



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA

11261
REGISTRO

Estudio de Factores
Patogénicos y Epidemiológicos
del Micetoma en México

T E S I S

Que para obtener
el grado de Maestro
en Ciencias Biomédicas

presenta el

FALLA DE ORIGEN

M.C. Luis J. Méndez Tovar

México, D.F.

Noviembre 1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE GENERAL

	Page.
1. INTRODUCCION	
1.1 Definición	1
1.2 Localización topográfica	1
1.3 Mecanismo de infección	1
1.4 Tipos de micetoma	2
1.5 Antecedentes históricos	2
1.6 Epidemiología	4
1.7 Agentes etiológicos	8
1.7.1 Agentes de eumicetoma	12
1.7.2 Agentes de actinomicetoma	16
1.8 Hospedero	22
1.9 Fisiopatogenia del micetoma	24
1.10 Factores de patogenicidad	26
2. INVESTIGACION	
2.1 Planteamiento del problema	29
2.2 Hipótesis	31
2.3 Método y materiales	
2.3.1 Epidemiología del micetoma	32
2.3.2 Prueba de patogenicidad en animales de experimentación	32

2.3.3 Factores de patogenicidad	34
2.3.3.1 Determinación de desoxirribonucleasa	34
2.3.3.2 Determinación de lipasa	36
2.3.3.3 Determinación de hemolisina	37
2.3.3.4 Determinación de coagulasa	37
2.4 Resultados	
2.4.1 Epidemiología del micetoma	39
2.4.2 Prueba de patogenicidad en animales de experimentación	52
2.4.3 Factores de patogenicidad	
2.4.3.1 Hemolisina	57
2.4.3.2 Lipasa	57
2.4.3.3 Desoxirribonucleasa	61
2.4.3.4 Coagulasa	61
3. DISCUSION Y CONCLUSIONES	
3.1 Epidemiología del micetoma	63
3.2 Patogenicidad en animales de experimentación	71
3.3 Factores de patogenicidad	76
4. BIBLIOGRAFIA	78

1. INTRODUCCION

1.1 Definición

El micetoma es un síndrome de evolución crónica, que se localiza inicialmente en el tejido celular subcutáneo, y que clínicamente se caracteriza por el aumento de volumen de la región afectada y por la formación de fístulas a través de las cuales drena un material seroso, serohemático o seropurulento que contiene unas estructuras llamadas "granos", estos granos son colonias del agente causal [57].

1.2 Localización topográfica

El micetoma puede afectar cualquier parte del cuerpo, pero se presenta con mayor frecuencia en las extremidades inferiores [10][12][34][40], ya que los agentes etiológicos habitan en la tierra y, éstas son las vías de acceso más próximas. En México se observa que la segunda localización en frecuencia es el tronco [40].

1.3 Mecanismo de infección

Se inicia con la penetración de los organismos al tejido celular subcutáneo a través de heridas. El padecimiento es más frecuente en las personas que desarrollan actividades agrícolas [33][34][40][45]

1.4 Tipos de micetoma

Los agentes etiológicos pueden ser hongos o bacterias; en el primer caso se le denomina "eumicetoma" y son más de 10 géneros de hongos del tipo de los mohos los posibles agentes etiológicos. En caso de ser causado por bacterias se le denomina "actinomicetoma", ya que son tres géneros del grupo de los Actinomyces los agentes causales.

1.5 Antecedentes históricos

La primera descripción del micetoma fué hecha por Gill en 1842, en un dispensario médico de la ciudad de Madura. Textualmente describió lo siguiente: "Cuando una pierna ha sido amputada en el pie de la pierna amputada se observó una masa de consistencia fibrocartilaginosa, con destrucción de articulaciones, cartilago y ligamentos y las estructuras están cubiertas por una gran masa fúngica y se desprende un fluido de olor desagradable" [17]. Esta descripción aún es válida en nuestros días.

En 1859 E. W. Eyre [16] describió 40 casos de micetoma, que estudió de 1844 a 1848. En su informe describió las características clínicas, la evolución crónica, los rangos de edad, la frecuencia por sexo y otras características epidemiológicas. En 1860 Carter Vandyke [12], escribió un artículo titulado "A new striking form of fungus disease principally affecting the foot". En esta publicación hizo referencia a la etiología fúngica de la enfermedad, así como a la constitución de los granos, a los que

llama "partículas fúngicas". Describió también varios tipos de granos, pero pensó que unos eran producto de la degeneración de otros. Carter empleó por primera vez el término MICETOMA en 1861 [13], en la publicación "On mycetoma or the fungus disease of India, including notes of recent cases and new observations on the structure, etc of the entophytic growth". En 1874, Carter publicó un libro manográfico titulado On mycetoma or the fungus disease of India. En él recopiló los casos de micetoma vistos por él y por sus contemporáneos, e hizo énfasis en la naturaleza fúngica de la enfermedad.

En 1871, J. S. Bristowe [10] hizo un análisis microscópico de los granos. Después de haberlos sometido a varios tratamientos, describió las características de los filamentos que formaban dichos granos. También notó que algunos granos estaban formados por filamentos muy finos formados por cadenas de bacterias del tipo de los actinomicetales. En 1894, Vincent [62] reforzó la idea de que los actinomicetales también causaban micetoma.

En México, los primeros casos de micetoma fueron presentados por Cicero [15] ante la H. Academia Nacional de Medicina en 1912. En esa ocasión hizo referencia a cinco casos. En 1914, Fernando Ocaranza [52] publica un trabajo titulado "Micotoma en Sonora".

En 1921, Boyd y Crutchfield en Estados Unidos de Norteamérica, realizaron un estudio sobre el micetoma en América del Norte, e hicieron notar que de 32 casos de micetoma reportados,

19 correspondían a México. En un caso hicieron el aislamiento del agente causal y lo llamaron Actinomyces mexicanus [8].

González Ochoa, en 1942, aisló el mismo agente causal en otros siete casos y lo comparó con Nocardia brasiliensis; concluyó que éste y Actinomyces mexicanus era el mismo agente [20]. El doctor González Chávez presentó los primeros casos de micetoma estudiados en el Hospital General de México, en el año de 1946 [18]. Posteriormente Lavalle [36] publicó el caso de un micetoma en mano.

A partir de los años cincuenta, varios investigadores mexicanos se interesan por el micetoma y por sus agentes etiológicos. Entre estos investigadores destacan los siguientes: González Ochoa, quien realizó estudios clínicos, epidemiológicos, inmunológicos y del agente causal [20][21][22][23][24][25][26][27][28][29][30]; Fernando Bojalil, quien hizo estudios inmunoquímicos e inmunológicos sobre Nocardia brasiliensis [3][4][5][6]; Lavalle, quien ha presentado varios trabajos acerca de la frecuencia, las características clínicas de la enfermedad y del agente causal [36][37][38][39][40][41][42]; Latapi, quien contribuyó también de manera importante al estudio del micetoma [33][34][35].

1.6 Epidemiología

Se desconoce la distribución exacta a nivel mundial de esta enfermedad, debido entre otros factores a su evolución insidiosa -la mayoría de las veces indolora- y a que en general afec-

ta a personas de muy bajos recursos económicos, quienes por lo tanto carecen de los medios necesarios para trasladarse a los centros de atención médica donde quedaría registrado el padecimiento.

Por diversas publicaciones se sabe que existe un cinturón mundial situado a nivel del Trópico de Cáncer, entre las latitudes 15° sur y 30° norte, y que en los países que cruzan dicho cinturón la frecuencia de micetomas es mucho más elevada que en otros países del mundo [46], como se muestra en el mapa 1.

En 1963, Mariat [48] publicó una casística mundial. En ella se notaba desde entonces que México se encontraba entre los países en los que había mayor frecuencia de micetoma, y que los agentes etiológicos reportados eran diferentes a los que se aislaban en África y Asia. Tabla I.

En la actualidad el país que tiene el mayor número de casos de micetoma es Sudán, que, según un trabajo publicado por Lavalle tiene grandes semejanzas con México en cuanto a temperatura, altitud y precipitación pluvial [38].

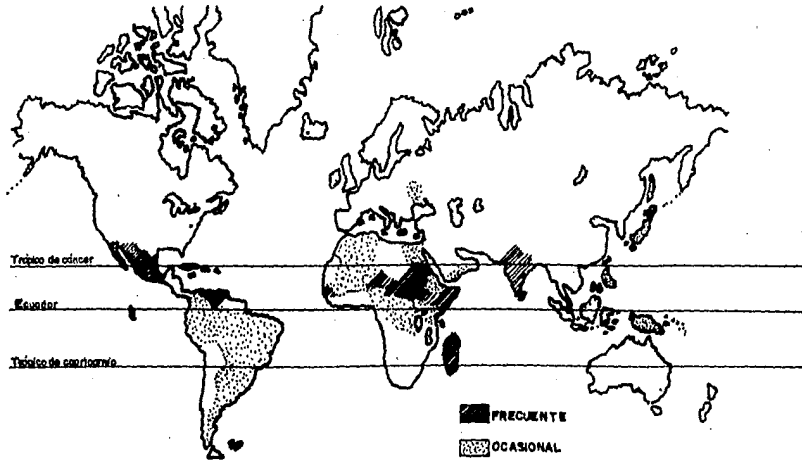
El número de casos de micetoma detectados en nuestro país va en aumento año con año. Quizá este aumento no se deba a una mayor frecuencia de infección, sino más bien a un aumento en la cobertura poblacional del área rural por parte de las instituciones de salud. Por otra parte, tal vez la mejor preparación del personal médico y de laboratorio influyan de manera importante en el aumento de reportes de esta enfermedad. A pesar del esfuerzo

TABLA I
DISTRIBUCION GEOGRAFICA DEL MICETOMA

LUGAR	ACTINOMICETOMA	EUMICETOMA	TOTAL
México	202	4	206
Continente Americano	261	73	334
Africa y Madagascar	199	256	455
Asia, Oceanía y Europa	30	17	47

Tomado y modificado de Meriat, F. [48].

MAPA No 1 DISTRIBUCION MUNDIAL DEL MICETOMA



TOMADO DE MAHBOUB AND MURRAY MYCETOMA (44)

que han realizado algunos investigadores e instituciones en nuestro país, no se conoce aún con exactitud la magnitud del problema porque cada autor o cada institución publican casuísticas aisladas que por si solas no dan una idea clara de lo que acontece a nivel nacional.

1.7 Agentes etiológicos

Los agentes etiológicos de los micetomas son muy numerosos. En Africa y Asia predominan los micetomas causados por hongos, y en América predominan los actinomicetomas; México es el país de América que tiene la mayor incidencia [18][20][48].

Los agentes etiológicos del micetoma descritos hasta la fecha se enlistan a continuación:

Actinomicetoma

Nocardia brasiliensis

Nocardia asteroides

Nocardia caviae

Nocardia farcinica

Actinomyces madurae

Actinomyces pelletieri

Streptomyces somaliensis

Tomada y modificada de Rippon [57].

Eumicetoma

Madurella mycetomatis

Madurella grisea

Pseudallescheria boydii

Acremonium kiliense

Acremonium falciforme

Acremonium recifei

Leptosphaeria senegalensis

Leptosphaeria tompkinsii

Exophiala jeanselmei

Neotestudina rosatii

Pyrenochaete romeroi

Curvularia lunata

Curvularia geniculata

Cochiliobolus spicifer

Aspergillus nidulans

Microsporium audouinii (11)

Fusarium sp.

Tomada y modificada de Rippon (57).

Aunque el número de agentes etiológicos del micetoma es muy grande, se ha observado que estos tienen una distribución geográfica más o menos determinada por los rangos de temperatura, precipitación pluvial, composición del suelo y otros factores aún desconocidos. Para la elaboración de la tabla siguiente sólo se consideraron los primeros dos factores.

TABLA II

DISTRIBUCION DE AGENTES ETIOLÓGICOS DEL
MICETOMA

PAIS	TEMP. PROM.	PREC. PLUV.	AGENTES ETIOLÓGICOS
Sudán	20-40°C	50-500 mm	<u>M. mycetomatis</u> , <u>A. nidulans</u> , <u>S. somaliensis</u> , <u>A. madurae</u> , <u>N. brasiliensis</u>
Senegal	20-40	50-500	<u>L. senegalensis</u> , <u>M. mycetomatis</u> , <u>A. madurae</u> , <u>S. somaliensis</u> , <u>A. pelletieri</u> , <u>P. romeroi</u>
Somalia	11-20	50-500	<u>M. mycetomatis</u> , <u>S. somaliensis</u> , <u>A. pelletieri</u> , <u>A. madurae</u> , <u>P. romeroi</u>
Uganda	11-40	1000	<u>N. asteroides</u> , <u>N. brasiliensis</u> , <u>Cephalosporium</u> sp
Japón	-10-20	1000-2000	<u>N. asteroides</u> , <u>N. brasiliensis</u>
México	11-20	500-1000	<u>N. brasiliensis</u> , <u>N. asteroides</u> , <u>A. madurae</u> , <u>A. pelletieri</u> , <u>P. boydii</u> , <u>Cephalosporium</u> sp.
Venezuela	11-20	500-1000	<u>M. grisea</u> , <u>A. Madurae</u> , <u>N. asteroides</u> , <u>N. brasiliensis</u> , <u>P. boydii</u> , <u>M. mycetomatis</u> , <u>P. romeroi</u>
Argentina	-10-20	500	<u>M. mycetomatis</u> , <u>P. boydii</u> , <u>M. grisea</u>
Rumania	-40-20	500	<u>A. madurae</u> , <u>M. mycetomatis</u>

Tomado y modificado de Mahgoub (46).

Desde hace más de un siglo se comprobó la existencia de los agentes etiológicos del micetoma como saprófitos de material orgánico. En 1913, J. Brelet [9], fué quien aisló M. mycetomatis de madera muerta. En 1936, Gordon y Hagon [31], aislaron del suelo N. asteroides mediante varillas de vidrio cubiertas de parafina que enterraron en distintos tipos de suelos. En Senegal, Segreain y Mariat [61], aislaron con frecuencia Leptosphaeria senegalensis a partir de espigas de vegetales secos, y descubrieron la importancia del traumatismo con estos vehículos en la producción del micetoma. En México también se han aislado diversos actinomicetales productores de micetoma a partir de suelos [25][43], principalmente en el estado de Morelos, donde el micetoma se presenta con mucha frecuencia.

La determinación del género y de la especie de los actinomicetales aislados, ya sea de suelos u obtenidos de productos biológicos provenientes de pacientes con micetoma, se hace sobre todo con base en pruebas fisiológicas, aunque algunas cepas presentan variación en estas pruebas [2][19][22][47][49].

A continuación se presenta una breve descripción de los agentes etiológicos de micetoma que con mayor frecuencia se aislan en nuestro país. Las características morfológicas y fisiológicas que a continuación se describen fueron tomadas de: Rippon [57]; Mahgoub [46] y Mariat [45][50]

1.7.1 Agentes de eumicetoma

a. Madurella mycetomatis (Brumpt 1905)

La temperatura óptima para el crecimiento colonial de este hongo es de 37°C. Al principio la colonia es blanca, emeri--llenta, ocrácea o grisácea en la parte más interna; la superficie es polvosa o aterciopelada. Conforme pasa el tiempo la colonia to ma un color marrón oscuro o verde oscuro y produce un pigmento ma rrón que se difunde en el medio. Los primeros días es plana, y posteriormente presenta una elevación central con radiaciones pe--riféricas.

Al examen microscópico se observan hifas de una a dos micras de diámetro con clamidoconidias redondeadas o poligonales que miden de cinco a quince micras de diámetro, de localización intercalar o terminal.

Sus granos miden de 200 a 900 micras de diámetro, pue--den estar formados de hifas delgadas o mostrar una apariencia ve--sicular; pueden ser bilobulados o trilobulados de color marrón. Los granos están cubiertos por una sustancia de color marrón lla--mada cemento. Esta sustancia provoca que los granos sean extrema--damente duros, el cemento también llamado "matriz", es secretado por el hongo.

Si el grano es de tipo vesicular (menos frecuente) está formado por grandes células de aproximadamente siete micras de diámetro; el color marrón de estos granos es más intenso en la pe

riferia que en el centro.

b. Madurella grisea [Mackinnon, Ferrada y Montemayor 1949]

Este es un hongo de crecimiento lento en los medios de cultivo habituales. La temperatura óptima para su crecimiento es de 30°C. La colonia es de consistencia dura y tiene un aspecto aterciopelado en la superficie.

El examen microscópico revela hifas similares a las de M. mycetometis. Las colonias de M. grisea desarrollan en medios pobres formas sexuales de reproducción llamadas picnidias, con las picnidioconidias correspondientes en el interior.

Sus granos miden de 300 a 500 micras de diámetro, son de color marrón y muestran dos zonas definidas: una central, debilmente pigmentada, y otra periférica que tiene un color muy intenso. El centro del grano tiene un aspecto hialino y se observa que a partir de él emergen hifas que crecen hacia la periferia. El grano está cubierto de cemento de color marrón.

c. Pseudallescheria boydii [Negróni, Fischer, Mc Ginnis, Padhye y Ajello, 1981]

Se trata de un hongo de crecimiento rápido. La temperatura que requiere para un crecimiento óptimo es de 28 a 37°C. La periferia de la colonia es blanquescina, y su centro es de color ocre. El aspecto superficial de la colonia es veloso en grado variable, dependiendo de si es primocultivo o resiembra.

El examen microscópico muestra hifas septadas que miden de cuatro a nueve micras de diámetro y con una distancia entre los septos de seis a diez micras, ramificadas, con numerosas anelocidias piriformes. Estas conidias nacen de anelóforos simples o ramificados; algunas veces se observan racimos de conidióforos. Se pueden observar ocasionalmente cleistotecios que miden de 100 a 300 micras de diámetro, con una pared amarillenta, marrón o negra, compuesta de células poligonales delgadas. Dentro de los cleistotecios se encuentran ascas con ocho ascosporas cada una.

Sus granos miden de 200 a 300 micras de diámetro. Generalmente son ovalados y carecen de cemento, son de color blanquecino y, al teñirlos con eosina, el colorante se concentra más en el centro del grano que en la periferia. Los granos están compuestos de hifas muy delgadas, y algunos de ellos tienen forma de herradura, son bilobulados o trilobulados. Ocasionalmente se observan vesículas en la periferia del grano.

No es posible identificar a los hongos causantes de micetoma utilizando únicamente las características macro y microscópicas de la colonia, por lo que existen una serie de pruebas fisiológicas que permiten la identificación precisa del agente causal. Entre las pruebas fisiológicas más importantes se encuentran las referidas en la tabla III.

TABLA III

PRUEBAS FISIOLÓGICAS PARA CLASIFICAR
AGENTES DE EUMICETOMA

PRUEBA	<u>M. mycetomatis</u>	<u>M. grisea</u>	<u>P. boydii</u>
Asimilación de:			
glucosa	+	+	+
maltosa	+	+	-
lactosa	+	-	-
galactosa	+	+	+
sacarosa	-	+	+
asparagina	+	+	+
urea	+	+	+

Tomado y modificado de Mahgoub (46)

1.7.2 Agentes de actinomicetoma

a. Nocardia brasiliensis [Castellani y Chambers 1913]

Estos son microorganismos de crecimiento rápido cuya temperatura óptima para desarrollo oscila entre 25 y 30°C. Las colonias tienen consistencia serosa, y su color es variable: blanco amarillento o anaranjado. En la superficie de cultivos viejos presenta un aspecto polvoso blanquecino que indica la presencia de gran cantidad de bacterias separadas del pseudomicelio. Algunas cepas producen un pigmento marrón que se difunde al medio de cultivo.

En el examen microscópico se observan filamentos delgados, largos o cortos fragmentados, que al teñirlos presentan ácido alcohol resistencia parcial.

Los granos son pequeños, redondeados u ovoides de dimensiones variables: 40 a 70 micras de ancho y 70 a 100 micras de largo. El color de los granos es amarillento y, al teñirlos con hematoxilina-eosina, adquieren un color azul pálido. Los granos están rodeados por una banda eosinofílica, y en la mayoría de ellos se observa la presencia de "clavas", radiaciones que de acuerdo con algunos investigadores, se forman por depósitos de complejos antígeno-anticuerpo que están en la periferia del grano.

b. Nocardia asteroides [Blanchard 1899]

Esta es una bacteria cuyo crecimiento óptimo ocurre en-

tre 25 y 37°C. En un principio la colonia es lisa, con algunos pliegues, y tiene un color anaranjado claro. Con el tiempo la superficie se torna polvosa, con aspecto de polvo de gis o tiza.

El estudio microscópico revela un micelio delicado, de forma irregular y ramificado. El diámetro de los filamentos es de una micra aproximadamente. La tinción de los filamentos con la técnica de Kinyoun, nos revela una ácido alcohol resistencia parcial.

Los granos tienen características similares a los formados por N. brasiliensis.

c. Nocardia caviae [Gordon y Mihm, 1962]

Bacteria de crecimiento rápido. El rango de temperatura para su desarrollo es variable, y va desde los 20 hasta los 40°C. El color de la colonia es anaranjado, la mayoría de las veces, y tiene un aspecto seroso.

El examen microscópico muestra, en la mayoría de la cepas, pseudofilamentos largos, ramificados y enrollados. Al realizar la tinción con la técnica de Kinyoun presenta ácido alcohol resistencia parcial.

Los granos formados por esta bacteria no se distinguen de los formados por N. brasiliensis o N. asteroides.

d. Actinomadura madurae [Lechevalier, 1970]

Este microorganismo crece bien a 37°C. Las colonias surgen entre tres y cinco días después de haberlas sembrado. En un principio son de color blanquecino y de superficie plana; con el paso de los días la colonia se vuelve rugosa o con pliegues. Algunas cepas toman un color beige o rojizo. En los cultivos viejos se puede apreciar la presencia de pseudomicelio aéreo corto.

En el estudio microscópico se encuentran pseudofilamentos delgados de una micra de diámetro. En ocasiones se observan cadenas de artrosporas ovaladas, de diámetro variable: 0.5 a 1 micra. Son Gram positivas y no presentan ácido alcohol resistencia.

Los granos que forma A. maduræ son dentro del grupo de los actinomicetos los de mayores dimensiones reportados hasta la fecha en el micetoma; algunos alcanzan cinco o hasta diez milímetros de diámetro. Son de color amarillento y presentan mechones de filamentos largos que se extienden radialmente. Los granos tienen pocas lobulaciones y tienen consistencia blanda; estos granos también presentan una cubierta de material eosinofílico.

e. Actinomadura pelletieri [Lechevalier, 1970]

Las colonias producidas por esta bacteria son planas o cerebriformes. Su crecimiento se inicia entre cuatro y siete días después de haberlas sembrado. La temperatura ideal para su desarrollo es de 37°C. El color de la colonia, al principio, es pálido y posteriormente desarrolla un color rojo, más intenso en el centro que en la periferia. Al hacer pasas sucesivos algunas ce-

pas toman un color rosa o incluso beige.

Al hacer el estudio microscópico se observan pseudofilamentos de 0,5 a 1 micra de diámetro; la presencia de artrosporas es rara. Son bacterias Gram positivas y no presentan ácido alcohólico resistencia.

Los granos producidos por este agente etiológico miden de 150 a 500 micras de diámetro. Son de color rojo o granate y de forma oval o esférica, con el borde ligeramente denticulado; carecen de cemento y son de consistencia dura.

F. Streptomyces somaliensis [Waksman y Henrici, 1948]

Es una bacteria de crecimiento relativamente rápido: las colonias tardan de cuatro a siete días en iniciar su desarrollo. El color de la colonia generalmente es amarillo, con manchas marrones o negras que son más notorias en subcultivos; éstos incluso pueden tomar un color gris o negro. En algunas cepas se observa la presencia de un pigmento marrón que difunde al medio de cultivo. La temperatura óptima para su desarrollo es de 30°C y, aunque crece bien en medio de Sabouraud, el mejor medio para su desarrollo es el Lowenstein-Jensen.

El examen microscópico revela que el organismo no presenta fragmentaciones y que puede formar cadenas de artrosporas.

Los granos de S. somaliensis son redondos, ocasionalmente multilobulados, y extremadamente duros por lo que al cortarlos

se fragmentan. Son de tamaño variable: desde 250 micras hasta dos milímetros de diámetro los más grandes. Al teñirlos se observa basofilia hacia el centro y eosinofilia hacia la periferia del grano.

A pesar de las características morfológicas propias de los diferentes actinomicetales, en ocasiones no es posible hacer la determinación taxonómica exacta sólo con bases morfológicas, por lo que es necesario recurrir a pruebas fisiológicas para determinar su clasificación de manera precisa. Entre las pruebas más utilizadas y hasta el momento más útiles están las que se mencionan a continuación:

Las claves empleadas en la tabla IV son las siguientes:

o = a 0 % de positividad

- = a menos del 15 % de positividad

+ = a más del 85 % de positividad

TABLA IV

PRUEBAS FISIOLÓGICAS PARA CLASIFICAR
AGENTES DE ACTINOMICETOMA

PRUEBA	<u>N.</u> <u>brasiliensis</u>	<u>N.</u> <u>asteroides</u>	<u>N.</u> <u>caviae</u>	<u>A.</u> <u>madurae</u>	<u>A.</u> <u>pelletieri</u>	<u>S.</u> <u>somaliensis</u>
Hifas aéreas	+	+	+	-	-	-
Acido resist.	+	+	+	-	-	-
Descomposición						
adenina	o	o	o	o	o	o
caseína	+	o	o	+	+	+
hipoxantina	+	o	+	+	+	o
tirosina	+	o	o	+	+	+
urea	+	+	+	o	o	o
xantina	o	o	+	o	o	o
Resistencia a lisozima	+	+	+	o	o	o
Acido a partir						
arabinosa	o	o	-	+	o	o
celobiosa	o	o	o	+	o	o
eritritol	o	o	o	o	o	o
glicerol	+	+	+	+	o	o
lactosa	o	o	o	-	o	o
maltosa	o	o	o	-	o	-
manitol	+	o	-	+	o	o
melobiosa	o	o	o	o	o	o
xilosa	o	o	o	+	o	o

Tomado y modificado de: Rippon [57]

TABLA IV

PRUEBAS FISIOLÓGICAS PARA CLASIFICAR
AGENTES DE ACTINOMICETOMA

PRUEBA	<u>N.</u> <u>brasilensis</u>	<u>N.</u> <u>asteroides</u>	<u>N.</u> <u>caviae</u>	<u>A.</u> <u>medusae</u>	<u>A.</u> <u>pellateri</u>	<u>S.</u> <u>somaliensis</u>
Hifas aéreas	+	+	+	-	-	-
Acido resist.	+	+	+	-	-	-
Descomposición						
adenina	o	o	o	o	o	o
caseína	+	o	o	+	+	+
hipoxantina	+	o	+	+	+	o
tirosina	+	o	o	+	+	+
urea	+	+	+	o	o	o
xantina	o	o	+	o	o	o
Resistencia a liacina	+	+	+	o	o	o
Acido a partir						
arabinosa	o	o	-	+	o	o
celobiosa	o	o	o	+	o	o
eritritol	o	o	o	o	o	o
glicerol	+	+	+	+	o	o
lactosa	o	o	o	-	o	o
maltosa	o	o	o	-	o	-
manitol	+	o	-	+	o	o
melobiosa	o	o	o	o	o	o
xilosa	o	o	o	+	o	o

Tomado y modificado de: Rippon [57]

1.8 Hospedero

En la actualidad no se cuenta con un perfil definido del paciente con micetoma. Los diferentes investigadores que estudian el problema lo hacen a partir de características aisladas que, si bien tienen gran importancia, aún no se integran totalmente ya que en algunas publicaciones se le da relevancia a algunos parámetros que en otras publicaciones se ignoran.

Entre las características del paciente con micetoma más estudiadas hasta la fecha se tienen las siguientes:

a. Sexo: En todos los países donde se han dado a conocer casuísticas de micetoma, predomina en éstas el sexo masculino. Este predominio presenta una relación variable según las diferentes casuísticas [34][40][48][50]. El predominio se debe en parte a cuestiones laborales, pero aún no se puede descartar que exista alguna influencia de tipo hormonal o genética que haga más resistente a la mujer.

b. Edad: El padecimiento se presenta con mayor frecuencia entre los 20 y los 45 años de edad [34][40][48]. Esto se debe a que es en este periodo de la vida en que el hombre es más activo y, en consecuencia, se expone con mayor asiduidad a la infección con el agente causal. En los extremos de la vida la frecuencia de micetoma disminuye, aunque Levalle y otros investigadores han reportado casos de personas mayores de 75 años de edad [33][40].

La edad en que se inicia el padecimiento es importante,

porque en los pacientes que padecen micetoma durante la niñez, al llegar a la pubertad y quizá debido a cambios hormonales, se agrava el cuadro clínico de una manera dramática. Esto también ocurre en mujeres que padecen micetoma y se embarazan. En estas mujeres el cuadro clínico se vuelve muy florido durante la gestación, y se presenta una gran mejoría después del parto [40].

c. Ocupación: El padecimiento se presenta con mayor frecuencia en las personas que realizan alguna actividad de tipo agrícola, como son campesinos, jardineros, cañeros, etc. [34][40][46]. Se presenta también con alguna frecuencia en personas que desempeñan otras actividades, pero que están expuestas a traumatismos que causan lesiones que se contaminan con facilidad con tierra que es el vehículo del agente etiológico, como son: mecánicos, cargadores, albañiles y otros [33][34][40][46].

Llama la atención el gran número de mujeres que presentan el padecimiento y que refieren como actividad principal labores domésticas, pero se debe hacer notar que estas mujeres son en su gran mayoría esposas de campesinos y que por ende tienen que participar en actividades agrícolas. En nuestro país también se reporta con cierta frecuencia el caso de estudiantes que presentan el padecimiento, pero también se debe mencionar que estos estudiantes provienen de áreas rurales y que tienen que participar en mayor o menor medida, en las actividades agrícolas.

d. Localización topográfica: El padecimiento afecta con mayor frecuencia las extremidades inferiores, siendo el pie la loca

lización más frecuente debido a su proximidad con el suelo: hábitat del agente causal. El uso de huarache en lugar de zapato cerrado por los campesinos es otro factor que facilita la infección en las extremidades inferiores.

La localización topográfica se ve influida por el tipo de actividad que desempeña el paciente. Así, por ejemplo, en los cañeros y en los mecánicos automotrices la localización en la espalda es más frecuente debido al hábito de cargar bultos en la espalda o apoyar la espalda en el suelo para trabajar [40][57]. En Africa, la frecuencia de micetoma en cabeza es aproximadamente de 8%; esto se debe a que en ese continente los nativos acostumbran cargar bultos en la cabeza, lo que condiciona el traumatismo y la infección [57].

1.9 Fisiopatogenia del micetoma

El doctor Antonio González Ochoa, describió brillantemente la fisiopatogenia del micetoma en la revisión "Micetomas y Actinomicosis", presentada en el XIII Congreso Internationalis Dermatologiae, 1967 [28]: "Una vez que el agente etiológico del micetoma actinomicético por aerobios o del maduromicósico penetra en los tejidos, a través de una solución de continuidad de la piel o vehiculizado por algún cuerpo extraño, ocasiona una lesión mínima que perdura quiescente por un tiempo más o menos prolongado. Los filamentos del hongo, alojados en este medio hostil que son los tejidos, lentamente se multiplican y desarrollan, emiten

do más y más ramificaciones. El micelio se ve constreñido por las células tisulares, obligándole a apelotonarse y formar los granos, en un principio sin mazas o clavos; posteriormente, alrededor de los filamentos de la periferia se depositan sustancias proteínicas que constituyen las mazas. A medida que el micelio continúa multiplicándose, sensibiliza los tejidos y esto hace que pierdan poder defensivo contra el hongo, y en consecuencia, permitan su multiplicación y extensión; este fenómeno parece realizarse en forma geométrica, de manera que a mayor número de lesiones mayor sensibilización, y mientras más se sensibiliza el tejido, mayor facilidad para el desarrollo de nuevos focos.

Los infiltrados granulomatosos que están alrededor de los granos terminan en microabsesos, y los cortos trechos de micelio que no pudieron ser destruidos dan origen a nuevos granos. Los microabsesos forman túneles que se comunican entre sí y se extienden radialmente; cuando estos túneles llegan a la superficie, forman los nódulos que se abren por múltiples orificios, los que al fusionarse forman el orificio de la fístula y las ulceraciones. Los trayectos fistulosos se rodean de tejido conjuntivo que, al esclerosarse, producen un acortamiento que trae por consecuencia que los elementos del micetoma: el nódulo, el orificio fistuloso, la ulceración y la costra o cicatriz aparezcan en el centro de una depresión. La misma formación de tejido conjuntivo que rodea los microabsesos y fístulas va constituyendo la tumoración y la dureza característica. Esta fibrosis ocasiona un marcado com--.

promiso circulatorio, lo que dificulta el aporte de los fármacos en el tratamiento.

En el hueso se origina una periostitis que produce caries con osteolisis y osteoformación, y al penetrar forma cavidades de hiperostosis, de mayor o menor tamaño que asemeja un pal. nal.

Esta situación patogénica conforma el cuadro clínico del micetoma aunque existen, como en cualquier otro padecimiento, modalidades hasta cierto punto en función de la especie causante, pero manteniendo un cuadro tan monomorfo como no se observa en otra micosis".

1.10 Factores de patogenicidad

A pesar de que la fisiopatogenia del micetoma fué descrita desde hace varios años por González Ochoa [28], no se sabe aún con certeza si los agentes productores de micetoma poseen enzimas que desempeñen una función importante en la evolución del padecimiento, y sólo se cuenta con estudios aislados para determinar de manera cualitativa la presencia de enzimas en los actinomicetales.

Entre las enzimas estudiadas hasta la fecha en actinomicetales se tienen las siguientes:

Colagenasa.- Ha sido estudiada por Rippon [54][55] en cepas de Actinomedura maduræ, quien intentó establecer, sin lo-

grarlo, una correlación entre la cantidad de colagenasa y la viru-
lencia de la cepa. El mismo investigador ha estudiado el conteni-
do de elastasa en cepas de actinomicetales, pero no ha podido de-
mostrarlo en cepas aisladas a partir de pacientes que presentaban
micetoma [56].

En 1973, Mackinnon informó sobre la presencia de cápsu-
las en cepas jóvenes de Exophiala jeanselmei. Cada cápsula tiene
un grosor variable y no se destruye por lavado con agua; se desco-
noce su composición y su función en la patogenicidad [44].

Desde el punto de vista inmunológico, Adam [1] ha repor-
tado el aislamiento de un extracto soluble en agua a partir de No
cardia opaca. Este extracto provoca un aumento en la cantidad de
anticuerpos circulantes en los animales de experimentación des-
pués de la administración intravenosa. El doctor Bona y cols. [7]
estudiaron más a fondo el extracto y encontraron que es un activa-
dor policlonal de linfocitos B. Esta activación, presupone el au-
tor, posiblemente tiene una participación importante en la patoge-
nia del micetoma.

El doctor Librado Ortiz, también ha realizado estudios
acerca del papel de los anticuerpos en la patogenia del micetoma.
Ha utilizado ratones atímicos y ratones irradiados a los que pos-
teriormente practicó trasplantes de linfocitos T y linfocitos B.
Encontró que los ratones trasplantados con linfocitos B y con al-
tos títulos de anticuerpos circulantes tenían un pronóstico más
malo que aquellos ratones trasplantados con linfocitos T y con ba

los niveles de anticuerpos circulantes (53).

Como se puede observar el estudio de los factores de patogenicidad de los agentes productores de micetoma es aún muy in-
ciplente y es necesario dedicar mayores esfuerzos y recursos en
este renglón a fin de obtener así conocimientos para la preven-
ción y tratamiento del padecimiento.

2. INVESTIGACION

En vista de la carencia de conocimientos acerca del micetoma, el presente trabajo consta de 3 secciones de investigación, las cuales parten de planteamientos diferentes pero con la intención de que en conjunto sirvan de base para estudios más profundos que, con el tiempo, permitan dar medidas tendientes a la disminución de la frecuencia de esta patología en nuestro país.

2.1 Planteamiento del problema

A pesar de que México es uno de los países que registra uno de los más altos índices de frecuencia, ésta no se conoce con precisión, tampoco se conoce su distribución en los diferentes estados de la República Mexicana. Tampoco se conocen las características generales del paciente que padece micetoma, tales como las fenotípicas, las ligadas a hábitos y costumbres y las relacionadas con factores intrínsecos del hospedero. Asimismo, se desconocen los métodos empleados para hacer el diagnóstico de esta enfermedad en los centros de atención médica en nuestro país.

En algunos estados de la República Mexicana se aíslan con facilidad a partir de suelos, actinomicetales que por su morfología y su fisiología se clasifican como Nocardia brasiliensis; pero mientras no se haga la confirmación taxonómica por medio de la producción del micetoma en animales de experimentación, no se puede asegurar que se trate de esta especie de actinomicetal y, por lo tanto, no podemos saber con certeza la frecuencia de aisla

miento de este agente patógeno a partir de suelos.

Por otra parte, se han realizado muy pocos estudios sobre los factores de patogenicidad de los diferentes actinomicetales causantes de micetoma, hecho que requiere de diseñar protocolos de investigación para tratar de descubrir los factores del agente que intervienen en la producción de la enfermedad, y de esta manera poder plantear medidas tendientes a la prevención, diagnóstico y tratamiento.

2.2 Hipótesis

Debido a la carencia de un estudio a nivel nacional acerca del micetoma, probablemente las características epidemiológicas de este padecimiento reportadas por diferentes investigadores, no reflejan ni corresponden a la realidad del problema.

No todas las cepas que se aislaron por López-Martínez y cols. [43] a partir de suelos del estado de Morelos y, que han sido clasificadas como Nocardia brasiliensis por medio de pruebas fisiológicas, serán capaces de provocar la formación de micetomas en animales de experimentación.

Los actinomicetales causantes de micetoma poseen una serie de enzimas que actúan como factores de patogenicidad, las cuales serán detectables por medio de pruebas cualitativas.

El contenido enzimático de Nocardia brasiliensis será diferente en las cepas aisladas de suelos y en las cepas aisladas a partir de pacientes con micetoma.

El contenido enzimático de los actinomicetales variará con el paso del tiempo cuando las cepas se mantengan durante varios años por subcultivos repetidos.

2.3 Método y materiales

2.3.1 Epidemiología del micetoma

1. Se solicitó a los principales centros dermatomicológicos de la República Mexicana la casuística de los casos de micetoma que hubieran atendido. Los datos se reportaron en hojas especiales de concentración, las cuales contenían los siguientes datos: No. de caso; lugar de origen; sexo; edad; localización topográfica; método empleado para el diagnóstico; agente causal y, año de realización del estudio.

2. Se enviaron 16 solicitudes de casuística, de las cuales se recibió contestación en 12 de ellas; los datos fueron tabulados y se les practicó análisis estadístico.

3. Los datos obtenidos se sometieron a un programa de computación para establecer las correlaciones pertinentes.

2.3.2 Prueba de patogenicidad en animales de experimentación de cepas de Nocardia brasiliensis aisladas a partir de suelos

1. Se tomaron 47 cepas aisladas de suelos del estado de Morelos, clasificadas taxonómicamente como Nocardia brasiliensis por medio de pruebas fisiológicas.

2. Las cepas fueron sembradas en medio de Sabouraud simple (BIOXON) y se permitió su desarrollo durante tres semanas a temperatura ambiente.

3. De las cepas desarrolladas se tomaron 200 mg de peso húmedo y se maceraron en mortero estéril agregando 2 ml de solución salina isotónica, para obtener una suspensión con una concentración final de 100 mg/ml.

4. Con cada cepa se inocularon cuatro ratones (CD1, macho, de 25 a 30 g de peso): dos en cojinete plantar por vía subcutánea con 0.2 ml de suspensión, y dos ratones se inocularon por vía intraperitoneal con 0.5 ml de la suspensión cada uno.

5. Los ratones se mantuvieron en observación durante 45 días, se les valoró clínicamente y después fueron sacrificados.

6. A los ratones inoculados en cojinete plantar se les emputó la extremidad inoculada y se dividió en dos partes; una parte se envió al Departamento de Histología de la Facultad de Medicina para realizar cortes histopatológicos y tinción para búsqueda de granos. La otra parte se maceró en mortero estéril con solución salina, y el producto obtenido se sembró en medio de Sabouraud simple para obtener retrocultivos.

7. Los ratones inoculados por vía intraperitoneal fueron sacrificados y se les practicó la parotomía exploradora. En caso en que la revisión macroscópica se encontrara algún órgano afectado, éste se extirpó y se envió al Departamento de Histología para la realización de cortes y búsqueda de granos.

8. Se utilizaron como cepas testigo positivas, 14 cepas de Nocardia brasiliensis aisladas de pacientes con micetoma aten-

didos en el Servicio de Dermatología del Hospital General de México S.S.A.

2.3.3 Factores de patogenicidad

1. Se tomaron 48 cepas de Nocardia brasiliensis aisladas de pacientes con micetoma, y 10 cepas aisladas a partir de suelos que habían provocado la formación de micetoma en animales de experimentación.

2. Las cepas se sembraron en medio de Sabouraud simple y se permitió su desarrollo durante tres semanas.

3. Se valoró en forma cualitativa la presencia de las siguientes enzimas: hemolisinas, lipasas, desoxirribonucleasas y coagulases con las siguientes técnicas [51]

2.3.3.1 Determinación de desoxirribonucleasa

I. Preparación del medio

1. Preparar una solución al 0.5% de verde de metilo (MERCK) en agua destilada.

2. Depositar la solución en un embudo de separación y agregar 100 ml de cloroformo (ANALIT); agitar lentamente hasta observar la formación de dos capas: una verde en la parte superior y una azul en la parte inferior.

3. Abrir la llave del embudo para retirar el colorante azul y agregar cloroformo lentamente. Repetir el paso anterior

hasta lograr separar todo el colorante azul.

4. Esterilizar por medio de filtración el verde de metilo obtenido.

5. Preparar 100 ml de agar con 1 ml de verde de metilo.

6. Agregar al agar 0.03 g de ácido desoxirribonucleico altamente polimerizado (MERCK).

7. Colocar en autoclave durante 15 minutos a 15 libras de presión, posteriormente depositar en caja de Petri.

II. Inoculación del medio de cultivo

1. Se tomaron 100 mg de peso húmedo de cada una de las cepas y se depositan en las cajas de Petri con medio de cultivo. Se llevaron a una estufa a 25°C y se revisaron cada 24 horas.

III. Lectura de la prueba

1. Se consideraron positivas a la enzima, aquellas cepas en las que se presentó un halo transparente alrededor del inoculo.

2. Pasados 10 días las cepas que no formaron halo se consideraron negativas a la enzima y fueron desechadas.

3. Se inoculó una caja con Serratia marcescens como control positivo.

2.3.3.2 Determinación de lipasas

I. Preparación del medio

1. Fórmula del medio

Peptona	(DIFCO)	10.00 g
Ca Cl ₂	(BAKER & ADAMSON)	0.10 g
Na Cl	(MONTERREY)	5.00 g
Tween 20	(MERCK)	10.00 ml
Agar	(MERCK)	15.00 g

2. Mezclar todos los ingredientes y aforar a 1000 ml con agua destilada.

3. Colocar en autoclave 15 minutos a 15 libras de presión; posteriormente, distribuir en cajas de Petri.

II. Inoculación del medio de cultivo

1. Las cajas se inocularon con 100 mg de peso húmedo de cada una de las cepas a probar en los diferentes cuadrantes de la caja con medio de cultivo, se incubaron a 25°C.

III. Lectura de la prueba

1. Los medios de cultivo se revisaron cada 24 horas para observar la aparición de un halo de aspecto grumoso formado por depósito de sales de calcio alrededor de la colonia, cuando cuando ésta contiene lipasas.

2. Pasados 15 días se desechan las cajas y se dan como negativas las cepas que no presentan la formación de halo.

3. Una caja con medio de cultivo fué inoculada con Listeria monocytogenes, que fué la cepa control positiva.

2.3.3.3 Determinación de hemolisinas

I. Preparación del medio

1. Se empleó Agar Sangre Bacteriológico (DIFCO), el cual una vez preparado se distribuyó en cajas de Petri estériles.

II. Inoculación del medio de cultivo

1. Las cajas se dividieron en secciones y cada sección fue inoculada con una cepa diferente utilizando para ello 100 mg de peso húmedo.

2. Las cajas inoculadas se incubaron a 28°C.

III. Lectura de la prueba

1. Las cajas se revisaron diariamente para detectar la aparición de un halo verde o transparente alrededor de la colonia

2. Pasados 15 días las cajas fueron desechadas y se reportaron como negativas las colonias que no presentaron la formación de halo.

3. Una caja con medio de cultivo fue inoculada con Staphylococcus aureus que fue la cepa de control positivo.

2.3.3.4 Determinación de coagulases

I. Preparación del medio

1. Se hizo una dilución de plasma 1:2 con solución salina isotónica estéril.

2. Se depositaron 2 ml de la dilución en tubos de ensaye estériles.

II. Inoculación del medio

1. Cada tubo fue inoculado con 100 mg de peso húmedo de la cepa a probar.

2. Los tubos inoculados se incubaron a 37°C.

III. Lectura de la prueba

1. Los tubos inoculados se revisaron cada 24 horas para detectar la formación de coágulo.

2. Pasados cinco días, los tubos fueron desechados, reportándose como negativos en los que no se formo el coágulo.

3. Un tubo fue inoculado con Staphylococcus aureus, que fue la cepa de control positivo.

2.4 Resultados

2.4.1 Epidemiología del micetoma

Se hizo una depuración de los casos reportados, desechándose los casos repetidos y aquellos que estaban incorrectos. El número de casos varió en cada tabla, debido a la ausencia de información en los diversos rubros (ocupación, sexo, edad, y otros).

Sexo: La frecuencia de micetoma en el hombre fue de 76.09% (1 579 casos), tres veces más que en la mujer: 23.91% (496 casos). Tabla No.1

Edad: La frecuencia máxima corresponde al grupo etario de 15 a 30 años (35.62%); por arriba y por abajo de este rango la frecuencia disminuye, de modo que al grupo de 61 a 80 años le corresponde una frecuencia de 8.28%. Tabla No.2

Ocupación: El micetoma ocurre con mayor frecuencia en campesinos, siendo ésta la ocupación principal de 827 pacientes (60.19%). Las mujeres dedicadas al hogar ocuparon el segundo lugar en frecuencia (21.32%), aunque es de notar que las mujeres en el área rural también comparten responsabilidades con el hombre en las labores del campo. En ocupaciones diferentes a labores agrícolas la frecuencia fue aproximadamente de 18.00%; obreros 3.57%, estudiantes 3.57%, etc. Tabla No.3

TABLA No. 1

DISTRIBUCION POR SEXOS EN 2 075
CASOS DE MICETOMA

SEXO	NUMERO	%
MASCULINO	1 579	76.09
FEMENINO	496	23.91
TOTAL	2 075	100.00

TABLA No. 2
 FRECUENCIA DE MICETOMAS POR GRUPO
 DE EDAD (1 642 CASOS)

EDAD	NUMERO	%
0 - 15	61	3.71
16 - 30	575	35.02
31 - 40	374	22.78
41 - 50	310	18.88
51 - 60	186	11.33
61 - 80	136	8.28
TOTAL	1 642	100.00

TABLA No. 3

OCUPACION EN 1 374 CASOS DE MICETOMA

OCUPACION	NUMERO	%
CAMPESINO	827	60.19
HOGAR	293	21.32
OBRERO	49	3.57
ESTUDIANTE	49	3.57
ALBAÑIL	29	2.11
COMERCIANTE	22	1.60
CARGADOR	20	1.46
EMPLEADO	19	1.38
OTRAS OCUPACIONES	66	4.80
TOTAL	1 374	100.00

Localización topográfica: De un total de 1 604 casos de micetoma, la mayor frecuencia se dió en extremidades inferiores [48.00%], seguidas por el tronco [32.50%] y las extremidades superiores [30.00%]. Fig. No.1

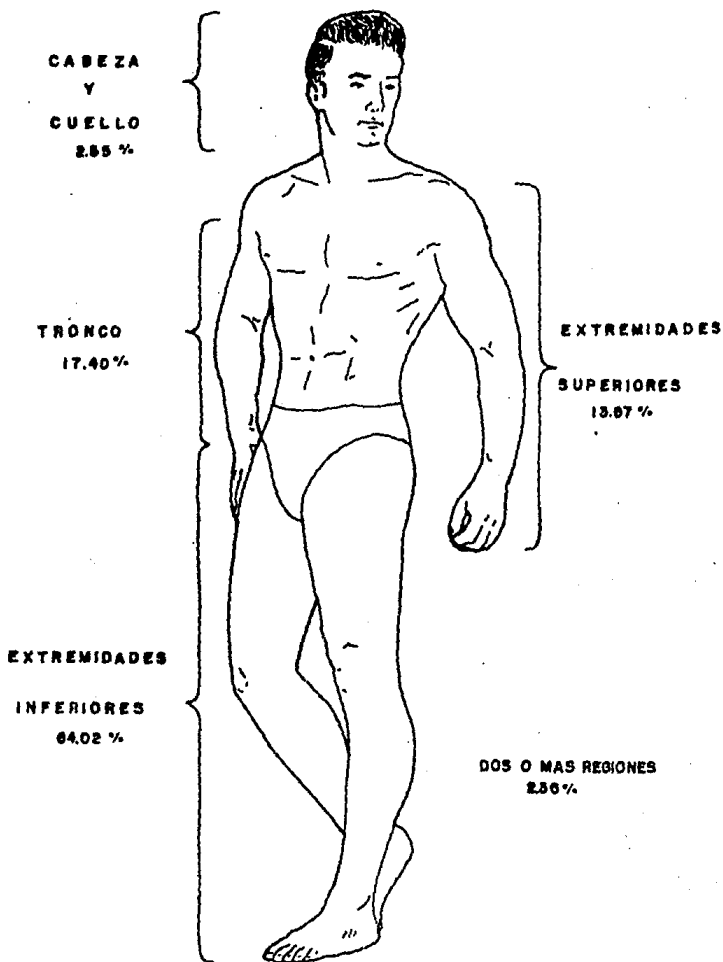
Distribución geográfica: La mayoría de los casos se detectaron al su del Trópico de Cáncer, aún cuando las condiciones climáticas en estas regiones son variables y pueden presentar clima tropical, templado y aún semidesértico. Los estados de la República Mexicana con la mayor frecuencia fueron: Jalisco con 345 casos; Nuevo León con 168 casos; San Luis Potosí con 135 casos y Morelos con 132 casos. Los estados en los que no se reportaron casos de micetoma fueron: Quintana Roo, Tlaxcala y Baja California Sur. Mapa No.2

Diagnóstico de laboratorio: En la mayor parte de los casos [76.87%] se emplearon para el diagnóstico los tres métodos indicados: examen directo; cultivo e histopatología. En otros casos sólo se realizó el examen directo [19.86%], y en 45 casos únicamente se realizó estudio histopatológico. Tabla No.4

Agentes etiológicos: Como en otras partes de América, el actinomicetoma fue más frecuente. En este estudio se observó que la frecuencia fue de 97.77%, comparado con el eumicetoma que tuvo una frecuencia de 2.23%. Tabla No.5

En cuanto a la frecuencia por especies Nocardia brasiliensis fue aislada con una frecuencia de 65.65% de todos los ca

FIGURA No 1
DISTRIBUCION TOPOGRAFICA 1,804 CASOS DE MICETOMA (EN PORCIENTOS)



MAPA No2 DISTRIBUCION GEOGRAFICA DEL MICETOMA EN MEXICO

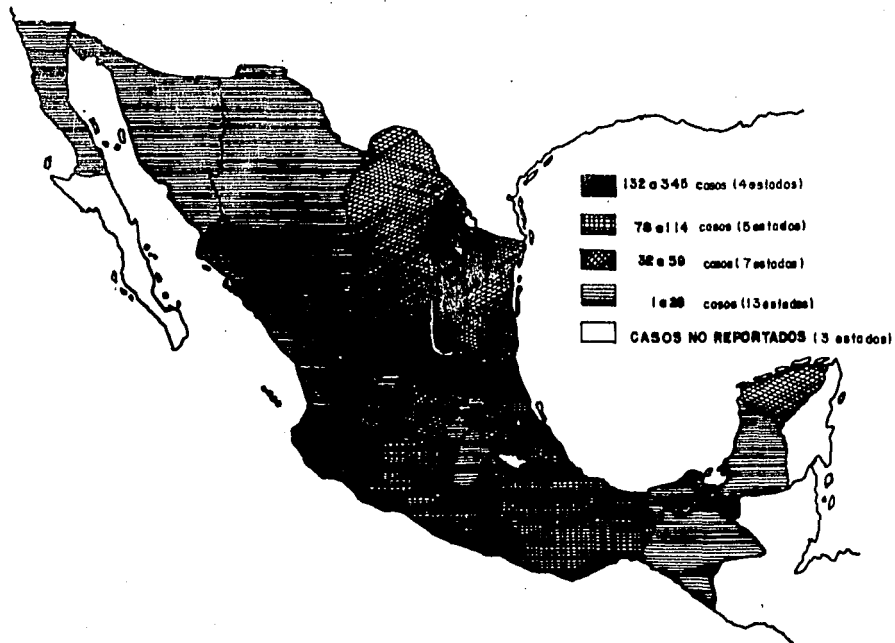


TABLA No. 4

PROCEDIMIENTO DIAGNOSTICO EN 2 105
CASOS DE MICETOMA

PROCEDIMIENTO	NUMERO	%
CULTIVO, EXAMEN DIRECTO E HISTOPATOLOGIA	1 618	76.87
EXAMEN DIRECTO E HISTOPATOLOGIA	24	1.14
EXAMEN DIRECTO	418	19.86
HISTOPATOLOGIA	45	2.13
TOTAL	2 105	100.00

TABLA No. 5

TIPOS DE MICETOMA EN 2 105 CASOS

TIPO	NUMERO	%
ACTINOMICETOMA	2 058	97.77
EUMICETOMA	47	2.23
TOTAL	2 105	100.00

sos de actinomicetoma. Actinomadura madurae ocupó el segundo lugar con una frecuencia de 7.73%. Otras especies como son Nocardia asteroides, Nocardia caviae, Actinomadura pelletieri y Streptomyces somaliensis se observaron con menor frecuencia. En el 16.37% de los casos, sólo se pudo determinar que el agente etiológico pertenecía al grupo de los actinomicetales, sin precisar género y especie. Tabla No.6

La mayor frecuencia de eumicetomas tuvo como agente etiológico a Madurella grisea (31.91%), Madurella mycetomatis ocupó el segundo lugar en frecuencia (27.66%). Hubo algunos casos raros de micetoma causados por Pseudallescheria boydii, Pirenochaeta romeroi, Fusarium sp. y Acremonium sp. En el 17.02% de los casos sólo se determinó que el agente causal pertenecía al grupo de los hongos, sin lograr diferenciar el género y la especie. Tabla No.7

Frecuencia anual: Al analizar la frecuencia de micetoma reportada anualmente, se observa que desde 1956 hasta 1984 se ha presentado un incremento en el número de casos. Este periodo se divide en quinquenios siendo el correspondiente a 1976-1980 que presentó la frecuencia más elevada. En el periodo de 28 años en que se registro el promedio de frecuencia por año, el resultado fue de 76 casos anuales. Tabla No.8

TABLA No. 6
 AGENTES ETIOLÓGICOS EN 2 058 CASOS DE
 ACTINOMICETOMA

AGENTE	NUMERO	%
<u>Nocardia brasiliensis</u>	1 351	65.65
<u>Nocardia asteroides</u>	18	0.87
<u>Nocardia caviae</u>	4	0.19
<u>Nocardia sp</u>	159	7.73
<u>Actinomadura madurae</u>	159	7.73
<u>Actinomadura pelletieri</u>	8	0.39
<u>Streptomyces somaliensis</u>	18	0.87
<u>Streptomyces sp</u>	2	0.10
<u>Actinomyces israelii</u>	2	0.10
Actinomiceto	337	16.37
TOTAL	2 058	100.00

TABLA No. 7
 AGENTES ETIOLÓGICOS EN 47 CASOS
 DE EUMICETOMA

AGENTE	NUMERO	%
<u>Madurella grisea</u>	15	31.91
<u>Madurella mycetomatis</u>	13	27.66
<u>Madurella</u> sp	1	2.13
<u>Pseudallescheria boydii</u>	5	10.63
<u>Pyrenochaeta romeroi</u>	1	2.13
<u>Fusarium</u> sp	2	4.26
<u>Acremonium</u> sp	2	4.26
HONGO	8	17.02
TOTAL	47	100.00

TABLA No. 8
 FRECUENCIA DE MICETOMAS POR QUINQUENIO

QUINQUENIO	NUMERO	%
1956-1960	104	5.53
1961-1965	164	8.72
1966-1970	244	12.98
1971-1975	406	21.60
1976-1980	630	33.51
1981-1984	332	17.66
TOTAL	1 880	100.00

2.4.2 Prueba de patogenicidad en animales de experimentación

De las 47 cepas de N. brasiliensis aisladas a partir de suelos del estado de Morelos e inoculadas en ratones, sólo 18 cepas (38.29%) provocaron la formación de granos y/o retrocultivos. Las 14 cepas testigo aisladas de pacientes con micetoma mostraron una patogenicidad de 92.85%, ya que en 13 de ellas se obtuvieron retrocultivos o formación de granos o ambos. Tabla No. 9.

El retrocultivo constituyo el método más adecuado para detectar al agente infeccioso, 45 días después de haber realizado la inoculación, siendo éste positivo en 14 de las 47 cepas de N. brasiliensis aisladas de suelos (29.78%), en tanto que la obtención de granos por el método histopatológico sólo se logro en siete cepas (14.89%). En las cepas testigo hubo una positividad al retrocultivo de 85.78%, en tanto que la formación de granos tuvo una positividad del 64.28%. Tabla No. 10.

La virulencia mostrada por las cepas aisladas de suelos fue mucho menor que la mostrada por las cepas aisladas de pacientes, ya que en las primeras de 47 cepas sólo siete formaron granos y sólo afectaron un órgano o tejido, en tanto que de las 14 cepas aisladas de pacientes, nueve formaron granos y en ocho de las nueve cepas el número de órganos o tejidos afectados fué de tres o más; entre las nueve cepas afectaron un total de 35 órganos o tejidos. Tablas No. 9, 10, 11, 12.

TABLA No. 9

TOTAL DE CEPAS DE N. brasiliensis
 INOCULADAS EN RATONES (CD1)

PROCEDENCIA DE LA CEPA	No. DE CEPAS INOCULADAS	No. DE CEPAS POSITIVAS A RETROCULTIVO Y/O GRANOS	% DE POSITIVAS
SUELOS	47	18	38.29
MICETOMA	14	13	92.85

TABLA No. 10
 OBTENCION DE GRANOS Y/O RETROCULTIVOS EN RATONES [CD1] INOCULADOS
 CON CEPAS DE N. brasiliensis

PROCEDENCIA DE LA CEPA	NUMERO DE CEPAS INOCULADAS	OBTENCION DE GRANOS SOLAMENTE	OBTENCION DE RETROCULTIVOS SOLAMENTE	OBTENCION DE GRANOS Y/O RETROCULTIVO	TOTAL DE POSITIVOS
SUELOS	47	4	11	3	18
MICETOMA	14	1	4	8	13

TABLA No. 10
 OBTENCION DE GRANOS Y/O RETROCULTIVOS EN RATONES (CD1) INOCULADOS
 CON CEPAS DE N. brasiliensis

PROCEDENCIA DE LA CEPA	NUMERO DE CEPAS INOCULADAS	OBTENCION DE GRANOS SOLAMENTE	OBTENCION DE RETROCULTIVOS SOLAMENTE	OBTENCION DE GRANOS Y/O RETROCULTIVO	TOTAL DE POSITIVOS
SUELOS	47	4	11	3	18
MICETOMA	14	1	4	8	13

TABLA No. 11
 LOCALIZACION DE LOS GRANOS EN RATONES INOCULADOS
 CON CEPAS DE N. brasiliensis AISLADAS A
 PARTIR DE SUELOS

ORGANO O TEJIDO AFECTADO	NUMERO	%
COJINETE PLANTAR	2	28,57
GANGLIO LINFATICO	2	28,57
PARED ABDOMINAL	2	28,57
HIGADO	1	14,29
TOTAL	7	100,00

TABLA No. 12

LOCALIZACION DE LOS GRANOS EN RATONES INOCULADOS
 CON CEPAS DE N. brasiliensis AISLADAS DE
 CASOS DE MICETOMA

LOCALIZACION	NUMERO	%
Cojinete plantar	8	22.86
Parad abdominal	8	22.86
Ganglio linfático	6	17.15
Hígado	3	8.57
Páncreas	3	8.57
Bezo	2	5.71
Intestino	2	5.71
Peritoneo	2	5.71
Diafragma	1	2.86
TOTAL	35	100.00

2.4.3 Factores de patogenicidad

Para tabular los resultados las cepas aisladas de pacientes se agruparon por año de aislamiento; y se hizo otro grupo con las cepas aisladas de suelos.

De las cuatro enzimas estudiadas (lipasa, hemolisina, desoxirribonucleasa y coagulasa) sólo tres estuvieron presentes en las cepas valoradas, siendo la coagulasa negativa, tanto para las cepas aisladas de pacientes como para las cepas aisladas a partir de suelos. Tabla No. 13

2.4.3.1 Hemolisina

En todos los grupos se observó un predominio de las cepas hemolisina positivas sobre las hemolisina negativas, exepcto las cepas aisladas en 1984, año en que se invirtió la relación. Gráfica No. 1

El total de positividad a hemolisinas de las cepas aisladas de pacientes fue de 62,49%. Las cepas aisladas de suelos mostraron una positividad del 80% en las 10 cepas probadas. Tabla No. 13.

2.4.3.2 Lipasas

La presencia de esta enzima fue casi nula en las cepas aisladas de pacientes, sin haber una diferencia notable entre los grupos de los años revisados [Gráfica No. 2]. La enzima estuvo

TABLA No. 13

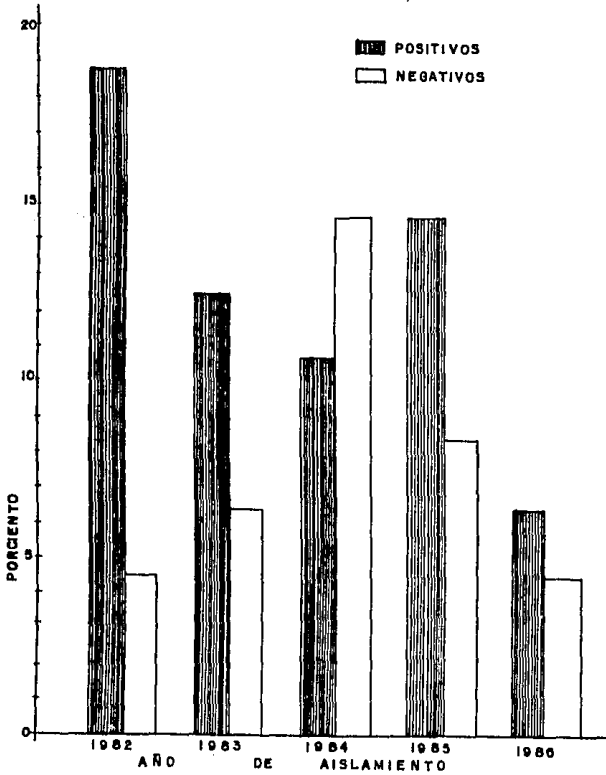
PRESENCIA DE ENZIMAS EN 10 CEPAS DE Nocardia
braeiliensis AISLADAS DE SUELOS Y 48

CEPAS AISLADAS DE PACIENTES

ENZIMA	SUELOS		PACIENTES	
	No.	%	No.	%
HEMOLISINA	8	80.00	30	62.49
LIPASA	5	50.00	4	8.32
DESOXIRRIBO- NUCLEASA	4		30	62.50
COAGULASA	0	0.00	0	0.00

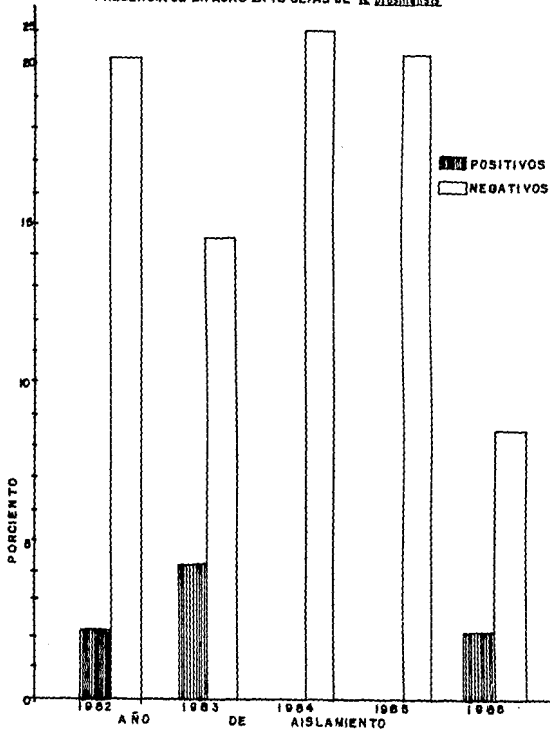
GRAFICA No 1

PRESENCIA DE HEMOLISINAS EN 48 CEPAS DE *N. brasiliensis*



GRAFICA No 2

PRESENCIA DE LIPASAS EN 48 CEPAS DE *N. brasiliensis*



presente en sólo cuatro de las 48 cepas probadas (8.32%).

Las cepas aisladas de suelos mostraron una positividad del 50.00% para esta enzima (Tabla No. 13), en las 10 cepas probadas.

2.4.3.3. Desoxirribonucleasa

Se observa que las cepas aisladas en 1982 y 1983 no presentan una diferencia porcentual significativa, pero en los años siguientes se observa un predominio marcado de las cepas positivas sobre las cepas negativas. Gráfica No. 3.

El total de positividad de las 48 cepas aisladas de pacientes fue de 62.50%, lo que da una relación aproximada de 2:1 de cepas positivas sobre cepas negativas.

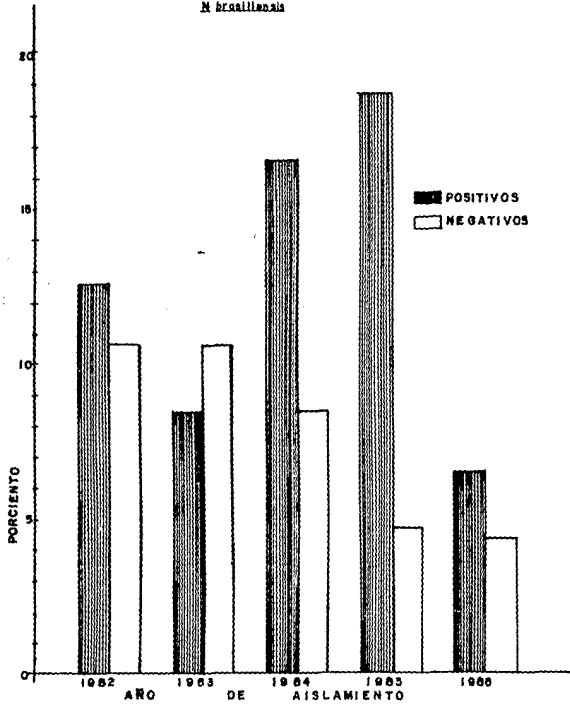
En las cepas aisladas a partir de suelos la relación se invirtió y se encontró sólo un 40% de positividad, Tabla No. 13.

2.4.3.4. Coagulasa

La coagulasa fue negativa tanto para las cepas aisladas de pacientes como para las cepas aisladas a partir de suelos, Tabla No. 13.

GRAFICA No 3

PRESENCIA DE DESOXIRIBONUCLEASAS EN 48 CEPAS DE *N. brasiliensis*



3 DISCUSION Y CONCLUSIONES

3.1 Epidemiología del micetoma

Aunque el micetoma se presenta con una frecuencia moderada comparado con otras enfermedades infecciosas, continua siendo un problema de salud en las áreas rurales, principalmente dentro de los cinturones tropicales y subtropicales de nuestro país. Los resultados de la encuesta epidemiológica mostraron que también se presentan casos de micetoma en casi toda la República Mexicana, aunque con una frecuencia menor que en los climas antes mencionados. Así, es necesario implantar medidas sanitarias preventivas para tratar de reducir la morbilidad.

En la revisión epidemiológica que se hizo quedo de manifiesto no sólo la magnitud del problema, sino también, sus principales características epidemiológicas; en muchos aspectos éstas concuerdan con las presentadas por otros investigadores [26][34][40]. La frecuencia registrada se considera alta: 2 105 casos, y la distribución geográfica en el territorio nacional predomina en las regiones tropicales como ha sido reportado por otros investigadores [33][34][40].

En las edades extremas de la vida, el predominio de casos de micetoma del hombre sobre la mujer es más evidente y alcanza proporciones variables que van de 4:1; 6:1; y aún 8:1, hecho que requiere ser investigado quizá desde el punto de vista hormonal. Tabla No. 14.

TABLA No. 14
RELACION ENTRE EOAD Y SEXO EN 661 CASOS DE MICETOMA

SEXO	GRUPOS DE EOAD									
	0 - 10	11 - 20	21 - 30	31 - 40	41 - 50	51 - 60	61 - 70	71 - 81	81 -	
MASCULINO	9	65	100	105	84	54	33	17	2	
FEMENINO	2	30	52	42	40	18	5	2	1	
TOTAL	11	95	152	147	124	72	38	19	3	
RELACION M/F	4:1	2:1	2:1	2:1	2:1	3:1	6:1	8:1	2:1	

Es interesante hacer notar que los micetomas en rodilla se presentan con mayor frecuencia en la mujer, esto puede ser ocasionado por los traumatismos constantes que sufre en las rodillas ya que muchas de sus actividades las realizan hincadas: lavar ropa, moler maíz o cocer tortillas. La localización abdominal fue mas frecuente en el hombre, y esto se puede deber a que, al cargar bultos u objetos pesados, en muchas ocasiones apoyan la carga en la región abdominal. Tabla No. 15. En las otras regiones corporales la frecuencia fue igual en ambos sexos.

Como en otras casuísticas [18][33][34][40][50] el padecimiento presentó una frecuencia mayor en las extremidades inferiores, y de éstas el pie fue afectado con la máxima frecuencia. La elevada frecuencia de afección en tronco encontrada en la República Mexicana, particularmente en la región dorsal, puede ser explicada por la costumbre que existe entre los cargadores de colocarse los bultos en la espalda para facilitar el transporte de la carga, como ocurre con frecuencia en los ingenios azucareros.

En cuanto al agente causal se observa que mientras el micetoma causado por los géneros Nocardia y Streptomyces predominan en el hombre, los producidos por el género Actinomadura tienen una distribución igual en ambos sexos. Esto probablemente indica una mayor susceptibilidad en la mujer para la infección con este agente. Tabla No. 16.

Aunque los micetomas fueron más frecuentes en los trabajadores agrícolas, principalmente los producidos por los géneros

TABLA No. 15

RELACION ENTRE SEXO DEL PACIENTE
Y LA REGION AFECTADA POR MICETOMA

REGION AFECTADA	MASCULINO	FEMENINO
ABDOMEN	17	1
RODILLA	6	11
TOTAL	23	12

TABLA No. 16

RELACION DE FRECUENCIA DE MICETOMA DE ACUERDO
AL SEXO Y AL AGENTE ETIOLOGICO
(EN PORCENTAJE)

SEXO	NOCARDIA	STREPTOMYCES	ACTINOMADURA
MASCULINO	72.68	66.66	50.00
FEMENINO	27.32	33.34	50.00
TOTAL	100.00	100.00	100.00

Nocardia, Streptomyces y Actinomadura, se observa que los micetomas eumicóticos son más frecuentes en individuos con ocupaciones diferentes a las actividades agrícolas (empleados, mecánicos, albañiles, etc.), quizá esto tenga relación con el hábitat del agente etiológico. Tabla No. 17

Seguramente no es real la distribución geográfica que se obtuvo por la revisión de frecuencias en los diferentes estados de la República Mexicana, por que en los estados donde se encontraron las frecuencias máximas como son: Jalisco, Nuevo León, San Luis Potosí, etc., son estados que cuentan con Centros Dermatológicos importantes y poseen los recursos y el personal preparado para realizar el diagnóstico correcto, hecho que no ocurre en otros estados de la República Mexicana como son Chiapas, Quintana Roo, Baja California Norte y Baja California Sur. Mapa No. 2

La elevada frecuencia de micetomas en los estados situados en el sur de la República Mexicana se puede deber a que en esos estados las actividades relacionadas con el campo son la fuente principal de trabajo y que además carecen de los recursos tecnológicos necesarios que permitirían reducir la exposición masiva y frecuente a los agentes causales del padecimiento.

En los estados del norte de la República Mexicana se cuenta con condiciones más favorables en el área tecnológica, lo que se traduce en una exposición menor a los agentes causales.

También en estos estados el nivel socioeconómico generalmente es más alto y esto podría ayudar a que el paciente no su

TABLA No. 17

RELACION DE FRECUENCIA DE MICETOMA CON LA
OCUPACION Y EL AGENTE ETIOLOGICO
(EN PORCENTAJE)

ACTIVIDAD	NOCARDIA	STREPTOMYCES	ACTINOMADURA	EUMICETOMA
Actividades rurales	64,92	100,00	88,89	46,15
Otras ocupaciones	35,08	0,00	11,11	53,85
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00

fra la enfermedad a pesar de sufrir la infección porque su aparato inmunológico funciona adecuadamente.

Los procedimientos de laboratorio necesarios para hacer el diagnóstico de micetoma, así como también para determinar el género y la especie del agente causal, no fueron aplicados en todos los casos, por lo cual la determinación definitiva del género y la especie no fue obtenida en todos los casos. Es necesario, pues, adiestrar a mas personal para la realización del diagnóstico adecuado de este padecimiento para así tener un registro fidedigno y conocer con ello la magnitud real del problema, y también se debe hacer una recolección permanente de casos en toda la República Mexicana.

3.2 Patogenicidad en animales de experimentación

En relación con la frecuencia de N. brasiliensis en suelos, Mariat opina que existen muchas cepas de actinomicetales que se pueden aislar de suelos y que comparten características fisiológicas, morfológicas y tintoriales con N. brasiliensis, sin ser necesariamente esta especie, por ello recomienda hacer la prueba de patogenicidad en animales de experimentación para corroborar la determinación taxonómica.

De acuerdo con lo esperado de las 47 cepas aisladas de suelos e inoculadas en el ratón, sólo 18 cepas produjeron micetoma experimental. Lo anterior tiene relevancia si se considera que para obtener esas 47 cepas López-Martínez y cols. [43] estudiaron 480 muestras de tierra del estado de Morelos. De esas muestras se aislaron 186 colonias sugestivas de ser actinomicetales y de éstas 75 colonias dieron positivas las pruebas fisiológicas, morfológicas y características tintoriales de N. brasiliensis. Al realizar subcultivos de estas cepas, en 28 de ellas no hubo desarrollo. Las 47 cepas restantes fueron inoculadas en los ratones. La prueba de patogenicidad en animales de experimentación eliminó a otras 29 cepas y, finalmente, se demostró que sólo 18 corresponden a N. brasiliensis. A pesar del aparente escaso número, se considera que es un alto índice de positividad para este actinomicetal patógeno para el hombre.

Cuando se inocularon 14 cepas aisladas de casos humanos de pacientes con micetoma en ratones, una de ellas no provocó la

formación de micetoma experimental, lo que va en contra de lo reportado por González Ochoa (26) quien refiere una patogenicidad del 100%, aunque Mariat reportó que las cepas de N. brasiliensis no son necesariamente patógenas para el ratón (47). Tabla No. 9. Es probable que un pequeño número de cepas de N. brasiliensis no den positiva la prueba de patogenicidad y, en consecuencia aumentaría ligeramente el número de cepas de N. brasiliensis aisladas de suelos.

El retrocultivo fue la prueba que permitió constatar con mayor frecuencia la patogenicidad de N. brasiliensis, cuando se comparó esta prueba con el estudio histopatológico para la observación de granos (Tabla No. 10). La superioridad del retrocultivo en la detección de micetoma experimental se debe probablemente a la cantidad de tejido explorado, que es más grande comparada con la explorada por medio de cortes histopatológicos, estudio es el último que requiere un gran número de cortes para que la detección de granos no quede al azar.

A la luz de los hechos anteriores se puede afirmar lo siguiente:

1o. Las cepas de N. brasiliensis aisladas de suelos muestran una patogenicidad menor que las cepas aisladas de pacientes; esto se midió por el número de cepas que fueron capaces de formar micetomas, en donde se encontró una positividad de 38.29% para las cepas aisladas de suelos y de 92.85% para las cepas aisladas de pacientes.

20. La virulencia de las cepas aisladas de pacientes con micetomas es mucho mayor que la virulencia de las cepas aisladas de suelos; esto puede ser cuantificado mediante el Índice de invasión (I. de I.), que se obtiene de la siguiente manera:

$$\text{Índice de invasión} = \frac{\text{Número de órganos afectados}}{\text{Número de cepas probadas}}$$

Los índices obtenidos presentan una gran diferencia [Tabla No. 16] a favor de las cepas aisladas de pacientes.

La virulencia más elevada de las cepas aisladas de pacientes se debe probablemente a una mejor adaptación a hospederos mamíferos por adaptaciones metabólicas o de sus organelos, como sucede en otros parásitos que al penetrar a hospederos mamíferos, por ejemplo el caso de Trypanosoma brucei, que al pasar de hospedero invertebrado a hospedero vertebrado sufre cambios dramáticos en su morfología y en sus vías metabólicas para sobrevivir en el nuevo ambiente [60]. También estos cambios se ponen de manifiesto en algunos hongos como es el caso de Cryptococcus neoformans, hongo que en la naturaleza presenta una cápsula delgada, pero que al penetrar al hospedero humano ésta aumenta su espesor, muy probablemente influida por el cambio ambiental y, como consecuencia del aumento de la cápsula puede sobrevivir a los mecanismos fagocíticos del hospedero [32]. Otro ejemplo es el caso de Paracoccidioides brasiliensis, hongo que al ser cultivado y mantenido por largo tiempo en medios de laboratorio pierde la capacidad de sintetizar alfa 1-3 glucana, propiedad que recupera al ser reino-

TABLA No. 18

INDICE DE INVASION DE CEPAS AISLADAS DE SUELOS Y
CEPAS AISLADAS DE PACIENTES CON MICETOMA

PROCEDENCIA	No. DE CEPAS INOCULADAS	No. DE ORGANOS AFECTADOS	INDICE DE INVASION
SUELOS	18	7	0.38
MICETOMA	13	35	2.69

$$I. \text{ de } i. = \frac{\text{Número de órganos afectados}}{\text{Número de cepas probadas}}$$

culado en animales de experimentación o ser cultivado en presencia de suero de feto de ternera [58][59].

Probablemente las cepas aisladas de suelos y obtenidas nuevamente por retrocultivo después de varios pases por animales de experimentación, muestren una virulencia igual a la de las cepas aisladas de pacientes.

3.3 Factores de patogenicidad

Al igual que en otros estudios de contenido enzimático como factor de patogenicidad [54][55][56], los resultados obtenidos en esta investigación no son de ninguna manera concluyentes, pero si se puede observar una diferencia notable en cuanto el número de cepas positivas a la lipasa aisladas de suelos, comparada ésta con la positividad de las cepas obtenidas de pacientes. Los diferentes grados de positividad encontrados entre las cepas aisladas de pacientes y las cepas aisladas de suelos se deben muy probablemente al cambio de medio ambiente en que se desarrollan, modificándose entre otras cosas la temperatura, el pH, los sustratos disponibles y otros, y como es bien sabido estas modificaciones cambian también el metabolismo de algunos parásitos [58][59][60].

El estudio de la presencia de coagulasa fue negativo en todas las cepas estudiadas, lo que tomando en cuenta el número total de cepas probadas muy probablemente descarta a esta enzima como factor de patogenicidad en el caso de micetoma causado por N. brasiliensis.

Se pensó también que las cepas de N. brasiliensis mantenidas por subcultivos durante varios años en medio de laboratorio, podrían modificar su patrón enzimático y por esta razón, para su estudio las cepas provenientes de pacientes se agruparon por año de aislamiento.

No se encontró una diferencia significativa en cuanto a la presencia o ausencia de enzimas en los diferentes años (gráficas 1, 2, 3). Aunque en la literatura no se registran este tipo de estudios para actinomicetales, es de suponer que debe haber una variación enzimática como se presenta en otros hongos lo que modifique su patogenicidad [58][59], y si bien, en este estudio no se demostró ningún cambio es probable que se deba a que el tiempo en que se mantuvieron en laboratorio estas cepas fue muy corto o a que las enzimas estudiadas no son las adecuadas.

Al revisar la literatura publicada acerca de los posibles mecanismos de patogenicidad que poseen los actinomicetales [4][51][53][54][55], es evidente lo poco que se ha estudiado a este respecto. El estudio del contenido enzimático como mecanismo de patogenicidad no debe ser abandonado aunque los resultados iniciales no son todo lo claro que hubiéramos deseado.

4.0 BIBLIOGRAFIA

1. Adam, A., R. Ciorbara, J. F. Petit, E. Lederer, L. Chedid, A. Lemensans, F. Parant, M. Parant, J. P. Rosselet and F. M. Berger. 1973. Preparation and biological properties of water soluble adjuvant fractions from delipidated cells of Mycobacterium smegmatis and Nocardia opaca. Infect. Immun. 7: 855-861.
2. Bert, D. 1973. Laboratory identification of clinically important aerobic actinomycetes. Appl. Microbiol. 25 (4): 665-681.
3. Bojalil, L. F. and J. Carbon. 1959. Schema for the differentiation of Nocardia asteroides and Nocardia brasiliensis. J. Bact. 78: 852-859.
4. Bojalil, L. F., A. Trujillo and J. Carbon. 1959. Diferenciación bioquímica de algunas especies de actinomyces patógenos. Mycopat. et Mycol. Appl. XI: 286-296.
5. Bojalil, L. F. 1962. Taxonomía, Fisiología e Inmunología de Nocardia. Mem IV Congreso Nacional de Microbiología, Monterrey, N. L., México.
6. Bojalil, L.F. and M. Magnusson. 1963. Specificity of skin reactions of humans to Nocardia sensitins. Amer. Rev. of Res. Dis. 88 (3): 409-412
7. Bona, C., C. Demais and L. Chedid. 1974. Blastic transformation of mouse spleen lymphocytes by water-soluble mitogen extracted from Nocardia. Proc. Natl. Acad. Sci.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

USA. 71: 1602-1606.

8. Boyd, M. F. and E. D. Crutchfield. 1921. A contribution to the study of mycetoma in North America. Am. J. Trop. Med. Baltimore 1: 215-289. [Citado por 46].
9. Brault, J. 1913. Note sur les cultures de Madurella micetomi. Bull. Soc. Path. Exot. 6: 407-409
10. Bristowe, J. S. 1871. Fungus-foot of India; Report on Dr Fox's Madura-foot. Trans. Path. Soc. Lond. 22: 320-326. [Citado por 46]
11. Burton, C. and Kwon-Chung, K. L. 1960. Mycetoma caused by Microsporium audouinii. Am. J. Clin. Pathol. 73: 447-454.
12. Carter, H. V. 1860. On a new striking form of fungus disease, principally affecting the foot and prevailing endemically in many parts of India. Trans. Med Phys. Soc. Bombay. 6: 104-142. [Citado por 46 y 57]
13. Carte, H.V. 1861. On mycetoma or the fungus disease of India including notes of recent cases and new observations on the structure etc. of the entophytic growth. Trans. Med. Phys. Soc. Bombay, 7: 206-221. [Citado por 46]
14. Carter, H. V. 1874. On mycetoma or the fungus disease of India. J. Sc. A. Churchil, London. [Citado por 46]
15. Cicero, R. 1912. El micetoma. Gac. Med. Mex. 7: 291-301.
16. Eyre, E. W. 1859. Account of a peculiar disease "tuber_

- cular" of the foot. Indian Ann. Med. Sci. 6: 513-520.
[Citado por 46].
17. Gill. 1842. Indian Army Medical Reports, quoted by Carter. 1874.
 18. González-Chávez, A. 1946. Las micosis profundas más comunes en México. Re. Med. Hosp. Gen. Méx. 8: 1010-1026
 19. González-Mendoza, A and F. Mariat. 1964. Sur l'hydrolyse de la gelatine comme caractère différentiel entre Nocardia asteroides y Nocardia brasiliensis. Ann. Inst. Pasteur 107: 560-564.
 20. González-Ochoa, A. 1942. El micetoma por Actinomyces mexicanus. Boyd y Crutchfield, 1921 en México. Rev. Inst. Salub. Enf. Trop. Méx. 3: 303-317.
 21. González-Ochoa, A. y H. A. Velázquez. 1953. Relaciones serológicas de los principales actinomycetes patógenos. Rev. Inst. Salub. Enf. Trop. Méx. XIII (3): 177-187
 22. González-Ochoa, A. y F. Beranda. 1953. Una prueba cutánea para el diagnóstico del micetoma actinomicótico por Nocardia brasiliensis. Rev. Inst. Sal. Enf. Trop. XIII(3): 189-197.
 23. González-Ochoa, A. y M. A. Sandoval. 1955. Características de los actinomycetes patógenos más comunes. Rev. Enf. Trop. Méx. XVI (3): 149-161.
 24. González-Ochoa, A. y M. A. Sandoval. 1956. Revisión determinativa de algunas especies de actinomycetes patógenos descritos como diferentes. Rev. Inst. Sal. Enf. Tro

25. González-Ochoa, A. y M. A. Sandoval. 1960. Aislamiento de Nocardia brasiliensis y Nocardia asteroides a partir de suelos. Rev. Inst. Sal. Enf. Trop. 20: 147-171.
26. González-Ochoa, A. 1962. Mycetoma by Nocardia brasiliensis. Rev. Inst. Sal. Enf. Trop. XXII [1 y 2]: 15-24.
27. González-Ochoa, A., Shibayama and M. Anaya. 1962. Immunological aspects of actinomycotic mycetoma and nocardiosis. XII International Congress of Dermatology.
28. González-Ochoa, A. 1967. Micetomas y actinomycosis. Mem XIII Cong. Inter. Derm. München. 819-824.
29. González-Ochoa, A. 1973. Virulence of Nocardia. Can J. Microbiol. 19: 901-904.
30. González-Ochoa, A. and A. Sandoval-Cueller. 1976. Different degrees of morbidity, in the white mouse, induced by Nocardia brasiliensis, Nocardia asteroides and Nocardia caviae. Sabouraudia 14: 255-259.
31. Gordon, R. E. and W. A. Hagen. 1936. A study of some acid-fast actinomycoetes from soil with special reference to pathogenicity. J. Infect. Dis 59: 200-206.
32. Ishaq, C.M., G.S. Bulmer, et al. 1968 An evaluation of various environmental factors affecting the propagation of Cryptococcus neoformans. Mycopathologia 35: 81-90
32. Letapí, F. 1959. Micetoma, análisis de 100 casos estudiados en la ciudad de México. Mem. III Cong. Iber. Lat. Derm., México

34. Latapí, F. y Y. Ortiz. 1961. Los micetomas en México; datos nuevos clínicos y epidemiológicos relativos a 197 casos. Mem. I Cong. Mex. Derm., México
35. Latapí, F., Mariat, F., P. Lavallo y Y. Ortiz. 1961. Micetoma por Streptomyces somaliensis localizado en dedo de la mano. Rev. Mex. Derm. 5(3-4): 257-270.
36. Lavallo, P. y J. Millán. 1949. Estudio clínico y micológico de un micetoma de la mano. Prensa Med. Mex. 14: 106-107.
37. Lavallo, P., A. Saúl y J. Peniche. 1961. La sulfadimetoxipiridazina en el tratamiento del micetoma. I Cong. Mex. Derm., México pp 525-535.
38. Lavallo, P. 1962. Agents of mycetoma. In. Dalldorf G. (ed). Fungi and Fungus Diseases. Springfield, Il., Charles C. Thomas pp 50-65.
39. Lavallo, P. y F. Mariat. 1964. Características de una cepa de Nocardia aislada de un micetoma dorsal. Rev. Mex. Derm. 8: 223-234.
40. Lavallo, P. 1966. Nuevos datos sobre la etiología del micetoma en México y sobre su patogenia. Gac. Med. Mex. XCVI: 545-569.
41. Lavallo, P. 1966. Clínica y terapéutica de los micetomas. Derm. Inter. 5(2): 117-120.
42. Lavallo, P. 1972. Micetomas por Streptomyces en América. Derm. Iber-Lat. Amer. 3: 379-389.
43. López-Martínez, R., M. Casamitjana, A. M. García-Maynes

Aislamiento de actinomicetales a partir de suelos del estado de Morelos. I Congreso Nacional de Micología, octubre, 1982, Jalapa, Veracruz.

44. Mackinnon, J. E., E. Gezuela, I. A. Conti-Díaz and A. C. de Gimenez. 1973. Production of capsule and conidia by yeast-like cells of Phialophora spinifeta and Phialophora jeanselmei. Sabouraudia 11: 33-38.
45. Macotela, R. E. and R. López-Martínez. 1975. Epidemiology of Human Mycotic Diseases. Charles C. Thomas Pub. Il. 257-270.
46. Mahgoub, E. S., and I. G. Murray. 1973. Mycetoma. London, W. Heinemann Medical Books, Ltd.
47. Mariat, F. 1962. Criteres de determination des principales especes d'Actinomycetes aerobies pathogenes. Ann. Soc. Belge Med. Trop. 4: 651-672.
48. Mariat, F. 1963. Sur la distribution geographique et la repartition des agents des mycetomes. Bull. Soc. Path. Exot. 56: 35-45.
49. Mariat, F. 1965. Etude comparative de souches de Nocardia isolees de mycétomes. Ann. Inst. Pasteur 109: 90-104.
50. Mariat, F. P. Destombes and G. Segretain. 1977. The mycetomes: clinical features, pathology, etiology and epidemiology. Contrib. Microbiol. Immunol. 4: 1-39.
51. Mier, T., C. Toriello, M. Casamitjana, A. M. García-Maynes y López-Martínez, R. Estudio comparativo de la pro-

- ducción de diversas enzimas en dos cepas de Conidiobolus coronatus. Bol. Soc. Mic. 16: 5-10.
52. Ocaranza, F. 1914. El micetoma en Sonora. Bol. Ciencias Médicas. 4: 433-437.
53. Ortiz-Ortiz, L., G. Rico, R. Ochoa, A. Oliva, A. González-Mendoza y S. M. Wilker. 1982. Enhanced resistance to Nocardia brasiliensis infection in mice depleted of antigen-specific B cells. Immun 129(4): 1688-1692.
54. Rippon, J. W. and A. L. Lorincz. 1964. Collagenase activity of Streptomyces [Nocardia] madurae. J. Invest. Dermatol. 43: 483-486.
55. Rippon, J. W. and G. L. Peck 1967. Experimental infection with Streptomyces madurae as a function of collagenase. J. Invest. Dermatol. 49: 371-378.
56. Rippon, J. W. and P. D. Varadi. 1968. The elastase of pathogenic fungi and actinomycetes. J. Invest. Dermatol 50: 54-58.
57. Rippon, J. W. 1982. Medical Mycology. USA. WB. Saunders Company. 2a. Edic.
58. San-Blas, G., F. San-Blas. 1977. Cell wall analysis of an adenine-requiring mutant of the yeast-like form Paracoccidioides brasiliensis strain IVIC Pb 9 Sabouraudia 15: 297-303.
59. San-Blas, G., D. Vernet. 1977. Induction of the synthesis of cell wall α -1,3 glucan in the yeastlike form of Paracoccidioides brasiliensis IVIC Pb 9 by fetal

calf serum. Infect Immun. 15{3}: 897-902.

60. Schmidt, G. D., L. S. Roberts. 1977. Fundamentos de Parasitología. Edit. CECSA, México pp 63-70.
61. Segretain, G. and F. Mariat. 1969. Recherches sur la presence d'agents de mycetomes dans le soil et sur les epineux de Senegal et de la Mauritanie. Bull. Soc. Path Exot. 62: 194-202.
62. Vincent, W. H. 1894. Etude sur le parasite du pied de Madure. Annls. Inst. Pasteur 8: 129-151 [Citado por 46]