

## DetECCIÓN DE *Cryptococcus spp.* COLECTADO EN EL POLVO Y AIRE DE LA CIUDAD DE MÉRIDA, VENEZUELA

Celina Pérez de Salazar<sup>1\*</sup>, Lourdes del Valle Gómez<sup>1</sup>, María Alejandra Jiménez<sup>1</sup>, Oduar Salazar<sup>1</sup>, Arantza Roselló<sup>2</sup>, Jesús Peña<sup>3</sup> y Sofía Mata-Essayag<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Micología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

<sup>2</sup>Sección de Micología Médica, Instituto de Medicina Tropical. Caracas, Venezuela.

<sup>3</sup>Cátedra de Deontología, Legislación y Estadística, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela.

celinaperezdesalazar@gmail.com; lolu\_valle@hotmail.com; mariale472@hotmail.com; oduarsalazar@hotmail.com; azurosello77@gmail.com; japg@ula.ve; somae50@hotmail.com

### Resumen

*C. neoformans*, es el principal agente causal de la criptococosis, seguido por *C. gattii* y rara vez otras especies. El objetivo del estudio referencial del presente artículo consistió determinar la presencia de *Cryptococcus spp.* en el polvo de las aceras y en el transportado por las corrientes de aire, en Mérida, Venezuela. Se establecieron cuatro “sectores”, subdivididos en zonas “concurridas” y “no concurridas” por palomas (*Columba livia*). Las levaduras se identificaron por técnicas convencionales. De las muestras de polvo colectado en las aceras se obtuvieron: *C. albidus* (57%), *C. terreus* (15%), *C. laurentii* (14%), *C. macerans* (4%), *C. infirmominiatus* (4%), *C. neoformans* serotipo D (2%), *C. flavus* (2%) y *C. ater* (2%). De las muestras de polvo transportado por corrientes de aire, se consiguió: *C. albidus* (65%), *C. infirmominiatus* (15%), *C. laurentii* (10%), *C. terreus* y *C. macerans* (5%). No hubo diferencia significativa al comparar los resultados obtenidos entre las zonas “concurridas” y las “no concurridas” por palomas. Conclusión: Se detectó *Cryptococcus spp.* tanto en el polvo de las aceras como en las corrientes de aire, de la ciudad de Mérida.

**Palabras clave:** *Cryptococcus*, polvo, criptococosis.

# Detection of *Cryptococcus spp.* in Dust Collected from the City of Merida, Venezuela

## Abstract

*C. neoformans* is the principal agent that causes cryptococcosis, followed by *C. gattii* and rarely, others species. The objective of this referential study was to determine the presence of *Cryptococcus spp.* in dust from the sidewalks and air currents in Merida, Venezuela. Four “sectors” were established, subdivided into areas “frequented” and “not frequented” by pigeons (*Columba livia*). Dust from sidewalks and air currents was collected. Yeasts were identified using conventional methods. From the sidewalk dust samples, the following were isolated: *C. albidus* (57%), *C. terreus* (15%), *C. laurentii* (14%), *C. macerans* (4%), *C. infirmominiatus* (4%), *C. neoformans* serotype D (2%), *C. flavus* (2%) and *C. ater* 2%. From the dust samples carried by air currents, *C. albidus* (65%), *C. infirmominiatus* (15%), *C. laurentii* (10%), *C. terreus* and *C. macerans* (5%) were isolated. There was no significant difference between results from areas frequented and not frequented by pigeons. Conclusions were that *Cryptococcus spp.* is present in the dust from sidewalks and air currents in the city of Merida.

**Key words:** *Cryptococcus*, dust, cryptococcosis.

## Introducción

La criptococosis es una micosis oportunista, la cual se manifiesta principalmente como una encefalitis o una meningoencefalitis, que puede afectar tanto a humanos como a animales. Es causada esencialmente por dos especies de hongos: *Cryptococcus neoformans* y *C. gattii*; estas especies de levaduras habitan en la naturaleza. *C. neoformans* se ha aislado a partir de deyecciones de aves (palomas, canarios, loros y pericos), frutas en descomposición, trozos de madera y de diversas especies de árboles [4, 6, 8, 18, 19, 27, 28]; *C. gattii* se ha aislado principalmente a partir de restos vegetales de árboles de la especie *Eucalyptus camaldulensis* y *E. tereticornis* [1, 2, 11, 12, 25].

*C. albidus*, *C. laurentii*, *C. ater*, *C. terreus*, *C. macerans*, y *C. infirmominiatus*, entre otras, son consideradas “saprófitas del ambiente”. Excepcionalmente, algunas han originado criptococosis en pacientes severamente inmunosuprimidos [9, 14, 16, 20, 30]. Existen escasos reportes de aislamientos de especies de *Cryptococcus* a partir de muestras ambientales en la literatura universal y menos aún, a nivel nacional [5, 7, 10, 26, 29].

El conocimiento del hábitat de estas levaduras es necesario para comprender la patogenia y los factores de riesgo asociados con la enfermedad que producen. De tal mane-

ra que, el objetivo de este estudio fue aislar e identificar la presencia de *Cryptococcus spp.* en el polvo depositado en las aceras y en el polvo transportado por las corrientes de aire, en diversos sitios de la ciudad de Mérida, Venezuela.

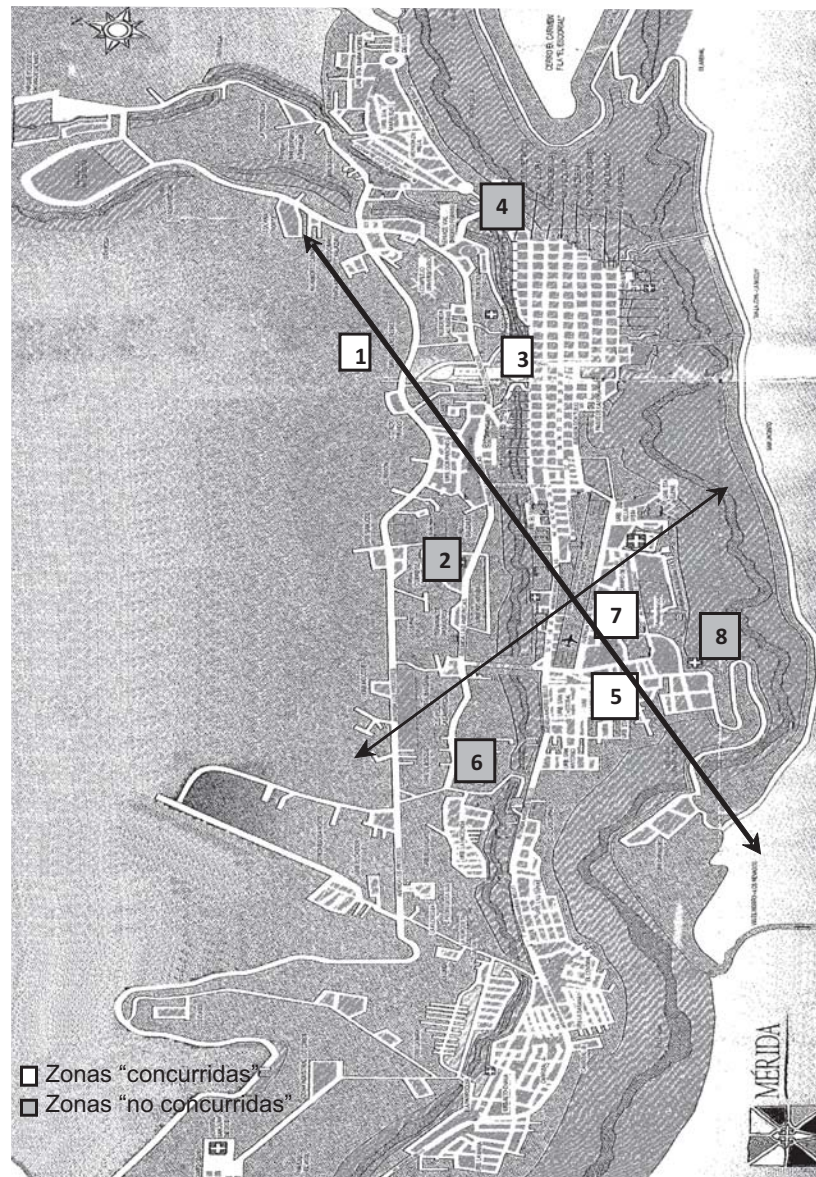
## Métodos

Para determinar la presencia de *Cryptococcus spp.* en el polvo depositado sobre las aceras y en el polvo transportado por las corrientes de aire en la ciudad de Mérida, se establecieron cuatro “sectores” de muestreo, tomando en cuenta los cuatro puntos cardinales; cada uno de estos se subdividió en dos, representados por una zona “concurrida” y una zona “no concurrida” por las palomas (*Columba livia*).

Se consideraron zonas “concurridas”: las representadas por áreas de la ciudad en las que a diario se observa una mayor afluencia de palomas y, zonas “no concurridas”: las representadas por aquellas en las que diariamente se puede observar una afluencia escasa de palomas.

Para tal fin, se establecieron los siguientes sitios puntuales destinados para la toma de las muestras (Figura 1).

- Sector Noroeste de la ciudad de Mérida: la zona “concurrida”, fue la parte media del Barrio San José de Las Flores, Ave. Los Próceres; la zona “no concurrida”



Leyenda: 1. - Parte media del Barrio San José de Las Flores (Los Próceres); 2. - I.V.S.S. (Av. Las Américas); 3. - Esquina de "Amador" (prolongación Viaducto Campo Elías); 4. - Batallón Justo Briceño (Milla); 5. - Iglesia San Juan Apóstol (Santa Juana); 6. - Bomberos de Mérida (Urbanización Humbolt); 7. - Grupo Escolar Filomena Dávila Nucete (Santa Elena); 8. - Facultad de Farmacia y Bioanálisis (Campo de Oro).

**Figura 1.** Mapa de la ciudad de Mérida, dividida en cuatro sectores de acuerdo a los puntos cardinales y a las zonas "concurrida" y "no concurrida" por palomas (*Columba livia*).

rrida", fue el Instituto Venezolano de Los Seguros Sociales (I.V.S.S.), Ave. Las Américas.

- Sector Noreste: la zona "concurrida", estuvo representada por la Esquina de "Amador", en la prolongación del viaducto Campo Elías; la zona "no concurrida", estuvo representada por el Batallón Justo Briceño (Batallón), en el sector de Milla.
- Sector Suroeste: la zona "concurrida", fue la Iglesia San Juan Apóstol, en el sector de Santa Juana; la zona "no concurrida", fue frente a los Bomberos de Mérida, en la Urbanización Humbolt.

- Sector Sureste: la zona "concurrida", fue la Unidad Educativa Filomena Dávila, en Santa Elena; la zona "no concurrida" fue la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (FFB), en Campo de Oro.

Cada uno de los muestreos se realizó por triplicado. En cada muestreo se tomaron un total de 8 muestras del polvo depositado en las aceras (una muestra en cada una de las zonas "concurridas" y zonas "no concurridas" por palomas) y 16 muestras del polvo transportado por las corrientes de aire, (dos muestras en cada una de estas zonas). La recolección de las muestras estudiadas se realizó según

Curo y colaboradores [10]. Estas muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Micología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, en Mérida.

De las muestras de polvo depositadas en el cemento de la acera, se preparó una suspensión de 1 g de polvo con solución salina fisiológica estéril al 0,9% más Penicilina G Cristalina (2000 U/mL) y Gentamicina (1,6 mg/mL), en una relación 1:1. Se prepararon diluciones seriadas y se trabajó con 1 mL de la dilución 1:1000, la cual se sembró en el medio Agar Staib; se incubó a 28°C.

Para la recolección del polvo transportado por las corrientes de aire, se utilizaron placas que contenían el medio Agar Staib, y se expusieron a las corrientes de aire por un lapso de 5 min; luego de este tiempo, se sellaron y se incubaron a 28°C. Todas las muestras incubadas se observaron diariamente hasta un máximo de una semana.

Se efectuó el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC.), en las placas contentivas del polvo depositado en las aceras y el conteo de colonias (colonias/placa) en las contentivas del polvo transportado por las corrientes de aire.

Las especies se identificaron por pruebas convencionales [13, 17, 24]. Las cepas identificadas como *C. neoformans*, fueron trasladadas a la Sección de Micología Médica del Instituto de Medicina Tropical, perteneciente a la Universidad Central de Venezuela, en Caracas, para su serotipificación [23].

El análisis de los resultados se realizó mediante el programa Epi Info 6 versión 6.04 (2001). Se determinaron frecuencias, porcentajes, media ( $\bar{X}$ ) y desviación estándar (DE). Se utilizó el Estadístico Exacto de Fisher; la diferencia significativa:  $p < 0,05$ .

## Resultados

De las 24 muestras de polvo depositado en las aceras, 7 (29,1%) de estas resultaron positivas para *Cryptococcus* spp. De las 48 muestras de polvo transportado por las corrientes de aire, en 7 (14,6%) de ellas se obtuvo el aislamiento de este género. Los resultados obtenidos se pueden apreciar en las Tablas 1 y 2.

A partir del polvo depositado en las aceras, se obtuvo el aislamiento de *Cryptococcus* spp. en las zonas “concurri-

Tabla 1. Especies de *Cryptococcus* aisladas a partir del polvo depositado en las aceras, en los cuatro sectores de la ciudad de Mérida, según las zonas “concurridas” y “no concurridas” por palomas (*Columba livia*), expresado en UFC/g de polvo.

Sector	Zona	$\bar{X}$ ( $\times 10^3$ UFC/g)	DE ( $\times 10^3$ UFC/g)	Especie ( $\times 10^3$ UFC/g)
Noroeste	<b>Concurrida</b> (Los Próceres)	4,67	6,43	<i>C. albidus</i> (8) <i>C. neoformans</i> (2) <i>C. laurentii</i> (2) <i>C. flavus</i> (2)
	<b>No Concurrida</b> (I.V.S.S.)	0	0	-
Noreste	<b>Concurrida</b> (Esq. Amador)	18,67	28,94	<i>C. albidus</i> (40) <i>C. terreus</i> (16)
	<b>No Concurrida</b> (Batallón Justo Briceño)	0	0	-
Suroeste	<b>Concurrida</b> (Iglesia San Juan Apóstol)	10,67	16,77	<i>C. albidus</i> (12) <i>C. laurentii</i> (12) <i>C. macerans</i> (4) <i>C. ater</i> (2) <i>C. infirmominiatus</i> (2)
	<b>No Concurrida</b> (Bomberos)	0	0	-
Sureste	<b>Concurrida</b> (UE Filomena Dávila)	0,67	1,16	<i>C. infirmominiatus</i> (2)
	<b>No Concurrida</b> (FFB)	0	0	-

Tabla 2. Especies de *Cryptococcus* aisladas en el polvo transportado por las corrientes de aire, en los cuatro sectores de la ciudad de Mérida, según las zonas “concurridas” y “no concurridas” por palomas (*Columba livia*) y, el número de colonias por placa.

Sector	Zona	$\bar{X}$ (colonias/placa)	DE (colonias/placa)	Especie (colonias/placa)
Noroeste	<b>Concurrida</b> (Los Próceres)	0,67	0,58	<i>C. albidus</i> (1) <i>C. terreus</i> (1)
	<b>No Concurrida</b> (IVSS)	0	0	-
Noreste	<b>Concurrida</b> (Esq. Amador)	2,67	4,62	<i>C. albidus</i> (5) <i>C. infirmominiatus</i> (3)
	<b>No Concurrida</b> (Batallón Justo Briceño)	0,33	0,58	<i>C. albidus</i> (1)
Suroeste	<b>Concurrida</b> (Iglesia San Juan Apóstol)	0	0	-
	<b>No Concurrida</b> (Bomberos)	0,67	0,58	<i>C. albidus</i> (1) <i>C. macerans</i> (1)
Sureste	<b>Concurrida</b> (UE Filomena Dávila)	2,33	4,04	<i>C. albidus</i> (5) <i>C. laurentii</i> (2)
	<b>No Concurrida</b> (FFB)	0	0	-

IVSS. Instituto Venezolano de Los Seguros Sociales; Esq.: Esquina; FFB: Facultad de Farmacia y Bioanálisis; UE: Unidad Educativa.

das” por palomas; no así, de las zonas “no concurridas” por dichas aves (Tabla 1).

En el muestreo realizado a partir del polvo depositado en las aceras, de los diferentes sectores estudiados, se observó que donde hubo mayor aislamiento del hongo fue en el sector noreste de la Ciudad, representado por la Esquina de “Amador” con una media de 18,67 UFC/g, en donde la especie mayormente identificada fue *C. albidus* ( $40 \times 10^3$  UFC/g) (Tabla 1).

En la zona “concurrida” del noroeste de la Ciudad se identificó *C. neoformans* serotipo D, con un conteo de  $2 \times 10^3$  UFC/g, a partir del polvo depositado en la acera de la parte media del Barrio San José de Las Flores (Tabla 1).

Al estudiar el polvo transportado por las corrientes de aire, los aislamientos predominaron en los sectores Este de la ciudad: sector noreste (Esquina de “Amador”) con una media de 8 colonias/placa, donde predominó la identificación de *C. albidus* (5 colonias/placa) (Tabla 2).

Al comparar el número de aislamientos obtenidos en el estudio del polvo transportado por las corrientes de aire, entre las zonas “concurridas” y las zonas “no concurridas” por palomas, de los diferentes sectores muestreados, se observó que en el sector suroeste de la ciudad, hubo una diferencia estadísticamente significativa ( $p:0,016$ ), con un predominio del aislamiento del hongo en la zona considerada “no concurrida” por palomas (Tabla 2).

## Discusión

*Cryptococcus* spp. está epidemiológicamente relacionado con la presencia de palomas (*Columba livia*), debido a que este miceto habita en la naturaleza, particularmente en suelos que contienen las excretas de dichas aves, tal como se ha descrito ampliamente en la literatura [4, 7, 10, 19, 27, 28].

A partir de estas fuentes naturales, dichas levaduras pueden ser dispersadas por las corrientes de aire y pueden ser inhaladas por el individuo [15, 18, 22, 28].

Al analizar los aislamientos de *Cryptococcus* spp. según los sectores de la ciudad, se puede ver que en las muestras, tanto del polvo depositado en las aceras como del transportado por las corrientes de aire, hubo un predominio de los cultivos positivos provenientes del sector noreste de Mérida, representado por la Esquina de “Amador”, con respecto al resto de los sectores estudiados. Esta es una esquina en el centro de la ciudad, muy concurrida por la población en general y donde las palomas se posan a diario en los postes de los semáforos.

A pesar de no estudiar directamente una de las fuentes naturales de esta levadura, como son las excretas de palomas, se obtuvo el aislamiento de *Cryptococcus* spp. a partir del polvo depositado en las aceras y del transportado por las corrientes de aire, principalmente en las zonas “concu-

rridas” por estas aves; asociación ampliamente demostrada entre este hongo y la presencia de las palomas [15, 18, 28].

Hallazgos y explicaciones similares se pueden deducir del trabajo de Colom y colaboradores efectuado en el año 1997, en Alicante, España, donde se detectó una elevada prevalencia de *C. neoformans* (81,52%) en excretas de palomas en cautiverio versus un 16,3% en excretas de palomas urbanas [8].

La acción de las corrientes de aire, actúa como un vehículo dispersor de la levadura en el ambiente, pudiendo alcanzar las habitaciones de las viviendas, como lo reportado por Swinne y colaboradores en 1991 [29], en Burundi, África Central, o por Baró y colaboradores en 1998 [3], en Barcelona, España.

Al analizar el número de aislamientos obtenidos del polvo transportado por las corrientes de aire, entre las zonas “concurridas” y las “no concurridas” por palomas, los resultados fueron muy similares, probablemente debido a que por el efecto de las corrientes de aire, dicho miceto no está concentrado en un mismo sitio. No obstante, se pudiera considerar que es un hallazgo aislado, la obtención de un mayor número de aislamientos en la zona “no concurrida” del sector suroeste de la ciudad (Bomberos), donde se observó significancia estadística.

De acuerdo a los resultados obtenidos, *C. albidus* es la especie mayormente aislada en el polvo, tanto en el depositado en las aceras como en el transportado por las corrientes de aire. Los siguientes en frecuencia correspondieron a *C. terreus* y *C. laurentii*, para el caso del polvo depositado en las aceras; mientras que en el polvo transportado por las corrientes de aire, estos lugares fueron ocupados por *C. infirmominiatus* y *C. laurentii*.

Cabe mencionar que entre las especies aisladas en el presente estudio, como son *C. albidus*, *C. laurentii*, *C. atery* y *C. macerans*, existen reportes donde las mismas han sido aisladas de muestras clínicas e identificadas como agentes causales de criptococosis en humanos, produciendo meningitis, nódulos subcutáneos abscedados e infección pulmonar, entre otros [9, 14, 16, 20, 30].

El aislamiento de *C. neoformans* serotipo D ( $2 \times 10^3$  UFC/g) en el polvo depositado en la acera en el sector noroeste de la ciudad, en la parte media del Barrio San José de Las Flores, pudiera deberse a las condiciones de dicho ambiente, el cual estuvo constituido por un área muy húmeda en donde no inciden directamente los rayos solares [8, 10, 27].

En las demás zonas muestreadas, estas levaduras están expuestas estrechamente a las condiciones ambientales, en donde inciden directamente los rayos solares y experi-

mentan la desecación, situación que permite mayormente, el desarrollo de especies saprófitas; lo cual concuerda con lo reportado por Colom y colaboradores [8].

Para finalizar, se puede concluir que tanto la población humana como animal, está ampliamente expuesta a adquirir una criptococosis, ya sea que se frecuenten o no las áreas “concurridas” o “no concurridas” por palomas. Sin embargo, un factor que contribuye favorablemente en la prevención de esta infección micótica es evitar el acumulo de levaduras de *Cryptococcus* spp. en las aceras en la ciudad de Mérida, ejercido de manera natural por el efecto de la inclinación geográfica de esta ciudad, lo cual permite que las corrientes de agua que se generan con las lluvias, durante la época de invierno, laven las aceras. Aspectos a considerar favorablemente en el área de la salud pública y en particular, en la epidemiología y medicina preventiva de esta micosis [8, 10, 21, 27, 29].

## Agradecimiento

Financiamiento parcial por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT), ULA. Proyecto No: FA-416-07-07-F.

## Referencias

- [1] AGÜERO, B.; GARZA, D.; FLORES, V.; CERVANTES, R. Aislamiento y caracterización del *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* a partir de muestras de *Eucalyptus camaldulensis* en la Ciudad de México. **Rev. Iberoam. Micol.** 16:40-2. 1999.
- [2] ARGÜERO, L.; GARZA, G.; TORRES, Z. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* var *gattii* de *Eucalyptus tereticornis*. **Rev. Iberoam. Micol.** 13:27-8. 1996.
- [3] BARÓ, T.; MORERA, Y.; TORRES, J.; ALÍA, C.; LÁZERA, M. Estudio de muestras de polvo doméstico para el aislamiento ambiental de *Cryptococcus neoformans*. **Rev. Iberoam. Micol.** 15:309. 1998.
- [4] CABRAL, L. Wood, animals and human beings as reservoirs for human *Cryptococcus neoformans* infection. **Rev. Iberoam. Micol.** 16:77-81. 1999.
- [5] CALVO, B; COLOMBO, A; FISHMAN, O; THOMPSON, S; LAZERA, M; TELLES, F; ET AL. Antifungal susceptibilities, varieties, and electrophoretic karyotypes of clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* from Brazil, Chile, and Venezuela. **J Clin Microb.** 39(6):2348-2350. 2001.
- [6] CASTAÑEDA, E. En búsqueda del hábitat de *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* en Colombia. **Rev. Acad. Colomb. Cienc.** 25:105-14. 2001.
- [7] CERMEÑO, J.; HERNÁNDEZ, I.; CABELLO, I.; ORILLAN, V.; CERMEÑO, J.; ALBORNOZ, R.; ET AL. *Cryptococcus neoformans* and *Histoplasma capsulatum* in

- doves' s (*Columbia livia*) excreta in Bolivar state Venezuela. **Rev. Latinoam. Microbiol.** 48:6-9. 2006.
- [8] COLOM, M.; ALBERDI, M.; MESEGUER, I.; RODRÍGUEZ, M. Aislamientos de *Cryptococcus neoformans* en muestras de medio ambiente de Alicante. **Rev. Iberoam. Micol.** 14:63-4. 1997.
- [9] CUNHA, T.; LUSINS, J. *Cryptococcus albidus* meningitis. **South Med. J.** 66:1230-43. 1973.
- [10] CURO, M.; SALINAS, M.; CASQUERO, J. *Cryptococcus neoformans* en excretas de palomas, suelo y aire de los palomares del perímetro urbano de ICA, 2002. **Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública.** 22:262-6. 2005.
- [11] ESCANDO, P.; QUINTERO, E.; GRANADOS, D.; HUÉRFANO, S.; RUIZ, A.; CASTAÑEDA, E. Aislamiento de *Cryptococcus gattii* serotipo B a partir de detritos de *Eucalyptus* spp. en Colombia. **Rev. Biomed.** 25:390-7. 2005.
- [12] GEZUELE, E.; CALEGARI, L.; SANABRIA, D.; CIVILA, E. Isolation in Uruguay *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from a nest of the wasp *Polybia occidentalis*. **Rev. Iberoam. Micol.** 10:7-9. 1993.
- [13] GOITIA, K.; PÉREZ, C.; MATA, S.; HARTUNG, C.; COLLELLA, M.T.; HERNÁNDEZ, C.; ET AL. Utilización del Caldo Urea de Stuart para el test de la ureasa, como prueba en el diagnóstico de las levaduras. **Rev. Soc. Ven. Microbiol.** 2:136-40. 2002.
- [14] JOHNSON, L.; BRADLEY, S.; KAUFFMAN, C. Fungemia due to *Cryptococcus laurentii* and a review of non-*neoformans* cryptococcaemia. **Mycoses.** 41:277-80. 1998.
- [15] KIDD, S.; BACH, P.; HINGSTON, A.; MAK, S.; CHOW, Y.; MACDOUGLAS, L.; ET AL. *Cryptococcus gattii* dispersal mechanisms, British Columbia, Canada. **Emerg. Infect. Dis.** 13(1):51-7 2007.
- [16] KORDOSSIS, T.; AVLAMI, A.; VELEGRAKI, A.; STEFANOPOULOS, I.; GEORGAKOPOULOS, G.; PAPALAMBROU, C.; ET AL. First report of *Cryptococcus laurentii* meningitis and a fatal case of *Cryptococcus albidus* cryptococcaemia in AIDS patients. **Med. Mycol.** 36:335-9. 1998.
- [17] LACAZ, C.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E.; TAKAHASHI, N. Identificacao dos Fungus. En: Lacaz C, Porto E, Heins-Vaccari EM, Takahashi N. **Guia para identificacao Fungus-Actinomicrto-Algas de interesse Medico.** Sao Paulo: Savier. 94-123pp. 1998.
- [18] LAZERA, M.; PRIES, F.; COURA, C.; NISHIKAWA, M.; BEZERRA, C.; TRILLES, L.; ET AL. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var *neoformans* in decaying wood forming hollows in living trees. **J. Med. Vet. Mycol.** 34:127-31. 1996.
- [19] LAZERA, M.; WANKE, B.; NISHIKAWA, M. Isolation of both varieties of *Cryptococcus neoformans* from saprophytic sources in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **J. Clin. Med. Vet. Mycol.** 31:449-54. 1993.
- [20] LINDSBERG, P.; PIENINKEROINEN, I.; VALTONEN, M. Meningoencephalitis caused by *Cryptococcus macerans*. **Scand. J. Infect. Dis.** 29:430-3. 1997.
- [21] LI-PING, Z.; SHI, Y.; WENG, X. Chronic Meningitis: A Review of 140 Cases. **Clin. J. Infect. Dis.** 15:116-7. 1997.
- [22] MITCHELL, T.; PERFECT, J. Cryptococcosis in the Era of AIDS 100 years After the Discovery of *Cryptococcus neoformans*. **Clin. Microbiol. Rev.** 8:515-48. 1995.
- [23] PÉREZ, C.; DOLANDE, M.; MOYA, M.; ROSELLÓ, A.; HARTUNG, C.; MATA, S. *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus gattii*: serotypes in Venezuela. **Mycopathologia.** 166:149-53. 2008.
- [24] PÉREZ, C.; HERNÁNDEZ, Y.; COLELLA, M.; ROSELLÓ, A.; HARTUNG, C.; OLAIZOLA, C.; ET AL. Identificación de *Cryptococcus* sp., mediante el Auxanograma modificado por Araujo. **Kasmera.** 32(1):16-26. 2004.
- [25] PFEIFFER, T.; ELLIS, D. Environmental isolation of *Cryptococcus neoformans* var *gattii* from *Eucalyptus tereticornis*. **J. Med. Vet. Mycol.** 30:407-8. 1992.
- [26] QUICAÑO, L.; ROMERO, S.; ZURITA, S.; CASQUERO, J. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en heces, suelo y aire de viviendas con palomas domésticas *Columbia livia*. Ayacucho. **III Congreso Latinoamericano de Micología. Venezuela: Sociedad Latinoamericana de Micología.** 101pp. 1999.
- [27] QUINTERO, E.; CASTAÑEDA, E.; RUIZ, A. Distribución ambiental del *Cryptococcus neoformans* en el Departamento de Cundinamarca- Colombia. **Rev. Iberoam. Micol.** 22:93-8. 2005.
- [28] SORELL, T.; ELLIS, H. Ecology of *Cryptococcus neoformans*. **Rev. Iberoam. Micol.** 14:42-3. 1997.
- [29] SWINNE, D.; DEPPNER, M.; MANIRATUNGA, S.; LAROCHE, R.; FLOCH, J.; KADENDE, P. AIDS-associated Cryptococcosis in Bujumbura, Burundi: an epidemiological study. **J. Med. Vet. Micol.** 29:25-30. 1991.
- [30] WELLS, R.; GAJJAR, A.; PEARSON, T.; HALE, K.; SHENEP, J. Pulmonary cryptosporidiosis and *Cryptococcus albidus* fungemia in a child with acute lymphatic leukemia. **Med. Pediatr. Oncol.** 31:544-6. 1998.