



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS

AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**“PRESENCIA DE *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* EN
BALANCEADO A GRANEL PARA PERROS EN CUATRO
MERCADOS DE LA CIUDAD DE CUENCA”**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO**

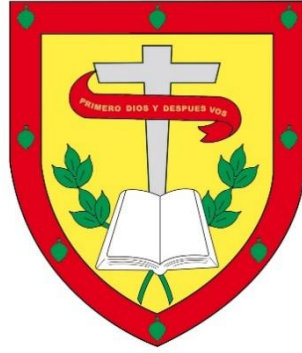
AUTOR: DANIEL FERNANDO MORALES BUCHELI

DIRECTOR: QF. NATHALIE CAMPOS MURILLO, MSC

CUENCA – ECUADOR

2025

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS

AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**PRESENCIA DE *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* EN BALANCEADO
A GRANEL PARA PERROS EN CUATRO MERCADOS DE LA
CIUDAD DE CUENCA**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO**

AUTOR: DANIEL FERNANDO MORALES BUCHELI

DIRECTOR: QF. NATHALIE CAMPOS MURILLO, MSC

CUENCA-ECUADOR

2025

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



Declaratoria de autoría y Responsabilidad

Daniel Fernando Morales Bucheli portador de la cédula de ciudadanía N° **0107220030**. Declaro ser el autor de la obra: **“Presencia de Cryptococcus neoformans en balanceado a granel para perros en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca”**, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **1 de Julio de 2025**

Daniel Fernando Morales Bucheli

0107220030

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CERTIFICACIÓN

Yo, Nathalie del Consuelo Campos Murillo con cédula de identidad N. ° 0302157300, en calidad de directora del trabajo de titulación con el tema “PRESENCIA DE *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* EN BALANCEADO A GRANEL PARA PERROS EN CUATRO MERCADOS DE LA CIUDAD DE CUENCA”. Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Daniel Fernando Morales Bucheli portador de la cédula de ciudadanía N. ° 0107220030, bajo mi supervisión.



QF. Nathalie Campos Murillo, MSc.

DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

DOCENTE DE LA CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

DEDICATORIA

A mi madre, por todo el sacrificio que hizo por mí desde el inicio de mi carrera hasta la culminación de esta, por brindarme su apoyo incondicional incluso en los días más oscuros y por su fe inquebrantable hacia mí. Te amo con todo mi ser y este trabajo es mi modesta forma de agradecerte por todo el amor que me brindas día a día. Gracias por ser la mejor madre del mundo.

A mi padrastro, Alonso, por su constante apoyo y compromiso a lo largo de mi formación académica.

A mis hermanas, Samantha y Katherine, por ser mis mejores amigas, por cada risa compartida y por toda la motivación que me dieron para nunca echarme para atrás, esta tesis es una muestra de mi cariño hacia ustedes.

A mi tíos, Erika y Sebastián, por ser un ejemplo de dedicación y perseverancia, por inculcarme buenos valores y ser mi modelo para seguir no solo académicamente si no también en lo personal.

Daniel Fernando Morales Bucheli

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, expreso mi agradecimiento a mi universidad, por brindarme una formación académica rigurosa que, si bien representó un gran desafío, me permitió alcanzar el tan anhelado título profesional.

Agradezco a mi tutora de tesis, la Dra. Nathalie Campos, por su valiosa orientación y paciencia a lo largo de todo el desarrollo de este proyecto.

De igual manera, expreso mi más sincero y profundo agradecimiento al Ing. Manuel Maldonado por brindarme generosamente de su tiempo y su ayuda.

Daniel Fernando Morales Bucheli

ÍNDICE

Declaratoria de autoría y responsabilidad.....	III
Certificación.....	IV
Dedicatoria.....	V
Agradecimientos.....	VI
Resumen	8
Abstract	9
Introducción.....	10
Metodología	11
Resultados.....	14
Discusión.....	17
Conclusiones	20
Referencias Bibliográficas	22
Autorización de publicación en el repositorio institucional	26

Resumen

Cryptococcus neoformans es una levadura encapsulada de importancia médica y veterinaria, asociada a la criptococosis, una micosis oportunista que puede aislarse en superficies contaminadas, comprometiendo la salud pública. Afecta principalmente a individuos inmunodeprimidos. El objetivo del estudio fue evaluar la presencia de *Cryptococcus neoformans* en el alimento a granel para perros en cuatro mercados de alta concurrencia de la ciudad de Cuenca, considerando dicho alimento como posible vehículo de diseminación del hongo hacia animales de compañía y personas.

Se procedió a la recolección de un total de 45 muestras que fueron cultivadas en el medio Sabouraud con Cloranfenicol e incubadas a 37°C durante 7 días. El estudio macroscópico evidenció crecimiento de colonias blanquecinas y cremosas acompañadas de mohos oportunistas. Mediante examen microscópico y posterior identificación por espectrometría de masas MALDI-TOF, se determinó la presencia de *Cándida parapsilosis*.

C. neoformans no fue detectado en las muestras analizadas, los hallazgos evidencian la contaminación microbiológica del alimento por levaduras asociadas a excretas de palomas, lo cual representa un potencial riesgo para la salud pública, especialmente en poblaciones vulnerables expuestas a aerosoles contaminados.

Palabras claves: *Cryptococcus neoformans*, alimento para perros, contaminación microbiológica, excretas de palomas, salud pública.

Abstract

Cryptococcus neoformans is an encapsulated yeast of medical and veterinary importance, associated with cryptococcosis —an opportunistic mycosis that mainly affects immunocompromised individuals. This study aimed to evaluate the presence of *Cryptococcus neoformans* in bulk dog food sold in five busy markets in the city of Cuenca, considering this food as a possible vehicle for dissemination of the fungus to pets and people.

A total of 45 samples were collected cultured on Sabouraud agar supplemented with Chloramphenicol and incubated at 37°C for seven days. The macroscopic study showed the growth of whitish and creamy colonies accompanied by opportunistic molds. By microscopic examination and subsequent identification by MALDI-TOF mass spectrometry, the presence of *Candida parapsilosis* was confirmed.

C. neoformans was not detected in the samples analyzed. These findings show the microbiological contamination of food by yeasts associated with pigeon droppings, which represents a potential risk to public health, especially for vulnerable populations exposed to contaminated aerosols.

Keywords: *Cryptococcus neoformans*, dog food, microbiological contamination, pigeon droppings, public health.

Introducción

El entorno urbano actual favorece la proliferación de palomas (*Columba livia*), especialmente por prácticas humanas como la exposición de alimentos a la intemperie sin normas adecuadas de almacenamiento (Arteaga et al. 2023), lo que facilita la acumulación de excretas y la diseminación de patógenos como *Cryptococcus neoformans* (Nunes et al. 2021). Esta levadura encapsulada es un hongo oportunista ampliamente distribuido en el ambiente, con afinidad por componentes presentes en las excretas como ácido úrico, urea y creatinina (Serna et al. 2021), y puede aislarse en superficies contaminadas (Caicedo & Álvarez, 2020).

En Cuenca se han realizado estudios a partir de muestras cloacales y de excretas (Palaguachi, 2024; Corte, 2021); sin embargo, no se ha evaluado su presencia en alimentos balanceados para perros vendidos a granel, los cuales están expuestos a la contaminación por aves en mercados urbanos. Se ha demostrado que estos productos pueden contener bacterias patógenas como *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* (Rubio et al., 2021), y aunque el proceso de extrusión reduce la carga microbiana inicial (Muñoz et al., 2015), las malas prácticas de almacenamiento, junto con factores ambientales como humedad, temperatura, y pH, favorecen el desarrollo fúngico (Davis, 2023; Chen et al. 2023).

Estudios en América Latina han reportado prevalencias variables de *C. neoformans* en excretas secas de palomas: 5.16 % en Perú (Timmermann et al. 2020), 4.5 % en El Salvador (Funes et al. 2022) y hasta 26.56 % en Colombia (Vallejo et al. 2016), según condiciones ambientales como ventilación, luz solar y densidad de aves.

La criptococosis, enfermedad causada por *Cryptococcus spp.*, es una infección potencialmente fatal, especialmente en personas inmunocomprometidas como pacientes con VIH/SIDA (Firacative et al. 2021; Moreno et al. 2022), pero también puede afectar a individuos inmunocompetentes, aunque en menor grado (Normile, 2020; Tovar et al. 2023).

La meningitis criptocócica es su manifestación más severa, aunque puede comprometer múltiples órganos (Dawaher et al. 2024; Howard et al. 2022).

Dada la alta prevalencia del patógeno, su adaptabilidad ambiental (Schwiesow et al. 2024), y su potencial zoonótico, es prioritario identificar fuentes de exposición (Messina et al. 2022). Aunque el aislamiento directo desde aves es posible, se prefieren muestras ambientales secas sin mezcla con excretas de otras especies y sin exposición a radiación UV (Cabrera, 2024). Bajo este contexto el objetivo del estudio fue evaluar la presencia de *Cryptococcus neoformans* en alimento balanceado para perros expandido a granel en cuatro mercados de alta afluencia de la ciudad de Cuenca, como posible fuente de contaminación fúngica y riesgo para la salud pública.

Metodología

El estudio se realizó en cuatro mercados de alta concurrencia y elevada densidad de palomas ubicados en la ciudad de Cuenca, provincia del Azuay, Ecuador: 9 de Octubre, 27 de Febrero, El Arenal y 10 de Agosto. La investigación tuvo como objetivo determinar la prevalencia de *Cryptococcus neoformans* en alimento balanceado a granel distribuido en estos mercados. Se recolectaron un total de 45 muestras, distribuidas de la siguiente manera: 18 del mercado 9 de Octubre, y 9 muestras de cada uno de los mercados 27 de Febrero, El Arenal y 10 de Agosto. Todas las muestras fueron transportadas bajo condiciones controladas al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica de Cuenca, donde se llevaron a cabo los respectivos análisis microbiológicos.

Recolección de muestras

Se emplearon fundas plásticas tipo Ziploc para recolectar 250 gramos de balanceado a granel proveniente de diferentes establecimientos de venta en los mercados seleccionados. Las muestras se sellaron y rotularon debidamente, posterior se las introdujo en una caja de poliuretano para su debido transporte hacia el Laboratorio con el fin de evitar la contaminación

cruzada, cambios de temperatura y exposición a la luz solar, los cuales son factores decisivos a la hora de mantener la integridad de las muestras.

En el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Católica de Cuenca se procedió a la preparación de los medios de cultivo: agua peptonada y agar Sabouraud dextrosa con cloranfenicol, siguiendo los lineamientos establecidos por las normas ISO pertinentes.

Preparación de medios de cultivo

Se pesó 15 gramos de agar peptona y se disolvió en 1 litro de agua destilada. La mezcla se homogenizó, se llevó a ebullición en microondas y se distribuyó en frascos de vidrio. Estos fueron esterilizados en autoclave a 121 °C durante 15 minutos, se dejó enfriar y se almacenó bajo refrigeración hasta su uso. Se pesó 65 gramos del medio Sabouraud con cloranfenicol y se disolvió en 1 litro de agua destilada. La mezcla se calentó hasta su completa homogenización y luego se transfirió a frascos de vidrio. Se esterilizó en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Posteriormente, se dejó enfriar hasta alcanzar una temperatura de entre 50 y 55 °C.

Finalmente, bajo condiciones estériles dentro de una cabina y con el uso de un mechero para crear una corriente ascendente de aire caliente, se plaqueó el medio en cajas de Petri. Se las dejó reposar hasta su solidificación, se selló cada caja con cinta Parafilm y se almacenaron en refrigeración envueltas en plástico film.

Preparación de muestras

Cada muestra fue extraída individualmente de su contenedor y triturada con un mortero hasta obtener fragmentos de aproximadamente 1 cm de diámetro. Se pesó 25 gramos del material reducido y se insertó en una funda Ziploc junto con 225 ml de agua peptonada. La mezcla se homogenizó, se selló y se dejó reposar durante 10 minutos para obtener el sobrenadante, conforme a lo establecido en la norma ISO 6579-1:2007.

Siembra

Para la siembra se realizó dos diluciones: 1:10 y 1:100, se dispusieron tubos de ensayo estériles, los cuales fueron rotulados con marcador permanente indicando número de muestra y dilución correspondiente. Para la dilución 1:10 se mezcló 1 ml del sobrenadante con 9 ml de agua destilada estéril. Posteriormente, se tomó 1 ml de esta dilución y se agregó a otro tubo con 9 ml de agua estéril para obtener la dilución 1:100. Se empleó una pipeta estéril distinta para cada muestra a fin de evitar contaminación cruzada.

Subsecuentemente, se inoculó 1 ml de cada dilución en las cajas de Petri que contenían agar Sabouraud, empleando la técnica de siembra por extensión con hisopo, con el fin de favorecer un crecimiento micótico uniforme. Las cajas fueron selladas y rotuladas con la fecha de procesamiento, su origen, su número de muestra y su nivel de dilución correspondiente. Finalmente, se envolvieron con plástico film para evitar contaminación externa oportunista y se incubaron a una temperatura constante de 30 °C durante un período de 7 días.

Microscopía

Finalizado el período de incubación, se procedió a la evaluación del crecimiento fúngico de acuerdo con los lineamientos establecidos en la norma ISO 21527-1:2008. Las colonias con morfología compatible con *Cryptococcus neoformans*, descritas como cremosas, blanquecinas y de aspecto brillante, fueron seleccionadas para su análisis mediante la técnica de tinción con tinta china, con el propósito de evidenciar la presencia del halo capsular característico de este microorganismo.

Para ello, se dispusieron los portaobjetos y empleando un asa de siembra estéril se tomó una pequeña cantidad de la colonia sospechosa y se mezcló con una gota de tinta china, se extendió cuidadosamente sobre el portaobjetos y se dejó secar, como paso final, se colocó un cubreobjetos y se añadió una gota de aceite de inmersión para su observación al microscopio mediante un lente objetivo de 100x.

Eliminación de material biológico

Al finalizar el análisis, el material utilizado (restos de cultivo, portaobjetos e instrumentos) se recolectó cuidadosamente con una cuchara de laboratorio y se transfirió a un recipiente de vidrio resistente a altas temperaturas, a continuación, se sometió a un proceso de esterilización mediante autoclave y se descartó el material residual.

Resultados

En este estudio, se evaluó la prevalencia de *Cryptococcus Neoformans* en balanceado a granel para perros, que se comercializa en distintos mercados de la ciudad de Cuenca, se realizó el muestreo mediante la obtención de alimento de locales aledaños para su análisis, se tomó un total de 45 muestras de los mercados y se realizó la siembra con dos diluciones.

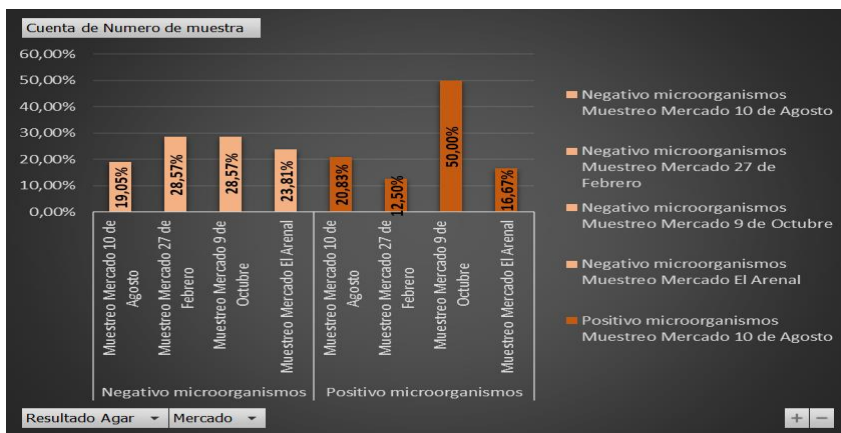
Luego de un análisis detallado, se obtuvieron 7 muestras con un crecimiento fúngico que presentaban colonias con características físicas observables similares a las de *Cryptococcus Neoformans*. Por lo cual fueron consideradas sospechosas para el patógeno y para su posterior análisis mediante la técnica de tinta china y verificación microscópica. Al realizar la prueba, esta resultó negativa para todas las muestras bajo sospecha.

Dentro de un análisis general, de un total de 45 muestras se obtuvo como resultado 21 muestras negativas a microorganismos contra 24 muestras positivas, en donde se observa una tendencia marcada de contaminación en el mercado 9 de octubre con un 50% del total de muestras contaminadas tal como se ilustra en la Figura 1.

Mediante la observación microscópica se pudo constatar la presencia de hifas de características similares a *Aspergillus* spp. de las cuales, de un total de 45, en 17 (37,7%) se presentó solo hifas, en 4 de ellas (8,88%) se observó crecimiento de colonias y 3 (6,67%) hubo crecimiento de ambos microorganismos en convivencia.

Figura 1

Muestras positivas y negativas a microorganismos acorde al lugar de muestreo.



Adicionalmente, se evaluó la asociación entre los lugares de muestreo y la proporción de resultados positivos y negativos mediante la prueba de Chi cuadrado (χ^2), en donde el valor p (≈ 0.149) es mayor que 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. Esto indica que no hay evidencia estadísticamente significativa de que los lugares estén asociados con la proporción de casos positivos o negativos.

En la Figura 2, se detalla el análisis molecular MALDI-TOFF, el cual constató que las colonias sospechosas presentes en las 7 placas pertenecían a la especie de *Cándida parapsilosis*.

Figura 2

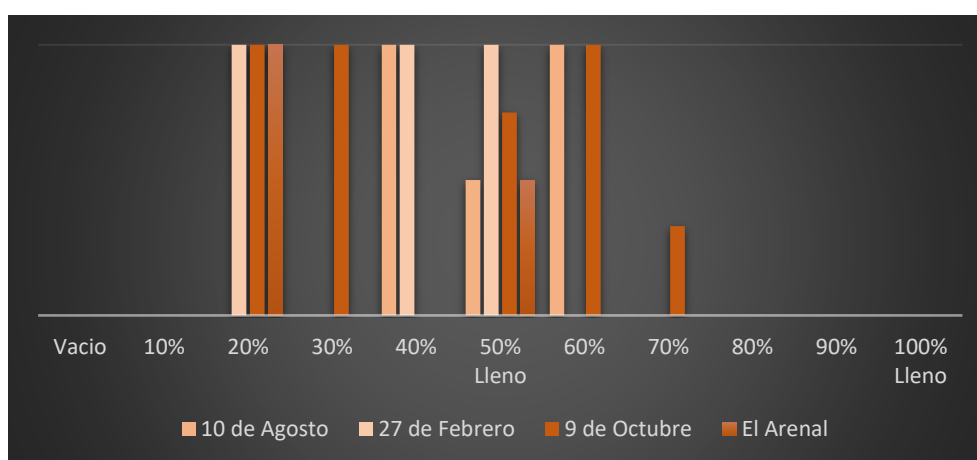
Análisis molecular MALDI-TOFF.



Del mismo modo se tomó en cuenta el porcentaje restante de la cantidad de alimento en el empaque expuesto al exterior, en donde se observó que cuando las fundas alcanzan el 50%, la totalidad de mercados presentan muestras positivas y en este caso se puede notar que conforme la funda está más vacía (20%) el número de casos positivos se acrecienta, tanto en frecuencia total, como la relativa a los mercados, como se detalla en la Figura 3.

Figura 3

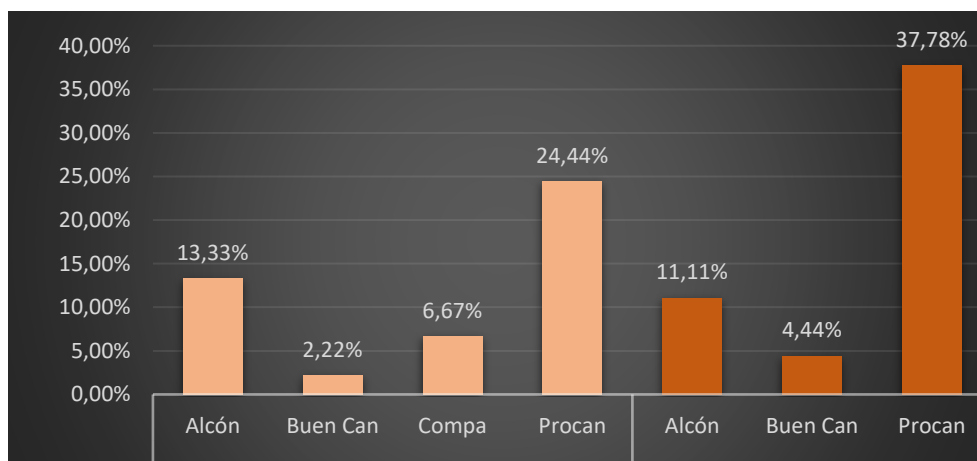
Casos positivos en relación con el porcentaje de contenido restante de cada funda de alimento.



Finalmente, del total de las muestras recogidas ($n=45$) se observó que el alimento balanceado con más demanda pertenece a la marca Procan del cual se obtuvieron el 62.22% de las muestras pertenecientes al estudio y dentro de las cuales un 37.78% presentó contaminación, seguida de la marca Alcón con un 24.24% del total de muestras, Compa con un 6.67% y Buen Can con el 6.66% del total de muestras ($n=45$), como se observa en la Figura 4.

Figura 4

Número de muestras obtenidas por marca de balanceado.



Discusión

En un estudio anterior realizado por Palaguachi et al. (2024) en la ciudad de Cuenca, se analizaron muestras (n=94) provenientes de palomas mediante la técnica de hisopado nasal, sin encontrarse casos positivos. Este hecho sugiere que *Cryptococcus Neoformans* no es un patógeno frecuente en la población de aves en la ciudad. La baja prevalencia de este patógeno en las palomas como vector principal, permite también deducir una reducida probabilidad de hallar patógenos en fuentes indirectas de contaminación, como los alimentos secos. De igual manera, en el análisis del presente estudio la ausencia del patógeno en el alimento balanceado está dada por la baja presencia en el entorno inmediato, lo que concuerda con los resultados obtenidos.

Además, múltiples investigaciones también han señalado al factor de la radiación solar como un limitante relevante, con impacto directo sobre el desarrollo del hongo en excretas de paloma (Cordero et al. 2022), factor que del mismo modo se consideró en el marco de la presente investigación y concuerda con la baja probabilidad de encontrar casos positivos.

Si bien no existen estudios en la ciudad que evalúen el alimento balanceado seco para caninos como una fuente viable de reserva del patógeno, este estudio se sustentó de distintas investigaciones relacionadas. Fazelipour et al. (2020) examinaron la supervivencia del patógeno en alimentos conservados por congelamiento; López et al. (1995) realizaron un muestreo en diversos tipos de vegetales y frutas que tenían contacto directo con las excretas de aves portadoras de *Cryptococcus neoformans*; y Pal et al. (1990) observaron su viabilidad en superficies vegetales. Por su parte, Davis Rosado (2023) explica que al exponer los alimentos secos a la interperie, absorben humedad del ambiente, creando un medio enriquecido y apto para albergar bacterias, mohos y levaduras.

Aunque, no se identificó *Cryptococcus neoformans* en este estudio, se detectó el hongo *Cándida parapsilosis* en un 15.5% de las muestras. Acorde a lo mencionado por Branco et al. (2023), este hongo tiene la su capacidad de generar biofilm y adherirse sin alteraciones en superficies abióticas, ocupando el segundo lugar dentro de las especies de *Cándida* que causan infecciones oportunistas mundialmente.

Cabe resaltar que en el muestreo de esta investigación, la marca ProCan perteneciente a la empresa PRONACA, es la más difundida en los diferentes puestos de comercio, con un 75% del total de las muestras. Esta marca, es la más reconocida por su amplia distribución y demanda dentro de las grandes ciudades del Ecuador, como lo expone Torres (2014) mediante un estudio de mercado. Dentro de su formulación se incluyen derivados carnicos y granos enriquecidos con vitaminas y minerales, los cuales según Geicu et al. (2023), son capaces de albergar microorganismos fungicos y micotoxinas si no se almacenan y/o distribuyen adecuadamente.

Por otra parte, también se evidenció una considerable contaminación causada por otros microorganismos. Entre los identificados está *Cándida parapsilosis* e hifas con características afines a *Aspergillus* spp. Esto concuerda con el estudio de Soltani et al. (2013), en el cual se

analizaron un total de 120 muestras y un 2.5 % resultó ser positiva para *Cryptococcus neoformans*, además se identificaron otras levaduras, entre ellas *C. parapsilosis*, también hallada en el presente trabajo. Esto confirma que el microorganismo principal de este estudio es capaz de mantener una coexistencia con la misma, dada su asociación con un vector común transmisor (*Columba livia*). Por esta razón, ambas especies pueden identificarse en una misma muestra obtenida a partir de excretas, lo que indicaría una posible exposición del alimento balanceado a residuos fecales de palomas.

Así mismo, en el trabajo de Lima Coronel et al. (2020) se registró la presencia de *C. parapsilosis* en un 1.2 % del total de pacientes geriátricos, lo que demuestra la posibilidad de coexistencia de este microorganismo con *C. neoformans*, en un mismo medio, en este caso la dermis. Ambas especies poseen un potencial patógeno relevante, especialmente para personas con factores de riesgo que comprometen su sistema inmunológico. Además, los resultados expuestos en este trabajo señalan que *C. parapsilosis* es una de las especies mas comunes que causan afección a la salud humana en especial a neonatos y adultos inmunocomprometidos, además de su potencial y notable resistencia antimicótica.

Las hifas presentes en un 42.2 % de las muestras de este trabajo podrían indicar la presencia de hongos productores de micotoxinas. Estudios como los de Deligeorgakis et al. (2023) y Yang et al. (2023) estudiaron el impacto que tienen estos alimentos contaminados sobre la salud animal y humana; explican la importancia de un monitoreo de la calidad de los alimentos suministrados a los perros, incluso una mínima cantidad de micotoxinas incluso por debajo de los límites establecidos genera un impacto importante a largo plazo en la salud de los animales de compañía. Además, la diferencia en cuanto a la formulación, los alimentos para perros contienen un porcentaje mayor de cereales como el trigo en comparación a otros, esto los convierte en un blanco fácil mucho mas susceptible a la contaminación fúngica. Entonces sugiere de forma indispensable un monitoreo constante y riguroso de la calidad de los alimentos

dentro de un enfoque más específico, dado que algunos tipos de micotoxinas se mantienen estables en los alimentos y cuando son ingeridas se almacenan progresivamente en órganos, comprometiendo el funcionamiento fisiológico a nivel gastrointestinal, nervioso u orgánico a largo plazo (Yang et al. 2023).

Cabe señalar, además, que en la investigación ya mencionada de Lima Coronel et al. (2020), se evidenció un 0.30 % de casos positivos de *Cryptococcus neoformans* a nivel dérmico, en un total de historias clínicas analizadas (n=417). Este hallazgo constituye una prueba de su presencia y viabilidad en poblaciones vulnerables. Aunque en nuestro estudio no se hallaron resultados positivos, este antecedente evidencia la necesidad de generar un rastreo de posibles vectores contaminantes y reservorios ambientales del microorganismo en nuestro entorno, incluso cuando los estudios no detectan su presencia directa.

Para finalizar, el estudio presentó las siguientes limitaciones que deben ser consideradas, en primer lugar la investigación se centró exclusivamente en muestras de alimento balanceado secos para caninos como una fuente indirecta de contaminación, unidad de análisis con sensibilidad reducida para la recuperación del patógeno, en comparación con otras muestras como excretas desecadas de palomas o partículas provenientes de nidales, que han mostrado mayor sensibilidad para la detección de *Cryptococcus neoformans*. En segundo lugar la exposición a la luz solar puede haber afectado negativamente en la obtención de muestras viables para laboratorio.

Finalmente, para la detección no se aplicó una técnica molecular más sensible, como el ensayo de LAMP, que podría haber mejorado la capacidad de detección del patógeno a nivel del laboratorio en concentraciones bajas.

Conclusiones

En consecuencia, los resultados obtenidos en este estudio no demostraron la presencia de *Cryptococcus neoformans* en muestras de alimento seco a granel formulado para perros que

se comercializan en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca (El Arenal, 9 de Octubre, 27 de Febrero, 10 de Agosto). No obstante, en el análisis de verificación se observó contaminación por *Cándida parapsilosis*, esta levadura suele estar acompañada de *Cryptococcus neoformans*; es responsable de la mayor parte de casos de candidiasis resistente en mucosas, piel o en órganos internos en pacientes inmunocomprometidos.

Se sugiere para próximos estudios indagar la prevalencia de *Cryptococcus neoformans* basándose en muestras de diferente índole tales como, residuos de almacenamiento y superficies de contacto en los puntos de venta, igualmente considerando la población de palomas de cada sector.

Así mismo, se recomienda el empleo de métodos moleculares de mayor sensibilidad, como la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), con el fin de mejorar la detección de *Cryptococcus neoformans* en niveles bajos de carga fúngica. Este enfoque contribuirá a la obtención de datos más concisos para fortalecer la vigilancia sanitaria e implementación de medidas de control y prevención en la distribución de alimentos para mascotas.

Referencias Bibliográficas

- Arteaga, M. d., Asmat, I., & León, D. F. (2023). Percepciones acerca de la presencia de palomas en espacios públicos y su importancia en la salud pública en un distrito de Lima, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 34(1), 1. doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v34i1.23120>
- Branco, J., Miranda, I., & Rodrigues, A. (2023). Candida parapsilosis Virulence and Antifungal Resistance Mechanisms: A Comprehensive Review of Key Determinants. *Journal of Fungi*, 9(1), 80. doi:<https://doi.org/10.3390/jof9010080>
- Cabrera Pucha, M. (2024). *Prevalencia de “Cryptococcus hominis” en heces de palomas mediante cultivo microbiológico en la ciudad de Pasaje [Tesis de Grado, Universidad Técnica de Machala]*. Repositorio Institucional. Obtenido de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/23843>
- Caicedo, L., & Alvarez, M. (2020). Crecimiento del complejo Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii en extractos de excretas de palomas. *Ciencias De La Salud*, 16, 218-229. doi:<https://dx.doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.1.6087>
- Chen, J. S., Dai, M., Fang, W., & Yang, Y.-L. (2023). Adaptive immunology of Cryptococcus neoformans infections—an update. *Frontiers in Immunology*, 14, 1-3. doi:<https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1174967>
- Cordero, R., Dragotakes, Q., Friello, P., & Casadevall, A. (2022). Melanin protects Cryptococcus neoformans from spaceflight effects. *Environmental Microbiology Reports*, 14(4), 679-685. doi:10.1111/1758-2229.13078
- Corte Pérez, A., & Sánchez Bueno, M. (2021). *Protocolos de extracción de material genético de excretas de palomas (Columba livia) para la detección de hongos patógenos mediante ensayos LAMP [Tesis de grado, Universidad de Cuenca]*. Repositorio institucional. Obtenido de <https://rest-dspace.ucuenca.edu.ec/server/api/core/bitstreams/11f66237-7c67-412e-803a-6e624f45ca42/content>
- Davis Rosado, M. S. (2023). *DETERMINACIÓN DE MOHOS Y LEVADURAS EN BALANCEADOS PARA FELINOS COMERCIALIZADOS AL GRANEL EN DOS MERCADOS DEL SUR DE GUAYAQUIL, 2023 [Tesis de grado, Universidad Agraria del Ecuador]*. Repositorio institucional. Obtenido de <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/DAVIS%20ROSADO%20MARIA%20SARA.pdf>
- Davis Rosado, S. (2023). *DETERMINACIÓN DE MOHOS Y LEVADURAS EN BALANCEADOS PARA FELINOS COMERCIALIZADOS AL GRANEL EN DOS MERCADOS DEL SUR DE GUAYAQUIL [Tesis de Grado, Universidad Agraria del Ecuador]*. Repositorio Institucional.
- Dawaher Dawaher, J. E., Medina Salinas, G. E., & Castro Reyes, E. E. (2024). Criptococosis diseminada en VIH/SIDA: un llamado a la sospecha clínica. *CAMBios*, 3(2), 1-6. doi:<https://doi.org/10.36015/cambios.v23.n2.2024.975>

- Deligeorgakis, C., Magro, C., Skendi, A., Habtegebriel Gebrehiwot, H., Valdramidis, V., & Papageorgiou, M. (2023). Fungal and Toxin Contaminants in Cereal Grains and Flours: Systematic Review and Meta-Analysis. *Foods*, 12(23), 4328. doi:10.3390/foods12234328
- Fazelipour, M., Neisi, A., Alizadehattar, S., & Kiasat, N. (2020). Isolation and Identification of Psychotropic Fungal Contamination in Food Storage Refrigerators in Ahvaz City Restaurants. *Jundishapur Journal of Health Sciences*, 12(2), 1-2. doi:10.5812/jjhs.100866
- Firacative, C., Meyer, W., & Castañeda, E. (2021). Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii Species Complexes in Latin America: A Map of Molecular Types, Genotypic Diversity, and Antifungal Susceptibility as Reported by the Latin American Cryptococcal Study Group. *Journal of Fungi*, 7(4), 282. doi:https://doi.org/10.3390/jof7040282
- Funes, G., Mata-Delgado, C., Jaikel-Viquez, D., & Guerrero-Mendoza, Z. V. (2022). Aislamiento de Cryptococcus neoformans en excrementos de paloma de Castilla (Columba livia) provenientes de lugares públicos de El Salvador. *Acta Médica Costarricense*, 64(1), 52-57. doi:http://dx.doi.org/10.51481/amc.v64i1.1227
- Howard-Jones, A., Sparks, R., Pham, D., Halliday, C., Beardsley, J., & A-Chen, S. (2022). Pulmonary Cryptococcosis. *Journal of Fungi*, 8(11), 1-19. doi:https://doi.org/10.3390/jof8111156
- Ionut Geicu, O., Bilteanu, L., Stanca, L., Ionescu Petcu, A., Iordache, F., Magdalena Pisoschi, A., & Iren Serban, A. (2023). Composition-Based Risk Estimation of Mycotoxins in Dry Dog Foods. *Foods*, 12(1), 110. doi:10.3390/foods12010110
- Lima Coronel, E. V., & Siguenza Trelles, V. S. (2020). *Prevalencia de Micosis superficiales en adultos mayores de centros gerontológicos residenciales y de atención diurna de la ciudad de Cuenca durante el período 2014-2018, 2020 [Tesis de grado, Universidad de Cuenca]*. Repositorio institucional. Obtenido de <https://dspace-test.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/34099/1/Trabajo%20de%20titulaci%C3%B3n.pdf>
- López-Martínez, R., & Castañón-Olivares, L. (1995). Isolation of Cryptococcus neoformans var. neoformans from bird droppings, fruits and vegetables in Mexico City. *Human And Animal Mycology*, 129(1), 25-28. doi:10.1007/bf01139333
- Messina, F., de las Mercedes Romero, M., Marin, E., Benchetrit, A., Arechavala, A., Depardo, R., . . . María Santiso, G. (2022). Características clínicas, métodos diagnósticos y evolución de la criptococosis extrameningea en personas viviendo con VIH. *Actualizaciones En Sida E Infectología*, 30(109), 1-2. doi:https://doi.org/10.52226/revista.v30i109.134
- Moreno Guambo, E. L., Viteri Rojas, A. M., Suquillo Anaguano, J. F., & Campoverde Espinoza, R. R. (2022). Factores de riesgo de Criptococosis en paciente inmunodeprimidos VIH. *RECIMUNDO*, 6(2), 309-317. doi:https://doi.org/10.26820/recimundo/6.(2).abr.2022.309-317

- Muñoz, D. J., Rodríguez, R., Mota, J. J., & Suarez, L. R. (2015). AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS EN ALIMENTOS CONCENTRADOS PARA MASCOTAS DOMÉSTICAS (PERROS Y GATOS). *Redalyc*, 25(6), 432-438. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95944009003>
- Normile, T. G., & Del Poeta, M. (2020). Animal Models of Cryptococcus neoformans in Identifying Immune Parameters Associated With Primary Infection and Reactivation of Latent Infection. *Frontiers in Immunology*, 11, 1-3. doi:10.3389/fimmu.2020.581750
- Nunes Calumby, R. J., Porfirio da Silva, D., Teotônio de Farias Moreira, R., Cabral Silva, J., Meireles Grillo, L. A., & dos Santos Araújo, M. A. (2021). Prevalencia y susceptibilidad de Cryptococcus neoformans aislados del suelo y excretas de palomas en la ciudad de Maceió – AL, Brasil. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, 20(2), 245–252. doi:<https://doi.org/10.9771/cmbio.v20i2.36999>
- Pal, M. (1990). Isolation of Saprophytic Cryptococcus neoformans. *The Japanese Journal of Veterinary Science*, 52(6), 1171-1174. doi:10.1292/jvms1939.52.1171
- Pal, M. (2020). First report on the isolation of Cryptococcus neoformans from the dust of air conditioners in Bharuch, Gujarat, India. *Journal of Advances in Microbiology Research*, 1(2), 67-71. Obtenido de <https://www.microbiojournal.com/article/91/4-1-42-861.pdf>
- Palaguachi, J., & Wiliam. (2024). *PREVALENCIA DE MICROBACTERIAS SSP. Y DE CRYPTOCOCCUS SSP. POR HISOPADO EN PALOMAS DOMÉSTICAS (COLUMBA LIVIA) QUE SE ENCUENTRAN LIBRES EN EL PARQUE DE SANTO DOMINGO EN LA CIUDAD DE CUENCA. [Tesis de grado, Universidad Técnica de Machala]*. Repositorio institucional. Obtenido de <https://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/23866/1/10.%20Tesis%20Palaguachi.pdf>
- Rubio-Arias, P., Merchán-Palomeque, T., Campos-Murillo, N., Castillo-Hidalgo, E., & Maldonado-Cornejo, M. (2021). Presencia de Enterobacteriales en alimento balanceado de Mascotas. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia*, 32, 1-3. doi:<https://doi.org/10.52973/rcfcv-e32072>
- Schwiesow, M., Elde, N., & Hilbert, Z. (2024). Distinct routes to thermotolerance in the fungal pathogen Cryptococcus neoformans. *bioRxiv*. doi:<https://doi.org/10.1101/2024.04.08.588590>
- Serna, B., Guzmán, D., Forero, M., Escandón, P., & Sánchez, Z. (2021). Environmental Status of Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii in Colombia. *Journal of Fungi*, 7, 410. doi:<https://doi.org/10.3390/jof7060410>
- Soltani, M., Bayat, M., Hashemi, S., Zia, M., & Pestechian, N. (2013). Isolation of Cryptococcus neoformans and other opportunistic fungi from pigeon droppings. *Journal of Research in Medical Sciences*, 18(1), 56-60. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3719228/>

- Timmermann F, R., Morales-Cauti, S., & Villacaqui A, E. (2020). Cryptococcus neoformans en heces de palomas mensajeras y de Castilla (Columba livia) en Lima, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 31(3), 1. doi:http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i3.18732
- Torres, Y. (2014). *Estudio de la Industria de Alimentos para Mascotas en la Ciudad de Quito [Tesis de maestría, Universidad Andina Simón Bolívar]*. Repositorio institucional.
- Tovar Tirado, J., Briceño Ricaurte, O. A., Ramírez Bohórquez, C., Páez Ardila, H. A., & Romero Rodríguez, S. (2023). Amphotericin B-resistant pulmonary cryptococcosis isolated in a patient with human immunodeficiency virus infection: case report. *Revista Colombiana de Neumología*, 35(1), 75-81. doi:https://doi.org/10.30789/rcneumologia.v35.n1.2023.610
- Vallejo Timarán, D. A., Benavides Melo, C. J., Chaves Velásquez, C. A., Morillo Caicedo, M. I., & Castillo Ceballos, A. M. (2016). AISLAMIENTO DE Cryptococcus neoformans EN HECES DE PALOMAS (Columba livia) EN EL CASCO URBANO DEL MUNICIPIO DE PASTO, COLOMBIA. *Biosalud*, 15(1), 62-71. doi:10.17151/biosa.2016.15.1.7
- Yang, L., Yang, L., Cai, Y., Luo, Y., Wang, H., Wang, L., . . . Liu, N. (2023). Natural mycotoxin contamination in dog food: A review on toxicity and detoxification methods. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 257, 114948. doi:10.1016/j.ecoenv.2023.114948

Autorización de publicación en el repositorio institucional

Daniel Fernando Morales Bucheli portador de la cédula de ciudadanía N° **0107220030**. En calidad de autor y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación “**Presencia de *Cryptococcus neoformans* en balanceado a granel para perros en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca**” de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **1 de Julio de 2025**



Daniel Fernando Morales Bucheli

C.I. 0107220030