parece que esta baja tasa de aislamiento se debe a una adecuada limpieza y desinfección utilizadas en el zoológico de la ciudad de Cali. Situación que también se observó en nuestra investigación.

Lugarini y col., 2002, en su investigación de la proyección de la antigenemia y la búsqueda de *Cryptococcus neoformans* y de *C. gattii* de la cloaca y la cosecha de aves en el estado de Paraná. Analizaron 172 cloacas y 77 muestras de cultivos de paloma doméstica, passeriformes y aves psitácidas, ninguna de estas muestras fue positivo, lo que sugiere que la levadura no es saprobiótica en el tracto digestivo de estas aves. Sólo uno de cada 82 muestras de suero recogidas de palomas y aves psitácidas fue positivo (título 1:02) que muestran que *Cryptococcus* sp. probablemente tiene una baja capacidad invasiva de las aves, lo que es considerada sólo un colonizador excrementos secos.

Cermeño y col., 2001, en su trabajo "*Cryptococcus neoformans* e *Histoplasma capsulatum* en excretas de aves (*Columba livia*), de diferentes muestras de excretas de palomas obtenidas de varios lugares del estado, se obtuvieron hongos filamentosos tales como: *Aspergillus* spp (31.1%), *Mucor* spp (20,2%), *Penicillium* spp (9.5%) y *Fusarium* spp (6.7%) aislados más frecuentes. Especies como *Candida albicans* (4.1%), *Cryptococcus albidus* y *Rhodotorula* spp (2.7%),

C. neoformans var neoformans (1.4%), *Trichosporum asahii* (1.4%), *Curvularia*, *Microsporium* y *Phoma*, así como de *Histoplasma capsulatum* (1.3%) se aislaron con menor frecuencia. No identificadas en nuestro trabajo por deficiencias ya mencionadas.

Quintero y col., 2005, estudiando la "Distribución ambiental de *Cryptococcus neoformans* en el departamento de Cundinamarca-Colombia". De un total de 765 muestras, provenientes de 26 municipios; de éstas, 146 correspondían a excrementos de paloma (*Columba livia*), 437 a detritos de eucaliptos (*Eucalyptus camaldulensis* y especies afines) y 182 a detritos de almendros de la India (*Terminalia cattapa*). Aislando *C. neoformans* del 46% de los municipios estudiados, en los dos transeptos y en los pisos térmicos cálido, templado y frío. El 88% de los aislamientos se obtuvieron en este último piso. No se encontraron muestras positivas en el piso térmico de páramo. La densidad poblacional en excrementos de paloma osciló entre 50 y $9,2 \times 10^6$, en eucaliptos entre 50 y 1×10^7 y en almendros fue 50 UFC/g. De los 104 aislamientos 31% fueron serotipo A, 59% serotipo B y 10% serotipo C. El 96% de los aislamientos crecieron a 37 °C y todos mostraron cápsula. En conclusión, *C. neoformans* se recuperó en tres de los cuatro pisos térmicos estudiados, con predilección por el piso térmico frío que presenta temperaturas entre 12 y 18°C y alturas sobre el nivel del mar entre 2.000 y 3.000 m. Las densidades poblacionales no permitieron definir un patrón estándar de ocurrencia.

Curo y col., 2003, en su investigación "*Cryptococcus neoformans* en excretas de paloma, suelo y aire de los palomares del perímetro urbano de Ica". Aislaron 26 cepas del género *Cryptococcus*, correspondiendo 9 (34,6%) a *C. neoformans var. neoformans* y 17 (65,4%) a *Cryptococcus spp.* No se encontraron diferencias en el aislamiento de *C. neoformans var. neoformans* a partir de

excreta de paloma y suelo, siendo lo inverso con el ambiente aéreo. Similares resultados al obtenido en el nuestro.

Quicaño, y col., 1996, con el objetivo de determinar la "Frecuencia de *Cryptococcus neoformans* en heces, suelo y aire en viviendas con palomas domésticas (*Columba livia*) en Ayacucho", analizaron 180 muestras, de las cuales se aislaron 14 cepas (31.7%) de *Cryptococcus sp.* de muestras de heces de palomas, 41 cepas (68.3%) de otras levaduras, 9 cepas (15%) de *Cryptococcus sp.* en muestras de suelos contaminados con excrementos de paloma y 51 cepas (85%) de otras levaduras, de igual forma aislaron 7 cepas (11.7%) de *Cryptococcus sp.* a partir de las habitaciones de palomas y 53 cepas (88.3%) de otras levaduras.

Hurtado, 2007. En su investigación sobre *Cryptococcus neoformans* en excretas de *Zenaida auriculada* "rabiblanca", recolectó 260 muestras de excretas de de las diferentes zonas, el 21.2% fueron positivos para *Cryptococcus neoformans*, y 78.8 negativo (otras levaduras), de la ciudad universitaria se obtuvo el 10.77% y del CERE 10.38%.

Esto sugiere que deben existir factores independientes de la propia composición de las heces o de la temperatura y condición del tubo digestivo de las aves, que influyen decisivamente en la presencia y persistencia de la levadura en este entorno.

VI. CONCLUSIONES

1. De 246 muestras de excretas y ambientes de las aves estudiadas se aislaron 82 cepas de *Cryptococcus*. 51 identificadas como *Cryptococcus neoformans* y 31 como *Cryptococcus spp.*
2. 46 cepas obtenidas de las excretas de las aves fueron identificadas como *Cryptococcus neoformans* y 25 como *Cryptococcus spp.*
3. cepas obtenidas de los ambientes de las aves en estudio, pertenecen a la especie de *Cryptococcus neoformans* y 6 de éstas fueron identificadas como *Cryptococcus spp.*
4. Los *Cryptococcus* están distribuidos en diferentes aves (*Gallus gallus*, *Columba livia*, *Zenaida auriculata*, *Melopsittacus undulatus*, *Aratinga mitrata*, *Ara rubrogenys*, *Ara chloropterus* y *Ara macao*) y lugares (Centro de la Ciudad, Ciudad Universitaria, CERE y Granjas), existiendo relación estadística entre éste y la disposición de las excretas de estas aves; mientras que características como: especie del ave, lugar de muestreo, temperatura ambiental, humeado ambiental, y aspecto de la excreta no se relacionan estadísticamente con las especies de *Cryptococcus*.

VII. RECOMENDACIONES

1. Conocer la variedad de las especies de *Cryptococcus neoformans*; es muy importante, ya que solo *C. neoformans var. neoformans*, está más relacionada con la criptococosis y se encuentran en las excretas de las aves, por lo que sería interesante que se realicen trabajos de investigación en este tema, y aún más si éste se determinara por especie de ave.
2. El papel de las aves como portadoras, reservorio y fuente de infección de *Cryptococcus neoformans* es un tema controversial aun no establecido por completo, por lo que se debería estudiar a profundidad este tema.
3. Los pacientes con Sida y portadores del VIH, son un grupo de riesgo que acrecienta en nuestra ciudad; y la criptococosis no deja de ser una de las razones de mortalidad en este grupo, por lo que se hace necesario el reporte de la incidencia de esta micosis en nuestros medio.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Alegría, V.** 1981. Manual de Prácticas de Micología. UNSCH. Departamento Académico de Ciencias Biológicas. Ayacucho.
2. **Arenas, R.** 2008. Micología Médica Ilustrada. Editorial Mc. Graw Hill. Interamericana Editores S. A. México.
3. **Alexopoulos, C.** 1977. Introducción a la Micología. Editorial Universitaria de Buenos Aires. Argentina.
4. **Brooks, G., Butel, J. y Morse, S.** 1999. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 16ª edición. Editorial El Manual Moderno. México.
5. **Caicedo, D., Alcaez, M. y Delgado, M.** 2000. *Cryptococcus neoformans* en excretas de aves en el zoológico de la ciudad de Cali Colombia. Universidad del Valle, Cali, Colombia, Kluwer academic publishers. Colombia.
6. **Canelo, C., Navarro, A., Guevara, M., Urcia, F. y Zurita, S.** 1999. Determinación de la variedad de cepas de *Cryptococcus neoformans* aislados de pacientes con Sida. Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM. División de Micología del INS-Lima.
7. **Cedric, A., Playfarir, J. y Roitt, I.** 1995. Microbiología médica. Copyright. Dogma libros. Europa.
8. **Cermeño, J., Hernández, I. y Cabello, I.** 2001. *Cryptococcus neoformans* e *Histoplasma capsulatum* en excretas de aves (*Columba livia*) en el estado de Bolívar. Venezuela.
9. **Colom, M., Alberdi, M., Mesenguer, J. y Torres, J.** 1997. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en muestras de medio ambiente de Alicante. Revista iberoamericana de Micología.
10. **Conant, S. y Baker, C.** 1972. Micología. 3ra Edición. Editorial Interamericana S. A. México.
11. **Córdova, M.** 2002. Estadística Inferencial Y Aplicada. 2da Edición. Ediciones Moshera S.R.L.. Lima– Perú.
12. **Curo, M., Salinas, M. y Casquero, J.** 2003. *Cryptococcus neoformans* en excretas de palomas, suelo y aire de los palomares del perímetro urbano de Ica. Mayo- julio del 2002. Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica. División de Micología del INS-Lima.
13. **Deacon, H.** 1993. Introducción a la Micología Moderna. Editorial Limusa, S.A. México D.F.

14. **García, J. y Pizarro, J.** 2000. Compendio de Microbiología Médica. Editorial Harcourt, S.A. España.
15. **Granados, R. y Villaverde, C.** 2007. Microbiología Tomo II. International Thomson Editores. España.
16. **Guevara, M., Urcia, F. y Casquero, J.** 2007. Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas. Ministerio de salud. INS. Normas técnicas nº44. Lima
17. **Hurtado, D.** 2007. *Cryptococcus neoformans* en excretas de *Zenaida auriculada* "rabiblanca" a 2760-2740 m.s.n.m. Ayacucho, 2007. UNSCH. Ayacucho.
18. **Koneman, F. y Roberts, K.** 1987. Micología práctica de laboratorio. 3ra Edición. Editorial Médica Panamericana S. A. Buenos Aires, Argentina.
19. **Lizarazo, J., Linares, N. y Bedaut, C.** 2007. Estudio clínico y epidemiológico de la criptococosis en Colombia. Resultado de 9 años de encuesta nacional. 1997-2005. Biomédica volumen 27 nº001, INS de Colombia.
20. **Lugarini, C., Condas, L., Soresini, Y. y Santos, R.** 2002. Proyección de la antingenia y el aislamiento de *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii* de la cloaca y la cosecha de aves en el estado de Paraná, Brasil.
21. **Maldonado, L., Sosa, B., y Mizrachi, R.** 2001. Aislamiento de levaduras del género *Cryptococcus* de excretas de palomas. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. Venezuela.
22. **Moya, R.** 1988. Probabilidad e inferencia estadística. 2da edición. Edición San Marcos. Perú.
23. **Muller, E. y Loeffler, W.** 1976. Micología. Ediciones Omega S.A. Barcelona.
24. **Ordóñez, N. y Castañeda, E.** 1994. Serotipificación del aislamiento clínico del medio ambiente de *Cryptococcus neoformans* en Colombia.
25. **Pumarola, A., Rodríguez, A., García, A. y Piérola, G.** 1999. Microbiología y Parasitología Médica. 2da. Edición. Editorial Masson S.A.España.
26. **Quicaño, A., Romero, S. y Zurita, S.** 1996. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en heces, suelo y aire de viviendas con palomas doméstica. Ayacucho. III Congreso Latinoamericano de Micología. Ayacucho.

27. Quintero, E., Ruiz, A. y Castañeda, E. 2005. Distribución ambiental de *Cryptococcus neoformans* en el departamento de Cundinamarca. Revista Iberoamericana de Micología. Colombia.
28. Ramírez, A. 1998. Ecología del departamento de Ayacucho.
29. Rosario, I., Acosta, B. y Colom, F. 2008. La paloma y otras aves como reservorio de *Cryptococcus* sp. Revista Iberoamericana de Micología. Alicante.
30. Sammann, J. 1994. *Cryptococcus neoformans* en accesos confinados y recintos hospitalarios de la Región Metropolitana de Chile.
31. Schmidt, A. y Schirmeisen, D. 1950. Compendio de medicina de las pequeñas especies domésticas. Editorial Acribia. Zaragoza España.
32. Vásquez, O., Martínez, I. y Campos, T. 2005. Criptococosis: historia natural y estado actual del tratamiento. México.
33. Wayne, D. 1991. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 3ra edición. Editorial Limusa Noriega. México
34. Aparato digestivo de las aves. URL: <http://w.w.w.aparato digestivo de las aves.com./estudio./htm>.
35. URL: <http://w.w.w.aves.pampecom.ar>.
36. URL: <http://es.wikipedia.org/wiki/Cryptococcus>.
37. URL: <http://w.w.w.Birdlife International.2009>. "Ord. Galliforme ". Mitred parakeet bird life. Species fact sheet.
38. URL: <http://w.w.w.Birdlife International.2009>. "Ord. Columbiformes". Mitred parakeet bird life. Species fact sheet.
39. URL: <http://w.w.w. Birdlife Intemational.2009>. "Ord. Psittaciformes". Mitred parakeet bird life. Species fact sheet.

IX. ANEXOS

ANEXO 01
FICHA DE REGISTRO

Nº de muestra:.....

Fecha de muestreo:..... Hora:.....

Especie de ave.....

Aspecto de la excreta:

Seca ()

Fresca ()

Disposición de las excretas:

Tierra ()

Pavimento ()

Temperatura ambiental:.....Humedad ambiental:.....

Ubicación del lugar:.....

ANEXO 02

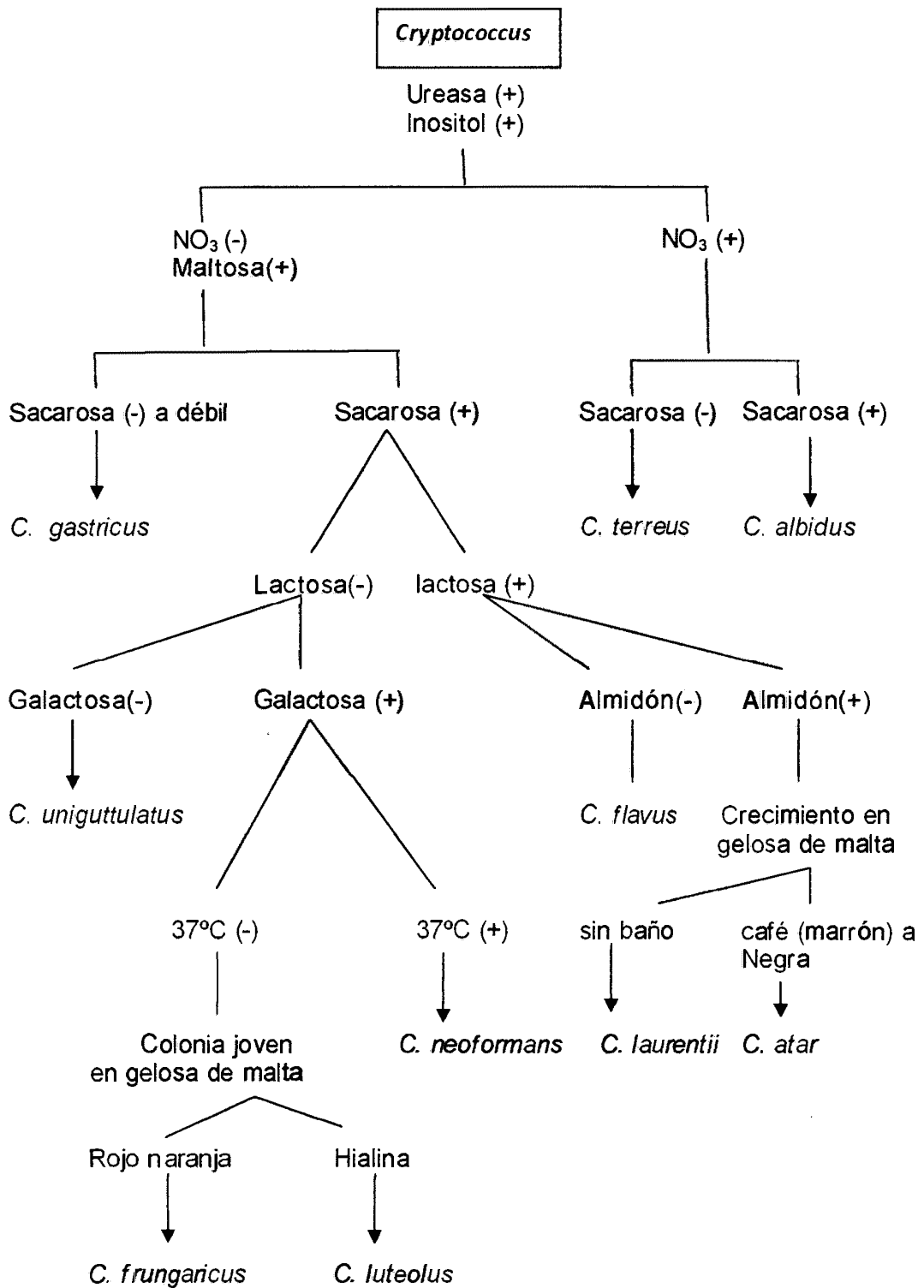


Figura 01: Algoritmo para la clasificación de las principales especies de *Cryptococcus neoformans* (tomada de Segretain G. Cours Superieur de Mycologie Médicale Institut Pasteur. Paris).

ANEXO03

Tabla 01: Características morfológicas y fisiológicas de las principales levaduras de importancia en salud pública. Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humana. INS Lima.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DE PRINCIPALES LEVADURAS DE IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA

ESPECIES	TG	CHL	TINTA CHINA	PH	FP	ART	LEV 37°C	42°C	SUSCEPTIBILIDAD A LA CICLOHEXIMIDA
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	Variable
<i>Candida dubliniensis</i>	-	-	+	-	+	+	-	+	Variable
<i>C. tropicalis</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	Sensible
<i>C. glabrata</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	Sensible
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	Resistente
<i>C. kefyr</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	Resistente
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	Sensible
<i>C. krusei</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	Sensible
<i>Ceotrichum capitatum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	Sensible
<i>Rhodotorula rubra</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	Variable
<i>Cryptococcus neoformans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	Sensible
<i>Trichosporon mucoides</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	Resistente

(*) Reacciones variables

TG: Tubo Germinativo

CHL: Clamidosporas

FP: Formación de película

ART: Artroconidia

LEV Levaduras

PH: Seudohifas/Hifas

42 °C: Desarrollo a 42 °C

37 °C: Desarrollo a 37 °C

ANEXO 04

Tabla 02: Características bioquímicas de principales levaduras de importancia en salud pública. Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humana. INS Lima.

CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE PRINCIPALES LEVADURAS DE IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA

ESPECIES	GLU	LAC	SAC	MAL	GAL	RAF	URE	REDUCCIÓN DE NITRATO	FENOLOXIDASA
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Candida dubliniensis</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>C. tropicalis</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>C. glabrata</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>C. kefyr</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>C. krusei</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Geotrichum capitatum</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Rhodotorula rubra</i>	+	+	+	+	+/-	+	+	-	-
<i>Trichosporon mucoides</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-

GLU : Asimilación de glucosa
 GAL : Asimilación de galactosa
 LAC : Asimilación de lactosa
 sacarosa
 URE : Degradación de urea
 (*) Reacciones variables.

MAL : Asimilación de maltosa
 RAF : Asimilación de rafinosa
 SAC : Asimilación de

ANEXO05

Tabla 03: Caracterización fisiológica de principales levaduras de importancia en salud pública. Cryptococcus. <http://es.wikipedia.org/wiki/Cryptococcus>.

Tabla 0-1 Levaduras de importancia clínica. Resultados de pruebas de asimilación de azúcares

	Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Lactosa	Trehalosa	Fruktosa	Galactosa
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	-	+	-	+
<i>Candida guilliermondii</i>	+	+	+	-	+	+	+
<i>Candida krusei</i>	+	-	-	-	-	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	+	+	+	-	+	-	+
<i>Candida tropicalis</i>	+	+	+	-	+	-	+
<i>Candida lusitanae</i>	+	+	+	-	+	-	+
<i>Candida rugosa</i>	+	-	-	-	-	-	-
<i>Torulopsis glabrata</i> (<i>Candida glabrata</i>)	+	-	-	-	+	-	-
<i>Torulopsis candida</i> (<i>Candida famosa</i>)	+	+	+	+	+	-	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	+	+	+	-	+	Y	+
<i>Trichosporon cutaneum</i>	+	+	+	+	Y	Y	+
<i>Trichosporon capitatum</i>	+	-	-	-	-	-	+
<i>Rhodotorula rubra</i>	+	+	+	-	+	+	+
<i>Geotrichum candidum</i>	+	-	-	-	-	-	-

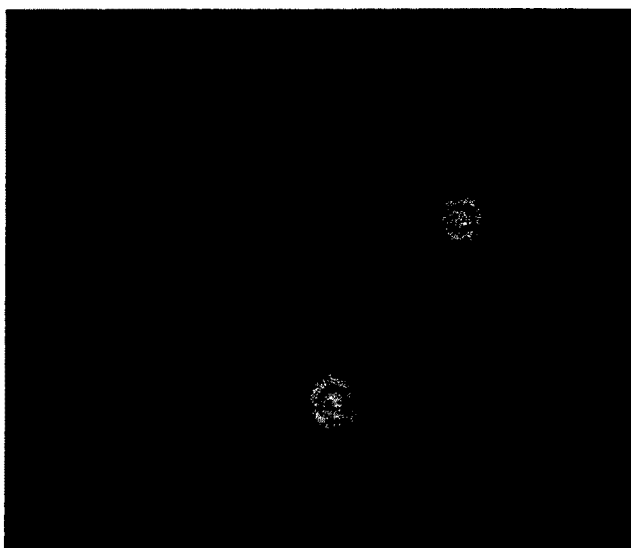
Y = variación según la cepa.

ANEXO06



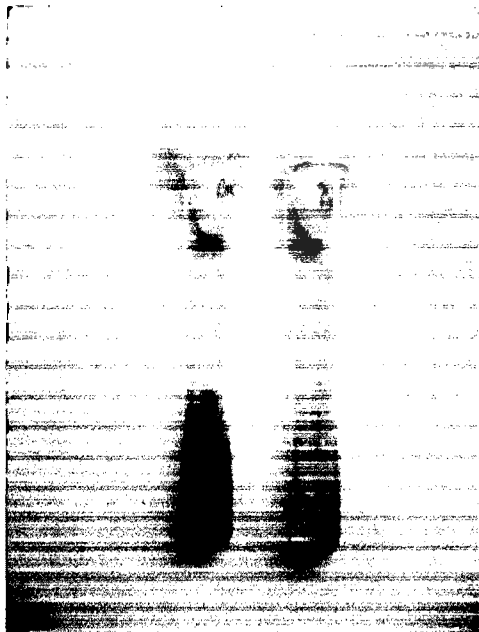
Fotografía 01: Placa de Petri con colonia fúngicas y levaduriformes obtenidas de los ambientes de las aves en estudio. Laboratorio de Epidemiología y Micología. FCB. UNSCH. Ayacucho, 2010-2011.

ANEXO07



Fotografía 02: Observación de levaduras encapsuladas de los cultivos puros obtenidos de las excretas y los ambientes de las aves en estudio. Laboratorio de Epidemiología y Micología. FCB. UNSCH. Ayacucho, 2010-2011.

ANEXO 08



Fotografía 03: Prueba de la ureasa, a la derecha prueba negativa (color amarillo) y a la izquierda prueba positiva. Laboratorio de Epidemiología y Micología. FCB. UNSCH. Ayacucho, 2010-2011.

ANEXO09



Fotografía 04: Prueba de la reducción del nitrato, a la derecha prueba negativa (sin formación de color) y a la izquierda prueba positiva (con formación de un color rojo grosella). Laboratorio de Epidemiología y Micología. FCB. UNSCH. Ayacucho, 2010-2011.

Especies de *Cryptococcus* en excretas de aves y sus ambientes. Ayacucho, 2010-2011.

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	VARIABLES	METODOLOGIA
<p>¿Cuáles son las especies de <i>Cryptococcus</i> existentes en las excretas de aves y en sus ambientes naturales. Ayacucho, 2010-2011?</p>	<p>OBJETIVO GENERAL.</p> <ul style="list-style-type: none"> Conocer las especies de <i>Cryptococcus</i> existentes en las excretas de aves y sus ambientes. Ayacucho, 2010-2011. <p>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.</p> <ul style="list-style-type: none"> Identificar las especies de <i>Cryptococcus</i> en excretas de aves. Ayacucho, 2010-2011. Identificar las especies de <i>Cryptococcus</i> en los ambientes de las aves. Ayacucho, 2010-2011. Determinar la distribución de <i>Cryptococcus</i> y relacionarlos con las características peculiares de cada ave (especie), y del ambiente en el cual anida y pernoctan dichas aves (temperatura ambiental, humedad ambiental, aspecto de la excreta: seco, fresco, disposición de la excreta: tierra, pavimento y el lugar de muestreo). Ayacucho 2010-2011. 	<p>ANTECEDENTES</p> <p>Ordóñez y Castañeda, 1994, Colombia. Serotipificación de aislamiento clínico del medio ambiente de <i>Cryptococcus neoformans</i> en Colombia.</p> <p>Sammann, 1994, Chile. <i>Cryptococcus neoformans</i> en accesos confinados y recintos hospitalarios de la Región Metropolitana de Chile.</p> <p>Maldonado y col., 2001, Venezuela. Aislamiento de levaduras del género <i>Cryptococcus</i> de excretas de palomas en Venezuela.</p> <p>Rosario y col., 2008, Alicante. La paloma y otras aves como reservorio de <i>Cryptococcus</i> spp.</p> <p>Caicedo y col., 2000, Colombia. <i>Cryptococcus neoformans</i> en excretas de aves en el zoológico de la ciudad de Cali, Colombia.</p> <p>Lugarini y col., 2002, Brasil. Proyección de la antigenemia y aislamiento de <i>Cryptococcus neoformans</i> y de <i>C. gattii</i> de la cosecha de aves en el estado de Paraná.</p> <p>Cermeño y col., 2001, Venezuela. <i>Cryptococcus neoformans</i> e <i>Histoplasma capsulatum</i> en excretas de aves (<i>Columba livia</i>) en el estado de Bolívar, Venezuela.</p> <p>Quintero y col., 2005, Colombia. Distribución ambiental de <i>Cryptococcus neoformans</i> en el departamento de Cundinamarca, Colombia.</p> <p>Curro y col., 2002, Ica. <i>Cryptococcus neoformans</i> en excretas de paloma, suelo y aire de los palomares del perímetro urbano de Ica.</p> <p>Quicaño y col., 1996, Ayacucho. Frecuencia de <i>Cryptococcus neoformans</i> en heces, suelo y aire en viviendas con palomas domésticas (<i>Columba livia</i>) en Ayacucho.</p> <p>Hurtado, 2007, Ayacucho. <i>Cryptococcus neoformans</i> en excretas de Zenaida auriculada "rabiblanca" a 2760-2740 m.s.n.m. Ayacucho.</p>	<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <ul style="list-style-type: none"> Especies de <i>Cryptococcus</i>. <p>VARIABLES INDEPENDIENTES</p> <ul style="list-style-type: none"> Aspecto de las excretas: seca, fresca. Disposición de las excretas: tierra o pavimento Humedad ambiental. Temperatura ambiental. Ubicación del lugar de muestreo. Especie del ave. 	<p>DISEÑO METODOLÓGICO</p> <p>Tipo de estudio Básico descriptivo. No experimental</p> <ul style="list-style-type: none"> Población Estuvo constituida por todas las aves de la ciudad. <p>Criterios de inclusión</p> <ul style="list-style-type: none"> Excretas de las aves de las órdenes Psittaciformes, Galliformes y Columbiformes de la ciudad. Ambientes naturales de las aves de las órdenes en estudio. <p>Criterios de exclusión</p> <ul style="list-style-type: none"> Excretas de aves de otras órdenes. Ambientes naturales de aves de otras órdenes y los de difícil acceso de las aves incluidas en el estudio. <ul style="list-style-type: none"> Muestra: 216 excretas y 30 ambientes. Recolección de datos: <ul style="list-style-type: none"> Toma de muestra y siembra Aislamiento de las colonias Identificación de las colonias <ul style="list-style-type: none"> Examen macroscópico Examen microscópico Identificación mediante criterios bioquímicos y enzimáticos. Identificación de la especie de <i>Cryptococcus neoformans</i> Determinación de variantes. Prueba estadística: elaboración de cuadros de frecuencias, porcentajes y Ji cuadrado

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D. N°103 – 2011 – FCB - D

Bach. Rosa Virginia Gutiérrez Méndez

En la ciudad de Ayacucho, siendo las cuatro horas con dos minutos del día seis de mayo del dos mil once, reunidos en el Auditorio de la Facultad de Ciencia Biológicas, bajo la Presidencia del MSc. Elmer Avalo Pérez, Decano de la Facultad de Ciencia Biológicas y actuando como miembros jurados el M.V. Florencio Cisneros Nina (miembro), Mg. Serapio Romero Gavilán (asesor) y Mg. Aurelio Carrasco Venegas (miembro - secretario – docente (e)). Asimismo, a merito del Mem. N° 275 – 2011 – UNSCH – FCB, el Decano encarga actuar como Secretario docente del acto de sustentación de tesis al Mg. Aurelio Carrasco Venegas a fin de recepcionar el acto de sustentación de tesis de la Bach. Rosa Virginia Gutiérrez Méndez de su tesis titulada: **Especies de Cryptococcus en excretas de aves y sus ambientes naturales. Ayacucho 2010-2011**, con cuyo trabajo pretende optar el título profesional de Bióloga con especialidad de Microbiología. Iniciando el acto de sustentación, el Presidente de la comisión evaluadora invitó al Secretario Docente (e) a dar lectura de la documentación sustentatoria resumida en la R.D.N° 103 - 2011- FCB - D de fecha 27 de abril del 2011, luego del cual se dio pautas básicas a la sustentante para que pueda exponer su trabajo de investigación, las mismas que fueron recepcionadas por la sustentante.

Culminado el acto de sustentación, se dio inicio a la segunda etapa del acto académico, en la que el Presidente de la comisión invitó al los docentes miembros-jurados a realizar sus deliberaciones, aclaraciones, observaciones y/o preguntas a fin de ser respondidas por la sustentante. En resumen se realizaron observaciones al borrador de tesis a fin de que se realicen algunas mejoras para la presentación final, así como una serie de preguntas en relación al trabajo de sustentación, las mismas que fueron contestadas.

Finalizada esta etapa, el Presidente de la comisión invitó al sustentante como al público asistente a retirarse momentáneamente del Auditorium a fin de que los miembros del jurado puedan deliberar en privado la calificación obteniendo las siguientes calificaciones:

MIEMBRD JURADD	EXPOSICIÓN	RPTA A PREGUNT.	PRDM.
MG. SERAPID ROMERO GAVILÁN	17	17	17
M.V. FLORENCIO CISNEROS NINA	16	15	16

Finalizada la evaluación por parte de los miembros del jurado el sustentante obtuvo la calificación promedio final de DIECISIETE (17) de lo cual dan fe los miembros del jurado calificador estampando al pie del presente en signo de conformidad.

Concluyendo el acto de sustentación siendo las seis con treinta minutos.



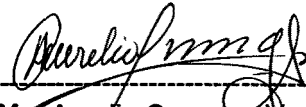
Blgo. MSc. Elmer Avalos Pérez.
PRESIDENTE



M.V. Florencio Cisneros Nina
MIEMBRO JURADO



Blgo. Mg. Serapio Romero Gavilán
MIEMBRO ASESOR



Blgo. Mg. Aurelio Carrasco Venegas
MIEMBRO- JURADO-
SECRET.DOCENTE (e)