

36
rej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

**ASPECTOS INMUNOLOGICOS DE LA
COCCIDIOIDOMICOSIS
(MONOGRAFIA)**

T E S I S

Que para obtener el Título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO

P r e s e n t a:

ANTONIO OLALDE TERREZ

Director de Tesis:

Q. F. B. MARCO ANTONIO VEGA LOPEZ

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México

1988

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

I N D I C E

RESUMEN	Págs. 1
LISTA DE ABREVIATURAS.....	" 2
<u>I. INTRODUCCION</u>	" 3
A N T E C E D E N T E S	
II. HISTORIA.....	" 5
CARACTERISTICAS DE <u>COCCIDIOIDES IMMITIS</u>	" 11
CICLO BIOLOGICO.....	" 14
PATOGENIA	" 18
COCCIDIOIDOMICOSIS PULMONAR PRIMARIA.....	" 18
MENINGITIS COCCIDIOIDAL.....	" 25
COCCIDIOIDOMICOSIS DEL HUESO Y ARTICULACIONES.....	" 29
COCCIDIOIDOMICOSIS CUTANEA.....	" 31
OTROS SINDROMES COCCIDIOIDALES.....	" 35
D I A G N O S T I C O.....	" 36
PRUEBAS DERMICAS.....	" 36
PRUEBAS PARA ANTICUERPOS COCCIDIOIDALES.....	" 41
IDENTIFICACION EN EL LABORATORIO.....	" 51
T R A T A M I E N T O.....	" 57
ANFOTERICINA B	" 57
MICONAZOL.....	" 62
KETOCONAZOL.....	" 65
ECONAZOL Y R34000.....	" 68
AMBRUTICINA.....	" 69
INCIDENCIA Y PREVALENCIA.....	" 71
ECOLOGIA.....	" 71
AREAS ENDEMICAS.....	" 72
P R E V E N C I O N	" 81

III. INMUNIDAD.....	Págs.	84
ANTIGENICIDAD.....	"	85
DIAGNOSTICO INMUNOLOGICO.....	"	104
SECUENCIA INMUNE.....	"	105
RESPUESTA HUMORAL.....	"	111
INMUNOEVASION.....	"	116
CELULAS EFECTORAS.....	"	116
LINFOCITOS T	"	118
INMUNOTERAPIA.....	"	126
SUSCEPTIBILIDAD.....	"	129
RAZA.....	"	129
EDAD.....	"	130
INMUNOSUPRESION.....	"	132
FACTORES HORMONALES.....	"	134
IV CONCLUSIONES.....	"	136
V BIBLIOGRAFIA.....	"	143

RESUMEN

Se examinó la literatura concerniente a Coccidioides immitis desde el año de 1973 hasta el presente con la finalidad de valuar y definir el conocimiento actual sobre los aspectos inmunológicos de la enfermedad coccidioidal. El estudio indica que la coccidioidomicosis es una infección fungal propia del Continente Americano, en donde la mayor área endémica se encuentra localizada en el sur de los Estados Unidos de América y norte de México. Las características antigénicas de C. immitis son sumamente complejas y su espectro antigénico muy amplio. Para el diagnóstico, se han desarrollado nuevas técnicas que han venido a sustituir a las tradicionales pruebas de precipitinas en tubo y fijación de complemento. Mientras que en el área de tratamiento, los derivados del imidazol parecen ser los agentes terapéuticos efectivos contra el hongo.

Aunque el campo de la inmunidad humoral no ha sido muy estudiado, se han observado grandes adelantos en la inmunidad dependiente de células en un intento por explicar la anergia observada en los pacientes con enfermedad diseminada. Además, se analizan los resultados de la reconstitución inmunológica con factor de transferencia como alternativa a la quimioterapia fungal y los factores que incrementan la susceptibilidad a la diseminación coccidioidal. En el presente reporte se detalla la información obtenida en la investigación monográfica.

LISTA DE ABREVIATURAS

BALT	Tejido Linfocitario Asociado al Branquio.
CAA	Complejos Antígeno-Anticuerpo.
CF	Fijación de Complemento.
CM	Meningitis Coccidoidal.
CSF	Fluido Cerebroespinal.
C-ASWS	Extracto de la Pared Celular de <u>C. Immitis</u> soluble en agua y álcali.
C-ASWS-M	Extracto de la Pared Celular de <u>C. Immitis</u> soluble en agua y álcali de la fase micelial.
C-ASWS-S	Extracto de la Pared Celular de <u>C. Immitis</u> soluble en agua y álcali de la fase esferular.
ELISA	Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a una Enzima.
HOWL	Capa de la Pared Externa Hifal.
HS	Exoantígeno Termoestable.
ICW	Pared Artroconidial Interna.
ID	Inmunodifusión.
IDCF	Prueba de Inmunodifusión para el Anticuerpo Fijador de Complemento.
IL-2	Interleucina 2.
IPA	Antígeno Precipitante Incompleto.
IDTP	Prueba de Inmunodifusión para el Anticuerpo Precipitante en tubo.
LBCF	Método de Fijación de Complemento del Laboratory Branch.
LPA	Aglutinación de Partículas de Látex.
Mó	Macrófagos.
MIF	Factor Inhibitorio de la Migración de Macrófagos.
MNL's	Leucocitos Mononucleares.
OCW I	Pared Artroconidial Externa I.
OCW II	Pared Artroconidial Externa II.
PB	Polimixina B.
PCPC	Neumonía Coccidoidal Progresiva Crónica
PMNL's	Leucocitos Polimorfonucleares.
PMN's	Polimorfonucleares.
QID	Inmunodifusión Cuantitativa.
RIA-fase sólida	Radioinmunoensayo de fase sólida.
SDA	Agar Sabouraud-Dextrosa.
SNC	Sistema Nervioso Central.
TF	Factor de Transferencia.
TP	Precipitante en Tubo.

I.

INTRODUCCION

La coccidioidomicosis, también conocida como coccidiomicosis, granuloma coccidial, Fiebre del Valle de San Joaquín, Fiebre del Valle, Reumatismo del Desierto o enfermedad de Posada-Wernicke es causada por el hongo dimórfico Coccidioides immitis. La existencia de esta enfermedad ha sido reconocida por lo menos desde hace un siglo. Durante este tiempo se ha convertido en una de las micosis sistémicas más conocidas y mejor documentadas (63).

El hombre es una de las víctimas accidentales que adquiere al hongo por la vía respiratoria. En él, se produce una infección asintomática acompañada de la conversión a positiva de la prueba diagnóstica en piel lo que es mucho más frecuente que la producción de enfermedad clínica (63). La enfermedad sintomática usualmente se presenta como una neumonía subaguda, de la cual solo una minoría de pacientes desarrollan dificultades pulmonares persistentes o lesiones coccidioidales destructivas en alguna parte del cuerpo. El espectro horizontal de la infección coccidioidal está principalmente influenciado por factores del hospedero (predisposición racial, sexual y de edad) siendo los pacientes inmunocomprometidos particularmente más susceptibles a la enfermedad diseminada (63,156).

La coccidioidomicosis ha quedado restringida principalmente al Continente Americano, encontrándose la mayor área endémica en el sur de los Estados Unidos y norte de México, específicamente entre las latitudes 40°N y 40°S. Otros focos, de menor importancia, están localizados en países como Guatemala, Honduras, El Salvador (con tres casos), Ecuador (algunos casos), Venezuela (que tiene la mayor incidencia y prevalencia de coccidioidomicosis en América del Sur), Paraguay y Argentina. En estos países no constituye un problema significativo (63, 65, 83).

Las estadísticas en los Estados Unidos revelan que se presentan aproximadamente 100,000 casos de coccidioidomicosis por año con 70 muertes anuales. Lo anterior, define a la enfermedad como un problema de morbilidad y no de mortalidad (63). La morbilidad causa grandes inversiones en el sector salud al suministrar atención médica a los casos sintomáticos que necesitan, en promedio, de 33 a 35 días para restablecerse. En consecuencia, uno de los problemas de salud pública más importante en la frontera México-Estadounidense es el que se refiere a la coccidioidomicosis (83,113,166).

La investigación de la coccidioidomicosis ha continuado con pasos firmes hasta nuestros días, sin embargo algunas áreas han mostrado un progreso particularmente acelerado. Es pues, el propósito de este trabajo monográfico el evaluar y definir el conocimiento actual en esas áreas que:

- 1) El desarrollo de nuevas técnicas serológicas de diagnóstico que han servido para suplementar y, en algunos casos, reemplazar las tradicionales pruebas de precipitinas en tubo y fijación de complemento;
- 2) El desarrollo de un nuevo reactivo para la prueba de la piel, la esferulina, que aparentemente es más eficiente que la coccidioidina en identificar a las personas con exposición previa a Coccidioides immitis;
- 3) Las perspectivas del conocimiento en las anomalías inmunológicas que parecen ocurrir en la coccidioidomicosis diseminada;
- 4) La síntesis de derivados del imidazol, principalmente miconazol y el uso de ketoconazol, como promesas terapéuticas en la coccidioidomicosis; y
- 5) Explorar el uso de la reconstitución inmunológica con Factor de Transferencia en la infección coccidioidal diseminada.

II. ANTECEDENTES

- HISTORIA.

La historia de la coccidioidomicosis comienza en 1888, cuando Domingo Ecurra entonces de 32 años de edad y soldado de caballería sale del Chaco, frontera del norte de Argentina. Pasó al menos un año, cuando observó lo que él pensó fuese un piquete de araña en su mejilla derecha. Después del tratamiento con tabaco la lesión progresó quedando algo verrucosa. Antes que se presentase en el hospital militar, aparecieron múltiples lesiones en piel adicionales a la adenopatía inguinal. En el hospital se le diagnosticó como Lupus Vulgaris, por lo que se trató con ácido nítrico. Sin embargo, la enfermedad continuó progresando y, por ello, se trasladó al paciente al Hospital Rawson, en Buenos Aires, bajo el cuidado del Dr. M. Bangolea que hizo el diagnóstico de micosis fungoide (146).

Después de la administración, sin respuesta, de protiodide de mercurio y yoduro de potasio por 20 días, así como linimentos mercuriales, se refirió al paciente a Alejandro Posadas, interno del Hospital Clínico de la Universidad, para un mayor estudio (146).

Posadas obtuvo biopsias del tejido verrucoso las que examinó en el laboratorio asignado a los Drs. Robert Wernicke y Guillermo Udaondo.

Tras examinar las lesiones notó células gigantes multinucleadas y "psorospermias". El esporangio era esférico y de tamaño variable con una membrana externa doblemente refringente además de contenidos granulares y ser aparentemente inmóvil. La constancia con que Posadas observó estos organismos lo condujo a pensar: "Hemos encontrado un nuevo PSOROSPERMIA, muy probablemente

causante de tumores micóticos". Con estos antecedentes Alejandro Posadas publica en 1892 sus observaciones (146).

Cuatro años después los Drs. Emmett Rixford y T.C. Gilchrist, en California, dan a conocer los casos de dos inmigrantes portugueses, Joas Furtado-Silverira y José Teixara Pereira, que de Azores se trasladaron al Valle de San Joaquín en California. Ambos poseían lesiones progresivas papulonecroticas en piel y eventualmente murieron por ellas. Los microorganismos que se encontraron en las lesiones de un paciente se consideraron protozoarios y transmitieron la enfermedad a perros, conejos y monos. El Dr. Charles W. Stiles, eminente parasitólogo que fue consultado, consideró que el parásito era muy similar a los del género Coccidia y sugirió el nombre genérico de Coccidioides y adicionó el nombre de immitis (que significa severo) por la severidad de la presentación clínica (20,80).

William Ophüls encontró el mismo organismo en varios pacientes a quienes estudió y reprodujo la enfermedad en animales por inyección de pus que contenía las esférulas. Los cultivos del material condujeron a la "contaminación" con un hongo miceliar blanco. La pus, en la que sólo las esférulas y endosporas pueden ser vistas, generaron el mismo micelio cuando se incubaron a 36°C por 24 horas. La inyección de una suspensión de micelio en ratón reprodujo de nuevo la enfermedad. No fue así C. immitis un parásito sino un moho difásico. Por lo anterior, Ophüls identificó al organismo como un hongo, delineó su ciclo de vida y determinó al pulmón como la principal puerta de entrada. En 1905 describe el primer caso de meningitis coccidioidal (20,166).

En 1915, el Dr. Ernest Dickson clarificó las extraordinarias similitudes entre coccidioidomicosis y tuberculosis, su alta incidencia entre trabajadores del campo y su inclinación por afectar piel, articulaciones, testículos y, menos frecuentemente, meninges. La enfermedad fue subsecuentemente diferenciada de la Blastomicosis Norteamericana (20, 146).

En 1929 casi 100 casos habían sido reportados y la enfermedad es entonces considerada invariablemente severa y usualmente fatal. En ese mismo año Beck encuentra el organismo en los pulmones de borregos y vacas previamente saludables. Tres años después, el hongo se aisló del suelo en las proximidades de una cabaña donde cuatro filipinos contrajeron la enfermedad. Estos datos sugirieron a Dickson que la enfermedad puede ser contraída por hombres y animales del suelo y no siempre es fatal. Una extraordinaria coincidencia confirmó esto. Harold C. Chope, un estudiante de medicina que hacia investigación con Dickson, abrió un caja de agar conteniendo el hongo e inadvertidamente aerolizó las artroconidias, las que entonces inhaló. Pocos días después desarrolló fiebre, dolor de pecho, una tos productiva y bronconeumonía bilateral en las radiografías, más tarde presentó eritema nodoso. Chope fue calificado como mártir de la ciencia, más sin embargo, logró recuperarse y continuar con sus investigaciones (20,80,146).

Myrnie Gifford se familiarizó con una enfermedad extendida y caracterizada por síntomas respiratorios, eritema nodoso e infiltrados pulmonares transitorios en las radiografías. Esta entidad, popularmente conocida como Fiebre del Valle, es usualmente benigna en su curso clínico. Gifford fue capaz de identificar a C. immitis como el agente etiológico y junto con Dickson enfatizó la asociación de la fiebre del Valle con el eritema nodoso. En una serie de 354 casos de Fiebre del Valle en euq C. immitis fue aislado sólo un paciente

se recobró completamente (20,113,146).

Además Gifford y colegas observaron la variación temporal en incidencia y la elevada virulencia en razas de piel oscura y realizaron estudios epidemiológicos usando la coccidioidina de Kessel (113,146).

Charles Smith delineó la epidemiología y alta frecuencia de la Fiebre del Valle en las ciudades de Kern y Tulare, del Valle de San Joaquín, California y demostró que muchos individuos tienen contacto con el organismo durante los primeros años de residencia, además estableció que la prueba en piel, hecha con la fase micelial, es segura en los exámenes en los que sólo el 5% de todos los pacientes desarrollan eritema nodoso y que la enfermedad no es transmitida de persona a persona (20).

Durante la Segunda Guerra Mundial, Smith amplía considerablemente sus estudios epidemiológicos. Un millar de hombres sin anterior contacto con C. immitis son llevados a California y Arizona. Smith basó su estudio en pruebas intradérmicas seriadas, en el examen de precipitinas séricas y detección de anticuerpos fijadores de complemento (CF). Claramente demostró que el 60% de los pacientes no tiene ningún síntoma posterior al contacto con ese organismo y simplemente convierten su prueba en piel a positiva. La incidencia de la enfermedad diseminada en convertidos fue mucho menor del 1%, pero los no caucásicos tienen mucho mayor riesgo a padecer la enfermedad diseminada (4%). La enfermedad es adquirida por inhalación, la incidencia varía por temporadas y es alta en el sur del Valle de San Joaquín. Smith claramente establece el valor pronóstico de las determinaciones de anticuerpos fijadores de complemento en el diagnóstico de la enfermedad diseminada y las precipitinas séricas en el diagnóstico temprano (20).

Finalmente, William A. Winn en 1957 fue el pionero en el uso de la anfoterina B (ANB) en la terapia y así ofrece la primer alternativa viable al tratamiento quirúrgico de la enfermedad (113,156).

En México, el primer caso de gránulo coccidioidal ocurrido en Hermosillo, Sonora, lo identificó Madrid en 1948. A partir de este momento se observaron cada vez mas enfermos siendo Hermosillo, Sonora., Monterrey, N.L., y Torreón, Coahuila los sitios donde se registraron las mayores incidencias por este padecimiento. Lo anterior se debe a que el conocimiento de la coccidioidomycosis en estos sitios se ha generalizado en el ambiente médico (80,81,82). En 1954, A. Cardona y T. Velázquez reportan el primer caso de infección del sistema nervioso central por C. immitis (31). En la actualidad, en México no se han realizado estudios epidemiológicos que definan la importancia médico-clínica de la enfermedad coccidioidal.

TABLA 1. RESUMEN CRONOLOGICO DE LA COCCIDIOIDOMICOSIS.

1892	Posadas publicó el primer caso de granuloma coccidioidal.
1896	Rixfor y Gilchrist publicaron los primeros reportes en California. Stiles propuso el nombre de <u>Coccidioides immitis</u> .
1900	Ophüls define al parásito como un moho difásico.
1905	Ophüls describe el primer caso de meningitis Coccidioidal.
1915	Dickson diferencia a la coccidioidomicosis de la tuberculosis.
1929	Beck encuentra al organismo en pulmones de borregos y vacas.
1937	Se reporta el primer caso en Arizona.
1938	Gifford identificó a <u>C. immitis</u> como el agente etiológico de la Fiebre del Valle con eritema nodoso.
1940	Smith definió la epidemiología y frecuencia de la Fiebre del Valle utilizando pruebas intradérmicas hechas con un extracto de la fase micelial.
1946	Smith utilizó las intradermorreacciones y las pruebas de precipitinas séricas en tubo y fijación de complemento como ensayos diagnósticos.
1948	Madrid reportó el primer caso de granuloma coccidioidal en México.
1954	Cardona y Velázquez reportaron, en México, una infección del Sistema Nervioso Central.
1957	Winn introduce el uso de la anfotericina B.
1966	González Ochoa describió las zonas endémicas en México.
1977	La coccidioidina es producida en forma comercial.
1978	Huppert establece el sistema de referencia coccidioidina-anticoccidioidina.
1980	Se produce la esferulina en forma comercial como reactivo intradérmico.

CARACTERISTICAS DE COCCIDIOIDES IMMITIS.

En general, muchas especies de hongos exhiben aparentes diferencias en la morfología colonial y microscópica, esto, debido a la composición de nutrientes disponibles en el medio y C. immitis no es la excepción.

Las siguientes descripciones se aplican al crecimiento de Agar Sabouraud Dextosa (SDA) por dos razones: a) puede ser la forma más comúnmente vista en el laboratorio clínico y b) el SDA generalmente produce el mejor crecimiento y la más intensa pigmentación. Se recomienda que cuando se quiera usar la Polimixina B (PB) para incrementar la selectividad de SDA, una precaución debe tomarse. La polimixina B (20 mg por litro) al ser adicionada al SDA solidificado en agar no refinado, pierde toda actividad anticoccidoidal. En contraste, cuando se solidifica en agar refinado ningún crecimiento de C. immitis se presenta (38).

En un cultivo puro, el crecimiento es generalmente rápido; las colonias planas y grises aparecen como ramilletes en 3-4 días. El desarrollo de la hifa aérea se presenta en los días siguientes. Frecuentemente, la hifa aérea se presenta en los días siguientes. Frecuentemente, la hifa aérea varía con el tiempo de incubación de una manera que resulta en anillos concéntricos que contienen poco o nada de hifas. Después de dos semanas, las colonias típicas tienen de 3-5 cm. de diámetro y están variablemente cubiertas con hifas aéreas blancas grises de diferentes texturas. La pigmentación aparece a las dos semanas pero sólo en la superficie inferior de la colonia. Sin embargo, ocasionalmente las hifas típicas elaboran un pigmento difusible variando de café profundo a negro. Después de 3-4 semanas, es común para la hifa

aérea colapsarse en la superficie de crecimiento, así que las nuevas colonias parecen estar cubiertas de un color gris a café oscuro variando en textura desde aterciopelada hasta polvorosa o granular. La temperatura óptima de crecimiento es de 30°C aunque el hongo también crece a 37°C (65, 113, 146, 156, 166).

De todos los medios de aislamiento primario usados en el laboratorio clínico, de los más probables en que C. immitis se puede encontrar son los medios líquidos o gel conteniendo sangre, medio de huevo condensado y varios tipos de agar nutritivo conteniendo básicamente uno o más carbohidratos y peptona o peptona digerida. Los aislamientos típicos de C. immitis crecen en los agares nutritivos a pH neutro o ligeramente alcalino de manera muy similar a los obtenidos en agar peptona-dextrosa a pH 5.5. En el medio de huevo condensado, C. immitis puede crecer pero sólo pobremente. En agar sangre, a 37°C, C. immitis crece rápidamente y la fase de membrana gris puede aparecer en 1-2 días. El desarrollo de la hifa aérea es usualmente menos abundante que a temperaturas de 30°C o menos. En medio líquido, se requieren condiciones aeróbicas. El hongo crece en la superficie y forma una colonia grisácea mate en la interfase líquido-aire. En el medio líquido, aerado por movimientos continuos, C. immitis crece en la parte profunda (113,146,156).

Algunos investigadores han comentado que C. immitis exhibe características morfológicas y de cultivo marcadamente diferentes a las encontradas en el laboratorio. Los cultivos atípicos se presentan en los aislamientos primarios y, por ello, la posibilidad de emitir resultados falsos negativos deberá considerarse cuando los cultivos no sean reconocidos como posibles aislamientos de C. immitis (91).

Las colonias atípicas varían en velocidad de crecimiento, producción y textura de la hifa aérea y topografía del crecimiento superficial.

Algunas colonias nunca pueden exceder de algunos pocos centímetros, aún después de varias semanas. La hifa aérea puede estar ausente, escasa o densa y la textura puede ser polvorosa, granular o aterciopelada. Aunque la hifa aérea puede ser blanca o grisácea, y varios tonos de rosa, lavanda, color de ante, amarillo y café pueden presentarse. Si bien, un aislamiento puede tener diferentes apariencias en varios tipos de medio de cultivo durante las dos primeras semanas de incubación, hay una tendencia con la edad, en cada cepa, a desarrollar características uniformes con respecto al medio de cultivo (91, 146).

En años recientes, se han emprendido investigaciones con la finalidad de estudiar las actividades enzimáticas que posee el hongo. Esas investigaciones señalan que C. immitis posee actividad colagenolítica (112) y las enzimas isocitrato liasa y malato sintasa (4). Al parecer, C. immitis es el único entre los hongos patógenos en su capacidad de usar la colágena. En la actualidad no se conoce si la actividad colagenolítica es debida a una colagenasa fungal específica, el resultado de una proteasa con amplia especificidad o debida a la elastasa coccidioidal (116).

Las enzimas del ciclo glioxilato, isocitrato liasa y malato sintasa, son importantes en la germinación y crecimiento de C. immitis. Lo anterior se apoya en que el acetato es utilizado preferentemente como fuente de carbono en lugar de la glucosa y ácidos orgánicos (malato, succinato, fumarato, malonato, etc) (4).

CICLO BIOLÓGICO DE COCCIDIOIDES IMMITIS.

El hongo, dependiendo de su desarrollo, exhibe un crecimiento dimórfico posee un ciclo morfológico en la naturaleza y otro de los tejidos del hospedero infectado.

CICLO SAPROFITO

En el suelo desértico y en los medios de cultivo, C. immitis se desarrolla como un micelio. El ciclo de desarrollo en esta fase de crecimiento se muestra en la fig. 1 (pasos A-E). En el punto A se muestra la partícula infecciosa de C. immitis: la artroconidia con forma de barril. Cuando el viento u otro vehículo llevan la artroconidia a sitios receptores del suelo, el hongo germina para formar un entramado, un micelio septado, con la asociación de un poro septal (pasos B-D). El crecimiento es apical y las divisiones nucleares parecen estar sincronizadas. El septo con un poro se formará detrás del vigoroso crecimiento de las partes hifales, delineando células multinucleadas. Como el septo contiene un poro, el hongo es funcionalmente cenocítico aunque morfológicamente septado. La hifa aérea, destinada a la formación de esporas, es usualmente más amplia que la hifa no fértil. Simultáneamente, el septo formado en las hifas fértiles separa las células multinucleadas de tamaño semejante. Algunas de ellas, alternadas en una hifa, pierden el citoplasma poco a poco aunque el núcleo aún se observa. Las células restantes, próximas al poro septal, compondrán la nueva generación de esporas, que son liberadas por rompimiento de las paredes de las células adyacentes degenerantes y distribuyendo así al hongo más ampliamente (paso E) (63, 65, 146, 150).

CICLO PARASITARIO.

Cuando la artroconidia es inhalada, un ciclo morfológicamente distinto se desarrolla; el ciclo es único entre las micosis. En el ciclo parasitario las artroconidias multinucleadas con pared gruesa se desarrollan células redondas que por un corto período parecen tener sólo un gran núcleo (paso F). El progresivo crecimiento de las células redondeadas ocurre durante 24-72 horas acompañado por sucesivas y sincronizadas divisiones nucleares así como de un engrosamiento de la pared celular (pasos G-P). A los tres días, se observan hendiduras del citoplasma.

Estas se originan como invaginaciones de la membrana citoplasmática acompañada por la formación de una nueva pared y septando al citoplasma en secciones multinucleares relativamente grandes. Este proceso se continúa por hendiduras planas secundarias, originadas de las primeras, hasta que finalmente las endosporas uninucleadas hinchan la esférula inmadura (pasos Q-S). La esférula, respondiendo a un mecanismo desconocido, sufre rompimiento de las paredes para dejar libres a las endosporas (regreso al punto H) que distribuyen al hongo local y hematológicamente para producir nuevos focos infecciosos. Las esférulas miden de 10-100 μm y pueden liberar cantidades variables de endosporas (diámetro promedio de 1-5 μm). La duración del ciclo celular parasitario es de 4-6 días y depende de la cepa (20, 63, 146, 149, 150).

El ciclo parasitario puede ser producido in vitro por el uso del medio líquido Converse modificado que es simple y completamente definido (63,65, 146).

La fase esférula también puede ser producida en un medio líquido sintético modificado a 26°C (1). Con este medio el crecimiento de C. immitis se asocia con una fuerte fermentación alcohólica por lo que se observa una continua formación de burbujas de gas con apariencia espumosa en la superficie del medio. Asimismo, se sugiere que el CO₂ de los fluidos tisulares juegan un papel crítico en estimular la conversión de artroconidia a esférula (104). Los estudios del ciclo parasitario in vivo establecen una gran similitud con los estudios de morfogénesis in vitro (151).

Mientras que la fase micelio-artroconidia es extremadamente infecciosa, la fase esférula-endospora no lo es. Así, la coccidioidomicosis no es transmisible de persona a persona (63, 65, 113, 146, 156, 166).

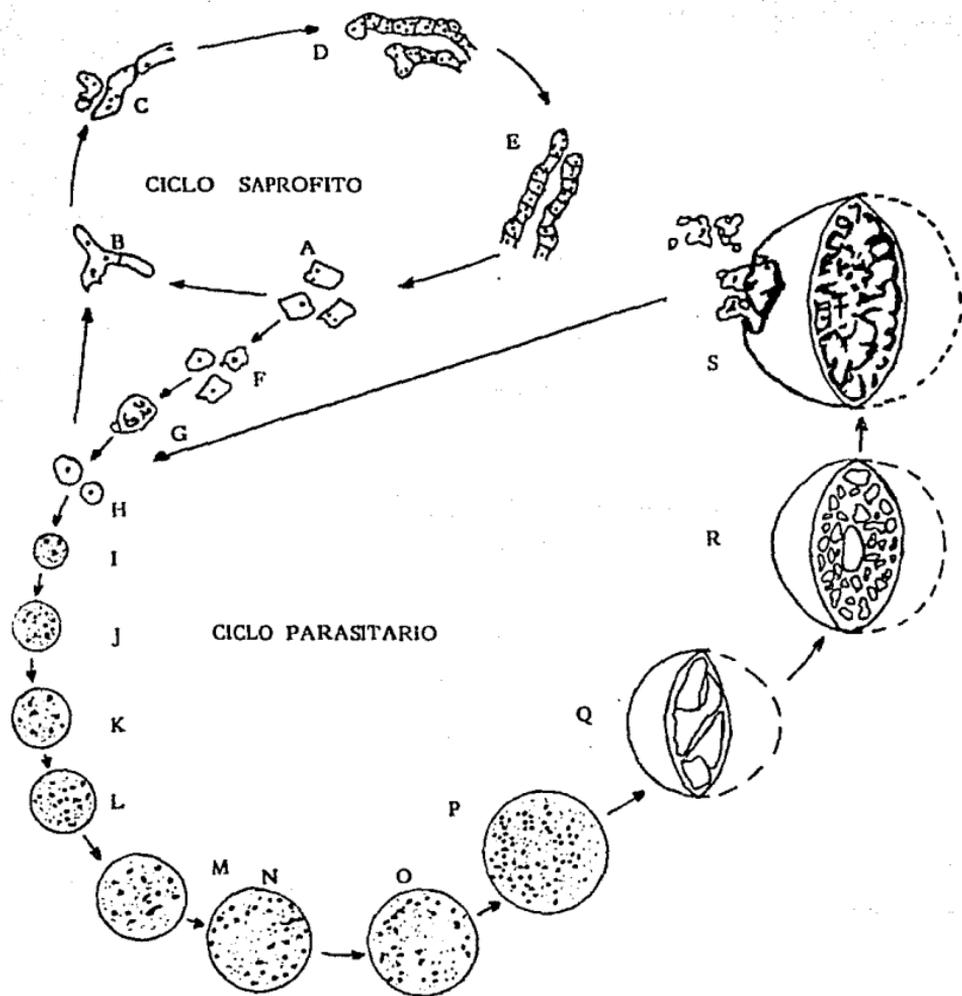


FIG.1. Ciclo morfológico de *Coccidioides immitis*. A corresponde a la artroconidia; B-E corresponde a la fase micelial; H señala a la endoespora y S representa a la esférula-endosporulante (149).

PATOGENIA.

El pulmón es el órgano más frecuentemente afectado en la coccidioidomicosis y es también la puerta de entrada para las infecciones coccidioidales extra-pulmonares. El espectro completo de la coccidioidomicosis pulmonar es diverso y varias clasificaciones han sido propuestas (8,83). La clasificación más utilizada proviene de Win y colaboradores (8) la que combina conceptos radiológicos y clínicos.

COCCIDIOIDOMICOSIS PULMONAR PRIMARIA.

Aproximadamente el 40% de las infecciones coccidioidales son sintomáticas con una enfermedad que varía de influenza ligera a una franca neumonía. Ordinariamente los síntomas son vagos, lo que impide un diagnóstico específico. Así, el historial epidemiológico es de valor primordial (9,63, 146, 156, 166).

Los síntomas más comunes de la coccidioidomicosis primaria son: tos, fiebre y dolor de pecho. La tos es productiva de esputo y el dolor de pecho es frecuentemente pleurítico. La fiebre se acompaña por sensaciones de escalofríos que llegan a ser francos. Otros síntomas incluyen jaquecas, malestar general, dolor de garganta, mialgias y anorexia. Debe mencionarse que la jaqueca es síntoma inespecífico y no necesariamente indicativo que el paciente está experimentando la diseminación a las meninges (9,63,146, 156,166).

Dos aspectos de la coccidioidomicosis que son útiles para el diagnóstico, son:

a) Eritema Tóxico. En la coccidioidomicosis pulmonar primaria se ha -

observado un salpullido inespecífico que acompaña a la adquisición de la enfermedad. Esto no debe confundirse con un eritema nodoso o multiforme. El eritema tóxico generalmente se presenta en los primeros días de la enfermedad, antes de que se desarrolle la sensibilidad a la coccidioidina y tiende a desaparecer antes de que el paciente acuda al médico. El salpullido generalmente es fino, difuso, eritematoso y macular; puede cubrir las extremidades y el tronco y asociarse con un enanema oral. El salpullido se presenta en aproximadamente el 10% de los pacientes, sin embargo, es más común en los niños donde puede ser confundido con sarampión, fiebre escarlata, salpullido febril y urticaria. La etiología del eritema tóxico es desconocida (63,146).

- b) Fiebre del Valle. (eritema nodoso, eritema multiforme, artralgias y artritis). Los eritemas nodoso y multiforme constituyen las mayores manifestaciones de la compleja "Fiebre del Valle", que también induce artralgias (Reumatismo del Desierto) y una ligera conjuntivitis inespecífica algunas veces acompañada por eplicletitis o queratitis (9,63,113, 146, 156, 166). En contraste al eritema tóxico, los eritemas nodoso y multiforme han sido los eritemas específicos de la coccidioidomycosis primaria. El eritema nodoso tiende a presentarse al mismo tiempo que la reacción de la coccidioidina se convierte a positiva, por lo que se considera un reflejo del desarrollo de la "hipersensibilidad" al hongo.

Lo anterior se apoya en la violencia característica de la reacción dérmica a la coccidioidina en el sitio de inoculación. Aunque se supone que el eritema multiforme tiene una relación semejante con la sensibilidad a la coccidioidina, esto aún no se define (9,63,113,146,156,166).

El eritema nodoso tiene algunas asociaciones características (9, 156):

- i) El eritema es más común en la mujer con coccidioidomycosis.
- ii) El eritema nodoso es mucho más común en blancos que en personas de otras razas.
- iii) El eritema nodoso es predictivo de un buen pronóstico con respecto a la diseminación de la coccidioidomycosis.

Aproximadamente un tercio de pacientes con eritema nodoso o eritema multiforme también manifiestan síntomas articulares. En raras ocasiones los síntomas en las articulaciones se presentan en ausencia de un salpullido dérmico. La presencia simultánea del salpullido dérmico y manifestaciones en articulaciones puede aumentar la probabilidad de fiebre reumática aguda (63, 146).

La eosinofilia se manifiesta comúnmente en la coccidioidomycosis primaria y en muchas ocasiones la proporción de eosinófilos varía del 3-10%. Los picos de eosinofilia tienden a presentarse a las 2 y/o 3 semanas de enfermedad (146).

Cuando las vías aéreas se visualizan con un endoscopio, la inflamación granulomatosa es comúnmente vista (146). Los cambios radiológicos son frecuentes y se presentan en el 80% de las infecciones severas que requieren hospitalización, además pueden ser totalmente variados. Los infiltrados, la anomalía más común de los rayos X, pueden ser múltiples o simples y, por lo regular, tienen una distribución segmental o lobular (9, 63, 146). La presencia de una adenopatía mediastinal o paratraqueal aumenta la posibilidad de diseminación porque tales nódulos representan la segunda línea de defensa que deberá de ser vencida si la diseminación ocurre (146).

El involucramiento de la pleura es común en la inflamación primaria, sin embargo, las características del fluido pleural no son diagnósticas por lo que se recurre a la prueba de fijación del complemento, cultivo de esputo y a la prueba de fijación del complemento, cultivo de esputo y a la prueba dérmica a la coccidioidina (9,63,146).

La frecuente presencia del eritema nodoso y eritema multiforme así como la reactividad a la prueba dérmica a la coccidioidina y un título relativamente alto de anticuerpos fijadores de complemento hace pensar que la respuesta inmune en los pacientes con derrame pleural debida al hongo es totalmente vigorosa. En general los pacientes con coccidiomicosis pulmonar primaria no requieren quimioterapia antifungal y solo debe ser utilizada para prevenir la diseminación extrapulmonar en los pacientes con predisposición a la diseminación (9,63,113,146,156,166).

COCCIDIOIDOMICOSIS PULMONAR PERSISTENTE.

La infección pulmonar persistente es la forma más común de enfermedad coccidioidal con la que los médicos deben tratar. Los síntomas de la infección se evidencian dentro de las 2-3 semanas de la infección inicial. Las manifestaciones de la enfermedad persistente incluyen neumonía, neumonía progresiva crónica, enfermedad miliar, nódulos primarios y cavitación pulmonar. La cicatrización de estos procesos puede resultar en fibrosis, bronquiectasis y calcificación (9,63,113,1146,156,166).

-- NEUMONIA COCCIDIOIDAL PERSISTENTE.

Estos pacientes están frecuentemente muy enfermos y los síntomas típicos incluyen fiebre persistente, postración, dolor de pecho, tos producida en ocasiones de hemoptisis. Si no son tratados estos síntomas pueden persistir por meses (9,63,146).

De los factores que influyen en la neumonía coccidoidal fatal, hay dos principales observaciones: (a) el 84% de los casos fatales se presentan en pacientes inmunocomprometidos y (b) muere el 50% de los casos sin evidencia de diseminación (9,63,113,146,156,166).

-- NEUMONIA COCCIDIOIDAL PROGRESIVA CRONICA.

La neumonía coccidoidal progresiva crónica (PCPC) se presenta en una pequeña porción de los pacientes con enfermedad pulmonar coccidoidal.

Dos rasgos son característicos de este grupo: (a) síntomas prolongados que incluyen pérdida de peso, fiebre, hemoptisis, dolor de pecho y disnea; y (b) las lesiones fibronodulares biapicales y múltiples cavitaciones con retracción, en apariencia son muy semejantes a la tuberculosis crónica o histoplasmosis crónica (9,63,146).

-- COCCIDIOIDOMICOSIS MILIAR.

Aproximadamente el 4% de los pacientes hospitalizados con coccidiodomicosis tiene lesiones de neumonía miliar. La diseminación miliar se presenta en una fase temprana de la enfermedad aunque también puede ser una complica-

ción de la enfermedad pulmonar progresiva crónica o extrapulmonar (10,63,113, 146,166).

La coccidiodomicosis miliar también puede presentarse como una rápida enfermedad pulmonar progresiva con falla respiratoria especialmente en pacientes inmunocomprometidos (105). La fungemia puede presentarse en la enfermedad miliar fulminante (5,79).

--NODULOS COCCIDIOIDALES.

Muchos casos de neumonía coccidoidal sufren una evolución característica del típico infiltrado blando a un nódulo esférico, denso (coccidiodoma) sin infiltración circundante. Los síntomas clínicos son los comunes para las otras manifestaciones de la enfermedad. Los nódulos tienden a presentarse en la mitad del campo pulmonar dentro de los 5 cm del hilio. Muchos son simples y el tamaño varía de 1-4 cm. Sin embargo, los nódulos simples también pueden ser vistos y no son sólo residuos estáticos de eventos pasados porque cuando se remueven casi todos ellos tienen un centro semifluido o gelatinoso en el que C. immitis es regularmente identificado (10,63,146,166). A pesar de la frecuente actividad dentro de los nódulos coccidiales, la calcificación puede presentarse y esta varía de 0.3-1.0 cm de tamaño (146).

-- CAVIDADES COCCIDIOIDALES.

Los procesos neumónicos en la infección coccidoidal primaria pueden producir necrosis con cavitación pulmonar. Los factores del hospedero que responden a este tipo de reacción aun no están bien caracterizados. La presentación subclínica en este grupo se altera significativamente porque la hemoptisis se presenta en el 70% de casos durante la formación de la cavitación pulmonar (10,63,146,156,166).

La cavitación se puede presentar en los primeros 10 días de la infección pero, por lo común, ocurre después y una vez que se ha formado, puede persistir por algún tiempo. Cuando los pacientes son sintomáticos la complicación más frecuente es la hemoptisis en el 25-50% de casos (10, 63, 146, 156, 166).

Desde el punto de vista radiográfico el 90% de las cavidades coccidioidales son simples y el 70% están en el campo superior pulmonar. Las cavidades son menores, en diámetro, a los 2 cm en el 25%, 2-4 cm en el 58%, de 4-6 cm en el 10% y mayores de 6 cm (hasta 14 cm) en el 7% de los casos (63, 146).

Hay tres potenciales complicaciones de las cavidades coccidioidales (10, 63, 146, 156):

a) INFECCION.- Los mecanismos dañados para la remoción de partículas y microorganismos establecen la etapa para una infección secundaria. Las cavidades pueden llenarse con microorganismos piógenos y rellenarse con el bioproducto de tal infección.

b) PNEUMOTORAX.- Los casos de pneumotórax se presentan generalmente como fistulas broncopulmonares. Los cultivos de esputo y fluido pleural son positivos para C. immitis. El tratamiento quirúrgico se recomienda en estos casos.

c) HEMORRAGIA PULMONAR.- La hemoptisis puede presentarse en el 25-50% de pacientes con cavidades coccidioidales durante el período de observación. Aunque generalmente consiste de rastros de sangre en el esputo, ocasionalmente se han descrito varios casos en los que la hemorragia es abundante.

MENINGITIS COCCIDIOIDAL

La meningitis coccidioidal (CM) es una enfermedad granulomatosa crónica y letal de las leptomeninges. La meningitis coccidioidal es fatal; sin embargo, un tratamiento agresivo con anfotericina B reduce la mortalidad y prolonga la supervivencia (20, 63, 113, 133, 146, 156,166). En México, el primer caso de infección del sistema nervioso central por C. immitis fue reportado por A. Cardona y colaboradores en 1954(31).

Las leptomeninges se infectan por la diseminación hematogena de los organismos originarios de un foco pulmonar primario. La frecuencia de una anterior manifestación pulmonar en los casos clínicos de meningitis coccidioidal es del 33-67% mientras en las autopsias es del 67-95%.

La enfermedad pulmonar puede ser concomitante con las meninges o precederla por varias semanas o meses (20, 63, 146, 166). Raramente, la coccidioidomycosis del sistema nervioso central resulta de una directa extensión de un foco parameningeal o yuxtadural, tal como cráneo o osteomielitis vertebral (20).

La lesión patológica básica de la meningitis coccidioidal fatal es un proceso inflamatorio exudativo con áreas de supuración y formación de granuloma. El microscopio revela granulomas similares a la meningitis tuberculosa con infiltración mononuclear y células gigantes. Las áreas supurativas son ricas en leucocitos polimorfonucleares y exudados fibrinosos. El resultado final de este proceso es una membrana plástica, gruesa y opaca que contiene células plasmáticas y tejido fibrinoso que puede destruir el espacio subaracnoideo en algunas áreas. El engrosamiento de las meninges frecuentemente causa obstrucción del flujo del fluido cerebrospinal (CSF) que resulta en una dilatación ventricular de moderada a severa. La hidrocefalia resultante es una importante causa de muerte (20, 63, 113, 146).

En la actualidad no hay seguridad en las estimaciones de la meningitis coccidioidal o la proporción de meningitis entre los casos de coccidioidomicosis. No obstante y con base en los resultados de Smith (146) se ha calculado que la frecuencia de meningitis coccidioidal es de 1 caso por 625 infecciones pulmonares primarias entre los blancos y de casi 2 casos por 100 entre negros.

La meningitis coccidioidal afecta a gente de muy diversas edades, especialmente a las que se están inmunocomprometidas, es un rango de 35-41 años. Así mismo, se ha establecido que la proporción hombre/mujer en la enfermedad varía de 4:1 a 7:1 (20, 133).

La meningitis coccidioidal es usualmente una enfermedad de comienzo insidioso y curso progresivo. Hay dos síntomas confiables pero inespecíficos: dolor de cabeza y cambios de conducta. En el curso tardío de la enfermedad los cambios observados son: elevada somnolencia, desorientación y estupor (20, 63, 146).

En años recientes, el uso de drogas inmunosupresoras y la prolongada supervivencia de algunos pacientes con enfermedad de Hodgkin avanzada y otras formas de linfoma han producido un grupo de pacientes susceptibles a infecciones oportunistas. Las enfermedades fungales han surgido como una causa singificantes de mortalidad y morbilidad en esos pacientes. Aunque C. immitis no se considera un hongo oportunista varios centros de referencia, localizados dentro o adyacentes a las zonas endémicas, han reportado casos de coccidioidomicosis en pacientes con defectos en la inmunidad celular, SIDA, y que poseen los problemas clínicos asociados a las infecciones oportunistas causadas por otros hongos (2, 20, 63, 130, 133, 146).

El cuidadoso examen del fluidos cerebrospinal (CSF) es el medio para el diagnóstico preciso de la meningitis coccidioidal (20, 63, 133, 146). El CSF es anormal en todos los pacientes con CM y las anomalías compuestas (especialmente la actividad fijadora de complemento) son características de la enfermedad. Las características celulares y bioquímicas de CSF en la meningitis granulomatosa están resumidas en la tabla 2. La frecuencia de anomalías celulares y bioquímicas en el comienzo de la enfermedad han establecido que el conteo celular se eleva en el 93% de los casos y la concen-

TABLA 2. Datos del fluido Cerebroespinal para pacientes con Meningitis Coccidioidal (146).

	Media	Rango	Val. Nor. ^a
Conteo total de células (células/mm ³)	371	25-1510	0-8
% de leucocitos Polimorfonucleares	24	-----	--
% de linfocitos	76	-----	0-8
Proteínas (mg/dl)	215	44-760	15-45
Glucosa (mg/dl)	42	9-143	45-75
Proporción para glucosa sérica	0.35	0.15-0.60	--
Título fijador de complemento	1:8	1:2-1:256	--
Aislamiento de <u>C. immitis</u>	5/12	-----	--

^aValores Normales tomados de (53).

tración de protefnas se incrementa en el 91% de los pacientes. La glucosa esta disminufda en el 95% de los pacientes al comienzo de la enfermedad. El conteo diferencial de células demuestra predominancia de linfocitos, pero en el curso temprano de la enfermedad los leucocitos polimorfonucleares pueden ser predominantes.

La prueba de fijación del complemento (CF) en el CSF detecta los anticuerpos formados en el SNC y en ninguna instancia los anticuerpos séricos fijadores de complemento difunden al CSF en suficiente concentración para dar una prueba positiva (119). Sin embargo, en algunos pacientes pequeñas cantidades de anticuerpos séricos pueden encontrarse en el CSF. La presencia de este anticuerpo en el CSF no es una evidencia de meningitis coccidioidal. Por lo que se ha enfatizado la importancia de un examen completo del CSF para establecer un diagnóstico de meningitis coccidioidal. Las precipitinas se encuentran raramente en el CSF de pacientes con meningitis coccidioidal (20, 63, 146).

COCCIDIOIDOMICOSIS DEL HUESO Y ARTICULACIONES.

La infección del hueso y las articulaciones es una de las manifestaciones más frecuentes de la coccidioidomicosis diseminada y se presenta en aproximadamente el 20% de los casos (63, 146, 156,166).

La infección de estos sitios se presenta como resultado de la diseminación hematogena antes que por una inoculación directa, aunque las articulaciones pueden ser afectadas como resultado de la diseminación del hueso adyacente (146).

-- OSTEOMIELITIS.

La osteomielitis es polioestótica en aproximadamente el 40% de los casos donde el 20% afecta dos huesos, el 10% tres huesos mientras que el 1% puede involucrar hasta 8 huesos. Los sitios más afectados son, en orden descendiente de frecuencia: tibia, cráneo, metatarsales, metacarpales, fémur y costillas (63, 146). Radiográficamente, las lesiones tienen la apariencia de quistes uniloculados o multiloculados (146).

Las características de la osteomielitis coccidioidal depende de la agudeza de la lesión esquelética y de la presencia o ausencia de focos extraóseos de infección. La infección temprana puede estar caracterizada por todos los signos y síntomas del proceso inflamatorio: hinchazón, temperatura local, fiebre sistémica, eritema, dolor y ablandamiento. Con la cronicidad, la lesión se hace fría con frecuentes abscesos y formación de canales (63, 113, 146).

La prueba dérmica a la coccidioidina y las pruebas serológicas son tan útiles como en las otras formas de la coccidioidomicosis diseminada. Sin embargo, se ha observado que el involucramiento vertebral puede conducir a una prueba de anticuerpos fijadores de complemento positiva para la coccidioidomicosis en el CSF ante la ausencia de una meningitis aparente (1, 146).

La hipercalcemia se ha reportado como una complicación de la coccidioidomicosis diseminada (107, 122).

--ARTRITIS.

El "reumatismo del desierto" consiste en artralgiyas y ocasionalmente de artritis, se presenta en el 3-5% de pacientes con coccidioidomicosis no diseminada primaria. Sin embargo, el involucramiento de las articulaciones probablemente se debe a un fenómeno inmulógico y no directamente al infeccioso. En la actualidad, la infección de las articulaciones se puede presentar como un resultado de la diseminación hematogena hasta las cápsulas sinoviales o por una extensión de una osteomielitis adyacente (63,146,156,166).

Los sitios más afectados de las articulaciones, en orden descendiente, son tobillos, rodillas, pies, codos, muñecas, hombros, dedos, vértebras de la cadera y esternoclavicular. Inicialmente las articulaciones afectadas pueden encontrarse agudamente inflamadas. En la fase crónica, el paciente se queja de dolor y rigidez de la articulación afectada. El derrame, la hinchazón y el engrosamiento de las cápsulas sinoviales con una disminución en el movimiento se presenta en el examen médico (63,146).

Los anticuerpos séricos fijadores de complemento para la coccidioidina están presentes, sin embargo, no hay datos confiables de los anticuerpos fijadores de complemento en el líquido sinovial (63,146,156,166).

COCCIDIOIDOMICOSIS CUTÁNEA.

La coccidioidomicosis cutánea puede ser clasificada clínicamente como (a)

reacción de hipersensibilidad a la coccidioidomycosis, incluyendo eritema nodoso y eritema multiforme; (b) reacción tóxica de la coccidioidomycosis; (c) coccidioidomycosis cutánea secundaria y (d) coccidioidomycosis cutánea chancriforme primaria (146).

a) REACCION DE HIPERSENSIBILIDAD A LA COCCIDIOIDOMICOSIS.

Las reacciones de hipersensibilidad en el eritema nodoso y el eritema multiforme son debidas a manifestaciones alérgicas. Ellas se presentan en el 10% de las infecciones coccidioideas y en los pacientes que tienen las menores probabilidades de padecer la forma diseminada de la enfermedad. Aunque el desarrollo de estas manifestaciones de hipersensibilidad indican por lo general un buen pronóstico, la diseminación y la muerte se pueden presentar (146).

El eritema multiforme se presenta con lesiones eritematosas que pueden contener un componente bulboso. Las lesiones son pruríticas y pueden descamarse. Se presentan por lo regular en la parte superior del cuerpo, en adultos, o en la parte inferior del cuerpo en los niños (63,146,156,166).

El eritema nodoso se presenta con un color rojo, blando, caliente, prurítico, firme, nódulos elásticos que pueden medir varios centímetros en diámetro. Se presentan en la región anterior tibial pero se pueden extender a los muslos o en ocasiones a los antebrazos. Gradualmente, las lesiones se convierten a violáceas y entonces evolucionan en una o dos semanas dejando residuos maculares hiperpigmentados post-inflamatorios ("chichones del desierto") que gradualmente se decoloran en las siguientes semanas o meses (146).

b) REACCION TOXICA EN LA COCCIDIOIDOMICOSIS.

En aproximadamente el 10% de los casos de coccidioidomycosis primaria los pacientes desarrollan un eritema tóxico inespecífico. El eritema se presenta en conjunción con una elevación en la temperatura. En muchos casos la erupción desaparece en una semana y sólo se diagnostica retrospectivamente como coccidioidomycosis (63,146).

c) COCCIDIOIDOMICOSIS CUTANEA SECUNDARIA.

Las lesiones secundarias de la coccidioidomycosis son casi siempre producidas por la diseminación del foco pulmonar más que por una inoculación cutánea primaria (156, 166). Casi todos los sistemas del cuerpo pueden ser infectados a través de la diseminación. Sin embargo, la piel es el primer órgano en el que se observa la enfermedad (63, 146). Las lesiones de coccidioidomycosis cutánea secundaria pueden presentarse en numerosas formas (tabla 3).

c.1) COCCIDIOIDOMICOSIS CUTANEA SECUNDARIA CRONICA.

El síndrome crónico es más común en las razas pigmentadas que en blancos (63,146,166). Por lo general, hay sólo una lesión extrapulmonar que afecta la piel y no hace peligrar la vida. El paciente puede tener pocas o ninguna complicación sistémica. Las lesiones dérmicas son muy extensas, prominentes y usualmente tienen una apariencia verrucosa. Esta forma de la enfermedad puede persistir por décadas; sin embargo, la diseminación por todo el

**TABLA 3. Lesiones de la coccidioídomicosis Cutánea Secundaria
(Diseminada) (146)**

-
- | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>I. PAPULAS.</p> <p>A. Solitarias</p> <p>B. Múltiples</p> <p> 1. Agrupadas.</p> <p> a. Semejantes a placa.</p> <p> b. Verrucosa</p> <p> 2. Miliar.</p> | <p>III. LESIONES GRANULOMATOSAS.</p> <p>A. Nodular.</p> <p>F. Fungosa.</p> <p>C. Ulcerativa.</p> |
| <p>II. PUSTULAS.</p> <p>A. Furuncular.</p> <p>B. Vegetativa.</p> | <p>IV. ABSCESOS SUBCUTANEOS.</p> <p>A. Ulcerativos.</p> <p>B. Sinusual.</p> |
-

cuerpo puede presentarse eventualmente, algunas veces resultando en la muerte (63, 146, 166).

d) COCCIDIOIDOMICOSIS CUTANEA CHANCRIFORME PRIMARIA.

La infección de coccidioidomycosis primara a través de la piel es extremadamente rara. La infección debe ser diferenciada clínicamente de una inoculación primaria de la piel con agentes etiológicos de las siguientes enfermedades: esporotricosis, histoplasmosis, blastomicosis norteamericana, tuberculosis, sífilis, leishmaniasis, nocardiosis, actinomicosis y botriomicosis (63,146).

OTROS SINDROMES COCCIDIOIDALES.

La presentación de los síndromes coccidioidales en algunos órganos del cuerpo humano es muy infrecuente. Esos síndromes son: peritonitis (7,32), oftálmica (7), otomicosis (7,146), infección respiratoria superior: nasofaringe, epiglotis, laringe y tráquea (146), endocarditis (7,146), pericarditis (7,63,146), hígado (7,146), bazo (7,146), glándulas adrenales (7), tiroides (7,146), tenosinovitis (7, 146), infección genitourinaria (7,23,166), y fungemia (5).

DIAGNOSTICO

PRUEBAS DERMICAS.

Antes de 1970, las preparaciones de coccidioidina eran proporcionadas por investigadores interesados en la biología de Coccidioides immitis y su papel en las enfermedades micóticas. Esos antígenos se utilizaron para identificar áreas endémicas, estimar la prevalencia de sensibilizaciones y describir las formas polimórficas de la infección por el hongo. La necesidad de un antígeno dérmico disponible en forma general propuso la producción comercial y la distribución a gran escala de la coccidioidina en 1977 y de la esferulina en 1980 (161).

La coccidioidina, que es estable a temperatura ambiente y soporta el calentamiento de hasta 250°C por 10 minutos, se administra intradérmicamente en dosis de 0.1 ml con dos principales finalidades (43, 63, 113, 146, 156, 166).

DIAGNOSTICO Y PRONOSTICO.

DIAGNOSTICO

Como la reactividad a la tuberculina, la coccidioidina sólo indica que la infección ha ocurrido en alguna ocasión en el pasado y la demostración de una conversión de reactividad intradérmica de negativa a positiva, puede establecer la presencia de una infección durante ese intervalo (63).

Originalmente, se utilizó una dilución 1:1000 de coccidioidina para propósitos epidemiológicos, más el uso de la coccidioidina 1:100 mejoró la precisión diagnóstica en un 10%. La reactividad a la prueba dérmica se mide en términos de induración y una respuesta positiva es aquella que mide 5 mm o más, siendo importante la medición de la induración después de 24-48 horas (43,63, 113,146,156,161, 166).

Los pacientes con coccidioidomicosis pulmonar primaria desarrollan sensibilidad a la coccidioidina dentro de un rango de 3 días a 3 semanas después del comienzo de los síntomas, el 83% durante la primer semana de la enfermedad y el 99% en la tercera (43,63,113,146,156).

Una de las grandes ventajas de la coccidioidina es que no afecta las pruebas serológicas que son importantes para establecer el diagnóstico y pronóstico de la coccidioidomicosis. Además, la coccidioidina no tiene efectos adversos en la enfermedad y tampoco puede inducir sensibilización (62,143). Finalmente, la sensibilidad a la coccidioidina 1:100 es totalmente específica aunque en ocasiones se presentan reacciones dérmicas positivas en pacientes con infección activa debida a Histoplasma capsulatum (58,63,113,146,156,166).

PRONOSTICO

Entre los pacientes que desarrollan la enfermedad diseminada, se observa una elevación en el título de anticuerpos fijadores de complemento (CF) y en el 70% de los pacientes la reactividad a la prueba dérmica 1:100 nunca se desarrolla o está disminuida. En general, la prueba de sensibilidad dérmica (coccidioidina y, o esferulina) no es un problema que resulte de un antígeno

más "correcto" sino que se relaciona con el fenómeno inmunológico asociado con el proceso de la enfermedad, especialmente en la avanzada (63,78,113,127, 128,146,156). Por eso la prueba dérmica a la coccidioidina puede ser negativa en un paciente que sufre de una coccidioidomicosis severa. En tales circunstancias, es tradicional probar la respuesta del paciente a la coccidioidina 1:10. Al utilizar la coccidioidina en forma concentrada es importante mencionar que pueden darse reacciones cruzadas en pacientes sensibles a la histoplasmina (63, 78, 113, 146, 156).

ESFERULINA.

La esferulina tiene propiedades físicas, químicas e inmunológicas muy similares a la coccidioidina. Sin embargo, la esferulina, en contraste a la coccidioidina, es termolábil y pierde considerable actividad después de ser mantenida a 60°C por 20 minutos (20). No obstante, ha demostrado una gran estabilidad cuando es mantenida, en forma concentrada (1.68 mg/ml) a temperaturas de 0-8°C por 489 días; en forma diluida (5 μ p/0.1 ml) lo es por lo menos 7 días a 22°C (146).

Después que Levine y colaboradores (63,113,146,156) prepararon el lisado de esférulas de C. immitis, se han realizado estudios para definir cuál de los reactivos dérmicos (coccidioidina o esferulina) es el más sensible para identificar a personas infectadas por el hongo. Así, los resultados de estas investigaciones con pruebas dérmicas indican que:

a) Ambos reactivos detectaron la sensibilidad dérmica retardada a C. immitis y son estables durante el almacenamiento. También se ha determinado que la esferulina, como la coccidioidina, es antigénicamente reactiva en la prueba de fijación del complemento (63,113,134,146, 156).

b) Con base al peso seco, la esferulina es más reactiva en la prueba dérmica que la coccidioidina en animales y en el hombre. La esferulina detecta aproximadamente un tercio más de personas que han experimentado la enfermedad (63, 134, 146).

c) Tanto la esferulina (2.8 μ g/0.1 ml) como la coccidioidina 1:100 no inducen la respuesta de anticuerpos para antígenos coccidioidales, por lo que pueden ser usados como reactivos de pronóstico (58, 63, 146).

d) La esferulina y la coccidioidina estimulan la mitogénesis en los linfocitos de cobayos y humanos sensibilizados (20, 39, 42, 134).

e) Al comparar el tamaño de las reacciones dérmicas de la esferulina con la coccidioidina, se observa que la esferulina está relativamente más enriquecida en componentes antigénicos responsables de una hipersensibilidad cutánea inmediata (161).

f) Existe una relativa falta de especificidad en las reacciones de hipersensibilidad cutánea inmediata que son semejantes a las reacciones de 24 horas. Además, se plantea la posibilidad de que la hipersensibilidad inmediata reaccione en forma cruzada, contribuyendo con ésta a incrementar la prevalencia de las reacciones dérmicas falso-positivas de 24 horas (161).

g) Se han observado incrementos de 2.94 y 3.02 veces a las 24 y 48 horas respectivamente, en el número de reactores a la esferulina. Los incrementos se pueden deber a que la esferulina difiere en especificidad con respecto a

la coccidioidina en ambos períodos se eleva el número de reactores a la esferulina (63, 78, 146, 161).

h) Se evidencia que la reacción dérmica de las 24 horas para la esferulina es similar a las reacciones inmediatas de 15 min. y 6 horas y son diferentes de las reacciones de hipersensibilidad retardada de las 48 y 72 horas; siendo las reacciones de 48 horas más específicas (161).

Por lo anterior, la coccidioidina ha sido el estándar de las pruebas dérmicas por más de 40 años y durante ese tiempo ha probado ser un antígeno que sirve como marco de referencia para los estudios comparativos de pacientes con la infección. No obstante, se ha reportado que existe un efecto sinérgico cuando se utiliza el mertiolate (1:10000) como preservativo en la coccidioidina y ésta se prueba en animales sensibilizados al mertiolate, lo que resulta en un aumento de reacciones falso-positivas (68).

La esferulina está disponible comercialmente, la dosis, vía de administración, criterios de positividad y tiempo de lectura para la prueba son idénticos a los de la coccidioidina. La esferulina, como la coccidioidina, corre los mismos riesgos durante el eritema nodoso/multiforme por lo que se sugiere que el reactivo sea diluido apropiadamente en tales circunstancias (63,146).

Además de la coccidioidina y la esferulina, reactivos disponibles para las pruebas dérmicas, se ha reportado el aislamiento de una fracción de las paredes celulares de C. immitis con actividad en las pruebas dérmicas.

El antígeno, soluble en agua y álcali (C-ASWS), produce reacciones positivas en el 92% de los cobayos sensibilizados con el hongo mientras que sólo el

54% de los mismos cobayos reaccionan a la coccidioidina. También puede ser administrado en altas concentraciones (100 ug/0.1 ml) sin producir respuestas inflamatorias inespecíficas o reacciones cruzadas con cobayos sensibilizados a H. capsulatum y dosis de 1 ug/0.1 ml producen reacciones comparables a dosis de 100 ug/0.1 ml de coccidioidina no dializable. Sin embargo, el antígeno C-ASWS es al menos 10 veces menos potente, sobre la base de peso seco, que la coccidioidina de Smith Lot 64D4 (155). A pesar de los datos presentados, los experimentos con humanos con este antígeno son escasos por lo que se requiere más investigación.

PRUEBAS PARA ANTICUERPOS COCCIDIOIDALES.

Precipitinas en tubo (TP).

Esta prueba se realiza mezclando el suero no diluido con coccidioidina no diluida o diluida. Los tubos son incubados a 37°C y examinados en 5 días consecutivos buscando un "botón" de precipitación (63,113,146,156,166). Muchos sueros reactivos producirán el "botón" de precipitación en 24 horas y algunos otros tomarán 3 días y en ocasiones hasta 4 (146). Las pruebas es usualmente leída como positiva o negativa y sólo es indicativa de una infección reciente por C. immitis (63,113,146,156,166). La presencia de precipitinas en el suero no tiene el significado de pronóstico como lo tiene la elevación de los títulos de anticuerpos fijadores de complemento. Sin embargo, las precipitinas pueden reaparecer cuando se presenta la diseminación. La prueba TP no tiene valor en el estudio del fluido cerebrospinal (CSF) de pacientes con meningitis coccidioidal (63,113,146,156,166).

En los pacientes que requieren atención médica la prueba detecta los anticuerpos precipitantes IgM. Los cuales aparecen de acuerdo al siguiente patrón: 53% en la primera semana de la enfermedad, 93% en la segunda y terceras semanas y el 86% durante la cuarta semana (fig. 2) (63,113,146, 156,166). Cox y colaboradores (49) han sugerido que el antígeno IPA (antígeno precipitante incompleto), presente en la coccidioidina y termoestable a 60°C por 30 min, es el responsable de la precipitación en esta prueba.

Recientemente se ha demostrado la presencia del antígeno de la prueba TP en los cultivos de C. immitis. El antígeno TP es producido por una variedad de hongos saprófitos Gymnoascaceous formadores de artroconidias tales como Arachniotus, Auxarthron y especies Malbranchea. Por lo anterior, no se recomienda para la inmunoidentificación de los cultivos de C. immitis (102).

Aglutinación de partículas de latex (LPA).

La prueba LPA, al igual que la prueba TP, mide las precipitinas tempranas de la enfermedad coccidioidal. La prueba se base en una reacción de anticuerpos con las partículas de látex cubiertas con un antígeno que ha sido obtenido de una mezcla de 15 cepas de C. immitis crecidas en un caldo glucosa-extracto de levadura y que ha sido calentado. La prueba se lee y el índice de aglutinación se reporta como 1+ o 4+. El ensayo es cualitativo (63, 113, 146, 156, 166).

En un estudio comparativo, la prueba LPA reacciona con el 71% de las muestras procedentes de pacientes con coccidioidomicosis mientras que la

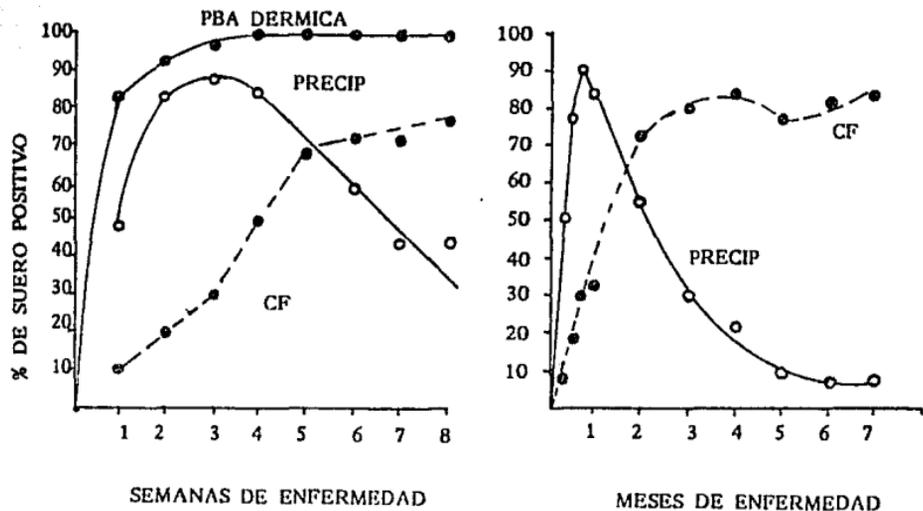


FIG. 2^a. Secuencia temporal de cambios inmunológicos en la coccidioidomycosis primaria no-diseminada. Precip., precipitinas determinadas por la prueba TP; CF, anticuerpos fijadores de complemento; Prueba dérmica, respuesta retardada a la coccidioidina. (146).

prueba TP sólo es positiva en el 13% de las muestras. Sin embargo, la prueba LPA produce del 6-10% de reacciones falso-positivas en el suero de pacientes que cursan alguna enfermedad no coccidioidal (62, 63, 113, 146, 156, 166). Además la prueba LPA no tiene valor al detectar los anticuerpos coccidioidales presentes en el CSF e incluso da reacciones falso-positivas en su localización. Probablemente esto pueda deberse a que el CSF tiene un bajo contenido de proteínas. Finalmente, la pérdida de estabilidad de las partículas de látex resulta en una aglutinación de las mismas, causa por la cual pueden existir resultados falso-positivos en el CSF y en el suero. Por lo anterior, se sugiere que la prueba LPA positiva sea confirmada por otras técnicas como TP o inmunodifusión de las precipitinas en tubo (IDTP) (63, 113, 146, 156, 166).

Fijación de complemento (CF).

La prueba de CF ha sido utilizada como el método de referencia para el diagnóstico y pronóstico de la coccidioidomicosis (63,92,113,135,146,156,159, 160,166). No obstante, presenta una gran complejidad para realizarse de manera rutinaria en los laboratorios por lo que se restringe únicamente a algunos grandes laboratorios de referencia que se encuentran dentro de las áreas endémicas. Además la prueba de CF es costosa, consumidora de tiempo y puede tener muchos cambios intrínsecos y variaciones tan sutiles en la técnica de los datos obtenidos no son confiables (63,92,113,146,156,166). En la actualidad, el método CF del Laboratory Branch (LBCF), uno de los mejores laboratorios de referencia para la serología coccidioidal, es el más utilizado para el serodiagnóstico y pronóstico de la coccidioidomicosis. Sin

embargo, el método LBCF es laborioso y muchos laboratorios no poseen el personal debidamente capacitado para realizar un ensayo tan complejo. Por ello, se ha utilizado más frecuentemente el método de fijación del complemento del Viral and Rickettsial Disease Laboratory (VRDL-CF), en su versión modificada para la serología coccidioidal. Los resultados han demostrado que ambos métodos tienen una buena correlación (0.85) y que la concordancia dentro de ± 1 dilución es del 85.2% y en ± 2 diluciones corresponde a un 96.7%. Por lo que el método VDRL-CF puede ser considerado una alternativa para la serología coccidioidal (160).

La interpretación adecuada de la prueba CF es una guía valiosa para el diagnóstico y, especialmente, para el pronóstico. La elevación o el rápido incremento de los títulos CF están generalmente asociados con un pobre pronóstico porque refleja la presencia de una diseminación extrapulmonar. En contraste, una disminución significativa en el título de anticuerpos fijadores de complemento durante la terapia debe considerarse como un indicio de un mejor pronóstico (63, 113, 146, 156, 166).

En los pacientes con coccidioidomicosis primaria los anticuerpos CF clase IgG se desarrollan posteriormente a la presencia de precipitinas tempranas (fig. 2). Si bien los títulos CF usualmente disminuyen después de la recuperación de la enfermedad, en algunos pacientes persisten por años (63, 113, 146, 156, 166).

Actualmente se ha considerado, erróneamente, que el título sérico crítico de la prueba CF⁽⁺⁾ para la coccidioidomicosis es de 1:16-1:32. Esto no siempre es cierto, por ejemplo: el título CF tiene una gran tendencia a

umentar o exceder la dilución 1:16 en pacientes con diseminación, el 60% de pacientes con una lesión extrapulmonar simple, el 30% con meningitis y del 5-10% con diseminación extensiva tienen títulos de 1:8 o menores. Por lo que una reacción CF a bajo título no debe ser descartada como "no diagnóstica" (63,146).

Los anticuerpos fijadores de complemento pueden ser detectados no sólo en el suero sino también en otros fluidos corporales (peritoneal, pleural, de articulaciones y CSF) con la precaución que los títulos CF en esos fluidos son 1 ó 2 diluciones menores que en el suero (63,113,146,156,166). Excepto en raros casos de infección de vértebras en directa inmediatez con las meninges, la detección de los anticuerpos CF en CSF es diagnóstico de una meningitis coccidioidal (63,146). En el caso anterior, la glucosa del CSF, es usualmente baja y las proteínas y células están elevadas. En la presencia de lesiones extradurales, la proteína del CSF está elevada y la glucosa y células se encuentran normales (119,146).

El uso de esferulina en pruebas de CF.

Debido a que la esferulina en las pruebas dérmicas ha demostrado una mayor reactividad que la coccidioidina, se han realizado estudios para determinar si es posible substituir a la coccidioidina por la esferulina como la fuente de antígenos en la prueba CF. Los resultados de estos estudios establecen que la coccidioidina y la esferulina son equivalentes en sensibilidad para detectar la coccidiodomicosis activa (63,92,135,146,159). Sin

(+) El título sérico crítico está definido como aquel que no es excedido en el 95% de pacientes con infección pulmonar no diseminante o enfermedad pulmonar coccidioidal residual (63).

embargo los problemas se presentan en los análisis de sueros de pacientes con otras infecciones. En las infecciones micóticas, los resultados con coccidioidina son positivos en un 16-20% mientras que el 48% de las muestras son positivas para la esferulina (63,92,146). Así, la coccidioidina y la esferulina han demostrado reacciones cruzadas en la prueba de CF con suero de pacientes infectados con Petriellidium (Allescheria) boydii, especies de Aspergillus, Blastomices dermatitidis, Histoplasma capsulatum, Phialophora pedrosi, Candida albicans, Candida parapsilosis, Criptococcus neoformans y Torulopsis glabrata. Aquí la esferulina tuvo una mayor reactividad cruzada que la coccidioidina (63). En condiciones no micóticas, las reacciones cruzadas se dan con sueros de pacientes que sufren tuberculosis, neumonía neumococal empiema estafilococal, malacia del sistema nervioso central, degeneración macular, carcinoma pulmonar y enteritis regional; fijando el título de complemento en un rango de 1:2-1:8 (63). Por lo anterior, es poco probable que la coccidioidina sea substituída por la esferulina en la prueba CF ya que aquella se considera más específica (63,92,135,146).

Inmunodifusión

Difusión bidimensional.

La prueba de inmunodifusión (ID) fue desarrollada por Huppert y Bailey (63,98,146,160) como alternativa para detectar los anticuerpos CF y las precipitinas coccidioidales. La prueba ID, realizada en agar-gel, correlaciona cualitativamente con la prueba de CF (98). Las reacciones pueden ser leídas a las 24 horas en el 69% de los sueros positivos, el 84% son positivos a las 48 horas y el 100% a las 72 horas. El uso de antígeno calentado o no

calentado asegura la detección y distinción de precipitinas y anticuerpos CF, respectivamente (63,98,146,160).

Concentrando el suero (o CSF) de 8-10 veces por evaporación, se mejora la detección de anticuerpos coccidioidales (119). Esto ha sido particularmente útil en detectar precipitinas y anticuerpos CF cuando se presentan en muy bajo título (146). La prueba ID de precipitinas en tubo (IDTP) es más sensible que la prueba TP aunque menos sensible que la LPA (63). Cox y colaboradores sugieren que el antígeno IPA es el responsable de la reacción de precipitación (49).

Inmunodifusión cuantitativa (QID).

Cuando las muestras del suero son diluidas seriadamente y colocadas en los pozos periféricos frente a una concentración apropiada de antígeno, la prueba se convierte en una donde los títulos CF pueden ser medidos y, frecuentemente, son cercanos a los de la prueba CF (63,146). En un estudio comparativo, la QID, demostró tener una correlación aceptable con el método CF del Laboratory Branch del orden de 0.85 con una concordancia del 82% y del 93.4% dentro de un rango de ± 1 dilución y ± 2 diluciones, respectivamente. Así mismo, y con respecto a una versión modificada del método del Viral and Rickettsial Disease Laboratory se observa una correlación de 0.91 con una concordancia del 88.5% en ± 1 dilución y del 98.4% para un rango de ± 2 diluciones (160).

Las ventajas que presenta la QID comparada con la prueba CF son:

- El problema de reacciones cruzadas con otros antígenos fungales, particularmente a títulos menores de 1:8, se elimina con la QID si se forma una línea de identidad entre el pozo que contiene el antisuero de referencia y el pozo que contiene el suero diluido del paciente (160);
- La actividad anticomplementaria que interfiere en la prueba de CF no tiene efecto en el método QID (160);
- La prueba es fácil de realizar, menos costosa y está menos sujeta a problemas técnicos;
- Las únicas precauciones requeridas son: a) que cada nuevo lote de antígeno sea estandarizado por la metodología de CF y b) se debe interpretar correctamente el punto final de la prueba (160).

En el comercio existen equipos para identificar los anticuerpos por el método de inmunodifusión. Los resultados con estos equipos comerciales indican que la prueba varía de acuerdo con el sistema comercial usado y con el anticuerpo probado. Aunque los equipos comerciales son 100% específicos para coccidioidomicosis, se recomienda que el sistema sea probado contra un sistema de referencia antes de su adopción final en el laboratorio (98). Este método no ha probado tener alguna ventaja en el diagnóstico de la meningitis coccidioidal (63,146). Recientemente se ha demostrado que el antígeno 3 es el equivalente al antígeno F y responsable de la banda de identidad con el anticuerpo fijador de complemento en la prueba de inmunodifusión (50). Si el ensayo IDCF y la prueba CF detectan el mismo o diferentes antígenos, aún se desconoce.

Contrainmunolectroforesis.

La aplicación de un potencial a través de los pozos de inmunodifusión acelera la reacción de precipitación la que puede ser leída en 20-90 min. (63,68,146). La contraimunolectroforesis ha demostrado tener una buena correlación con la prueba de CF (98%) e inmunodifusión doble (100%) en la detección de anticuerpos anti-coccidioidales. Además existe una buena correlación entre los criterios asociados a la severidad de la enfermedad y los títulos de anticuerpos CF en el suero de pacientes infectados (3). No obstante lo anterior, se requieren más estudios para dar una adecuada evaluación de la prueba en la enfermedad coccidioidal (3,63,146).

Detección de antígenos.

En el manejo de una infección fúngica sospechosa, ninguna prueba diagnóstica es superior al aislamiento del agente causante en una muestra clínica o a su inequívoca identificación en un tejido. Sin embargo, estas situaciones se logran sólo ocasionalmente y por ello frecuentemente se emplean vías diagnósticas que están basadas en las pruebas serológicas.

Las pruebas serológicas tienen varios problemas dentro de los cuales se incluyen: sensibilidad y especificidad, anticomplementariedad e inaplicabilidad en un paciente con una capacidad dañada para sintetizar anticuerpos por lo que hay gran interés en desarrollar pruebas para detectar antígenos fúngales específicos (66).

Las investigaciones para detectar los antígenos específicos para C. immitis demuestran que las técnicas de Radioinmunoensayo en fase sólida (RIA-fase sólida) y de la inhibición de ELISA pueden ser alternativas prácticas a los métodos actuales en la determinación serológica de la coccidioidomicosis. Así la técnica RIA-fase sólida es sensible aunque menos específica que la prueba CF (29). La RIA-fase sólida detecta hasta 14 ng de proteína de coccidioidina por ml. de suero (157). La prueba de inhibición de ELISA, cuando se aplica al suero de pacientes con neumonía coccidioidal primaria, detecta a los pacientes dentro de los dos primeros meses después del comienzo de los síntomas (75).

Otras técnicas propuestas para simplificar y mejorar la detección de anticuerpos coccidioidales son la prueba de inhibición de la precipitación en agar-gel y la prueba de anticuerpos fluorescentes. En la actualidad existe un futuro incierto para las técnicas mencionadas, por ello se requieren más estudios utilizando las técnicas para probar su eficacia en la enfermedad coccidioidal (63,146).

Identificación en el laboratorio.

Los principales procedimientos involucrados en la demostración de C. immitis son: a) examen directo por microscopio; b) crecimiento del hongo en medios de cultivo; y c) confirmación de la identificación (63,113,146,156,166).

Examen directo por microscopio.

En las muestras patológicas se busca la presencia de la esférula endoesporulante característica de C. immitis. Además de tales esférulas, la hifa con la atroconidia alinante puede encontrarse en el 70-75% de las muestras

de las lesiones cavitatorias y en aproximadamente el 30% de las lesiones granulomatosas del pulmón (63,113,146,156,166).

Las muestras para examen directo pueden prepararse como muestras frescas o preparaciones teñidas. En el método de preparaciones frescas una pequeña porción de las muestras se coloca en una o dos gotas de KOH al 10-20% en un portaobjetos. Un cubreobjetos se coloca encima y es presionado suavemente para eliminar las burbujas de aire y para apresurar el proceso de aclaramiento. Muchos de los tejidos del hospedero serán disueltos y sólo el hongo será totalmente resistente, esto debido a su pared quitinosa (63,113,146,156, 166). Este tipo de preparaciones debe ser examinada en pocas horas. Si las muestras se preparan en solución de KOH al 10% disuelto en igual cantidad de agua y glicerina o en la tinción de azul de lactofenol de algodón perdurarán por varios días (113,146,156,166).

Aunque existen procedimientos especiales de tinción, útiles para demostrar al hongo en las secciones histopatológicas, ellos no se utilizan generalmente para demostrar la esférula endoesporulante de C. immitis en muestras frescas. Cuando se presenta la esférula endoesporulante puede ser vista sin dificultad y la tinción es innecesaria. Sin embargo, la preparación de al menos dos portaobjetos es válida: una para el estudio como muestra fresca y la segunda como un frotis para un procedimiento de tinción especial para el hongo. Si la preparación de la muestra fresca es negativa, el frotis preparado puede ser teñido preferentemente por el método Gomori-metamina-nitrato de plata (95). Una tercer muestra puede ser preparada sin digestión del KOH y mantenerla sellada con parafina a temperatura ambiente para examinar la hifa germinante (63,113,146,156).

La interpretación de los resultados por examen directo debe realizarse con precaución. Las células de levaduras no gemantes de varias especies de hongos (B. dermatitidis C. neoformans) pueden parecerse a las endoesporas en sus fases tempranas de maduración a esférulas. Ocasionalmente, varias endoesporas pueden parecerse mucho a las levaduras gemantes. Los elementos hifales no son suficientemente característicos para justificar la interpretación como C. immitis. Por eso uno debe buscar las esférulas endoesporulantes. Las estructuras vistas en lesiones mucocutáneas deben ser diferenciadas de Rhinosporidium seeberi. La esférula madura endoesporulante de R. seeberi es mucho mayor (aprox. 350 μ m) y sólo las formas colapsadas de fases inmaduras jóvenes se asemejan a las cubiertas de las esférulas de C. immitis que han liberado endoesporas (146).

Crecimiento del hongo en medios de cultivo.

Aunque las características de cultivo de C. immitis son extremadamente variables, la mayoría de las cepas son totalmente resistentes en el primer aislamiento. Después de 3-4 días a temperatura ambiente o de incubación, las colonias aparecen como un crecimiento membranoso grisáceo en el medio de cultivo SDA. En los siguientes días, las hifas aéreas se desarrollan variando en el color de blanco a grisáceo y en textura. Las colonias típicas usualmente no desarrollan alguna pigmentación marcada en la superficie. Muchas de las cepas crecen rápido y una colonia puede cubrir la superficie del medio de cultivo en 2-3 semanas, frecuentemente con anillos concéntricos de hifas aéreas algodonosas o lanosas separadas por anillos de crecimiento

disperso. En contraste, las colonias "atípicas" pueden ser extremadamente variables con respecto a velocidad y extensión de crecimiento, color y textura de la hifa y pigmentación en el agar (63,113,146,156,166).

Como las características de cultivo de C. immitis son variables y existen muchos hongos con características de cultivo semejantes, la selección de colonias en un aislamiento primario pueden ser un problema. Afortunadamente el medio de cultivo conteniendo cicloheximida puede ser usado. Todas las cepas de C. immitis crecen en el medio que contiene 0.4 mg/ml de cicloheximida, concentración a la que se inhibe el crecimiento de muchos hongos saprófitos (113,146,156,166).

Las características de cultivo son muy variables para la identificación de un hongo a nivel de especie, por lo que las estructuras microscópicas son más significantes. Esto se puede demostrar en preparaciones frescas o cultivos en portaobjetos. Las cepas más comunes de C. immitis producen una hifa septada de aproximadamente de 2 μ m de ancho, cilíndrica con arthroconidias de pared gruesa generalmente de 3-4.5 μ m de ancho y 3-12 μ m de largo. Sin embargo, las características estructurales del hongo no se utilizan para su identificación debido principalmente al alto riesgo que representa manejar muestras infecciosas (113,146,156,166).

Confirmación de la identificación.

Las características de colonia y morfología de estructuras microscópicas no son distintivas para que un aislamiento sea identificado categóricamente como C. immitis. Como se mencionó antes, hay suficientes variaciones de

estas propiedades entre las cepas de C. immitis que se requiere su diferenciación de otras especies de hongos con características similares.

En la actualidad se reconoce que C. immitis es la única especie, entre el grupo de hongos semejantes a él, que produce esférulas endoesporulantes y patología cuando se inyectan en los animales de laboratorio. Por eso, la demostración de su patogenicidad se ha precisado antes de una identificación definitiva como C. immitis. Más recientemente, dos procedimientos adicionales han demostrado distinguir entre C. immitis y otros hongos similares: la producción de esférulas endoesporulantes in vitro y la demostración de antígenos específicos para C. immitis (113,146,156,166).

Inoculación en animales.

La coccidioidomicosis se presenta como una enfermedad natural en muchas especies de animales pero el ratón y los cobayos han sido utilizados más recientemente para la producción de la enfermedad. El ratón puede ser inyectado intraperitonealmente (0.5 ml) y los cobayos machos intratesticularmente (0.5-1.0 ml). Al menos tres animales deben ser usados para sacrificarlos a 1 y 2 semanas para obtener la confirmación de patogenicidad tan pronto como sea posible (113,146,156,166).

Cultivo de esférulas

Los métodos más usados y reproducibles para la obtención de esférulas endoesporulantes están basados en el medio líquido Roessler, el modificado por Converse o Levine y colaboradores (95,146,148). En esos métodos, los

medios de cultivo son inoculados con artroconidias e incubados a 40°C o 37°C con agitación y se obtienen esférulas endoesporulantes en 2-5 días. Un estudio realizado por Sun y colaboradores (148) revela: a) que al incorporar un medio líquido Converse modificado en agar, se producen las conversiones a esférulas endoesporulantes; b) la conversión se puede presentar igualmente bien en una jarra de vela incubada a 37 ó 40 °C; c) la incubación a 40°C es preferible porque el desarrollo del micelio a esta temperatura se inhibe; y d) las 6 especies de hongos similares a C. immitis no desarrollan esférulas endoesporulantes bajo estas condiciones (146,148).

Más recientemente, Petkus y colaboradores (123) han demostrado que las esférulas de C. immitis pueden ser crecidas en un medio RPMI 1640 suplementado con 10% de suero de ternera a 37°C con una atmósfera inicial de 5% CO₂ y que puede ser mantenida así por largos períodos (84 días). Así mismo, sugieren que para facilitar la conversión y establecer los aislamientos libres de hifas, los cultivos pueden ser filtrados a intervalos de 48 horas y ser adicionados con 0.8 ng de N-Tamol. una vez que los cultivos se han establecido, el detergente es innecesario.

Así la ventaja que posee este método de confirmación es que se evita la necesidad de infectar a animales de laboratorio, es específico para desarrollar esférulas endoesporulantes de C. immitis y, sobre todo, disminuye el riesgo de infección para el personal de laboratorio (123,146,148,166).

TRATAMIENTO

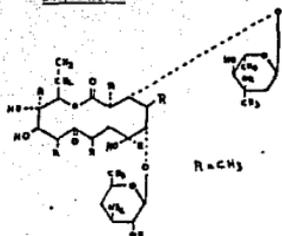
Entre las principales infecciones fúngicas sistémicas, la coccidioidomicosis es una de las más difíciles de tratar. Las primeras drogas eficaces fueron los antibióticos polienos, que fueron introducidos en la década de los 50's. Debido a la alta toxicidad de esta clase de drogas, la única que ha logrado un extensivo uso parenteral es la anfotericina B, que se convirtió en la primera alternativa viable a la cirugía. Hasta 1978, la anfotericina B fue la única droga comercial con algún efecto significativo contra la coccidioidomicosis. Las remisiones clínicas de esta enfermedad son frecuentemente de poca duración. Aunque la anfotericina B tiene efectividad incuestionable en la meningitis coccidioidal, la mortalidad es aún alta (147).

El desarrollo de nuevas drogas antifúngicas en años recientes ha sido dominado por los imidazoles y su uso en las micosis profundas ha sido investigado más recientemente en la coccidioidomicosis. Estas drogas tienen varios posibles mecanismos de acción: inhibiendo la síntesis de ergosterol, efecto sobre ácidos grasos membranales e inhibición de citocromos (147).

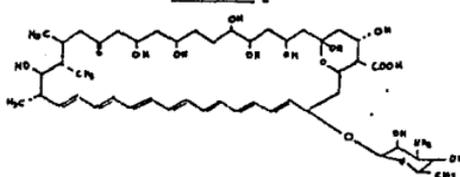
ANFOTERICINA B.

Por casi tres décadas, la droga estándar para la terapéutica de la coccidioidomicosis ha sido la anfotericina B. Su estructura se asemeja a la de la eritromicina pero a ésta le falta la conjunción de los dobles enlaces vistos en la anfotericina (fig. 3). La anfotericina B actúa a nivel de membrana celular (20). La capacidad para hacerlo probablemente radica en el hecho de que hay partes hidrofílicas e hidrofóbicas en la molécula. La porción

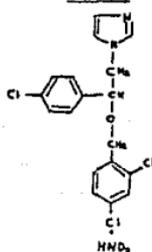
BAI7ADOMICINA



AMPOTERICINA B

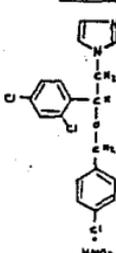


MICO7AZOL



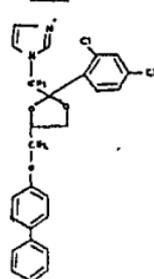
1-[2,4-DICLORO-*p*-(2,4-DICLORO-*p*-CLORO-FENILOXI)-FENETIL]-NITRATO DE IMIDAZOL.

EDC7AZOL



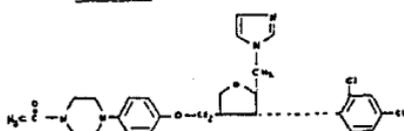
1-[2,4-DICLORO-*p*-(*p*-CLORO-FENILOXI)-FENETIL]-NITRATO DE IMIDAZOL.

814000



CIS-1-(1-(1-(1,1-DIFENIL)-4-ILORIFENIL)-2-(2,4-DICLOROFENIL)-1,3-DIOXOLAN-2-IL)ETIL)-1-N-IMIDAZOL.

KE7CO7AZOL



CIS-PIPE7AZINA, 1-ACETIL-6-[4-[2,4-DICLOROFENIL]-2-(1-N-IMIDAZOL-1-IL)FENIL]-1,1-DICLORAN-4-IL]FENETIL.

AP777ICINA (V777A)

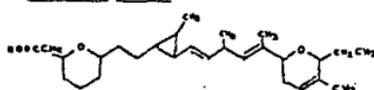


FIG. 3. ESTRUCTURAS QUIMICAS DE LAS DROGAS ANTICOCCIDIODIALES (108,109,153).

hidroxilada es hidrofílica mientras los dobles enlaces representan la parte lipofílica (146). Su probable mecanismo de acción se relaciona con la presencia de ergosterol y el nivel comparativamente alto de $\Delta^{(9-11)}$ -dehidroergosterol en C. immitis. La susceptibilidad del hongo parece estar relacionada a la estructura circular planar de los sistemas de doble enlace conjugados al $\Delta^{(9-11)}$ -dehidroergosterol y derivados similares que afectan el enlazamiento de complejos polieno-esteroide. La resultante reorientación estérica causa un cambio en la permeabilidad membranal con la pérdida de constituyentes intracelulares críticos. Además hay alteraciones secundarias en la actividad glicolítica y respiratoria (63,88).

En la práctica, C. immitis es relativamente susceptible a la anfotericina B in vitro en la fase artroconidial o esférula-endoesporulante (63,146). Sin embargo, existe contradicción en definir la actividad fungicida in vivo aunque clínicamente la droga tiene una acción fungistática. Por ello es que los mecanismos inmunes del hospedero son de considerable importancia en la recuperación a la infección. La adquisición de resistencia con anfotericina B, por el hongo, no se ha reportado (20,63,113,146).

La droga tiene una farmacocinética única. El pico de nivel sérico arriba de 1-2 $\mu\text{g/ml}$ se obtiene inmediatamente después de la infusión de la dosis usada clínicamente. Después de la infusión, menos del 10% de la droga se detecta en el suero. Esto se puede explicar porque es extremadamente enlazable a las proteínas de algunas membranas del hospedero. Además la droga tiene un gran volumen de distribución que es mayor que el peso del cuerpo. Esto sugiere que la afinidad de esta droga es mayor que su distribu-

ción en la sangre y constituyentes sanguíneos. Las máximas dosis tolerables de la droga van de 1.0-1.5 mg/Kg de peso por día (63,113,114,146,154).

La secreción biliar no parece ser una ruta secretoria significativa. La vida media en suero es de 24 horas y la vida media de eliminación es de 15 días. La droga activa puede ser detectada hasta 7 semanas después de la última dosis. En orina se excreta del 2-5% de la droga (63,113,114,146,154). Un régimen de tratamiento con dosis altas se asocia con la nefrotoxicidad inducida por la anfotericina B (20,114,154,146).

La droga ofrece ventajas en el tratamiento de la enfermedad crónica y, la principal, es que los pacientes no requieren hospitalización. Por ello se administran altas dosis intravenosas para producir niveles terapéuticos en el suero hasta 48 horas después de la administración (146).

La penetración de esta droga en los fluidos corporales es limitado. Penetra bien en las cavidades pleurales inflamadas y en articulaciones pero muy poco en la glándula parótida, secreciones bronquiales, fluido cerebro-espinal, humor acuoso del ojo, cerebro, páncreas, músculo y hueso.

La pobre penetración en el fluido cerebroespinal indica que para la terapia con anfotericina B en la meningitis coccidioidal debe ser dada por ruta intratecal (20,63,146).

Los efectos tóxicos de la anfotericina B son flebitis, fiebre, escalofríos, náuseas, vómito, azotemia, acidosis tubular renal, hipocalcemia, hipomagnesemia, choque y anemia. Otros efectos colaterales incluyen reacciones anafilácticas, arritmias, coagulopatía, enteritis hemorrágica, vértigo, prurito, neuropatías, ataques, leucopenia y trombocitopenia (20,63,114,146,154).

En años recientes se ha dado a conocer información acerca de la anfotericina B y sus efectos en el sistema inmune. Bajo algunas circunstancias puede actuar como inmunosupresor o inmuncestimulador; todo depende de la especie de animal, el antígeno, dosis y del ensayo de la respuesta inmune. Debido a la poca información existente, se requieren de más estudios para definir esta función (146).

Anfotericina B en combinación con otras drogas.

Recientes investigaciones han sugerido que la anfotericina B puede ser usada en combinación con otras drogas y producir un efecto sinérgico contra C. immitis. Lo anterior se apoya en que la anfotericina B altera la permeabilidad membranal y facilita la penetración de otras drogas en la membrana celular y entonces éstas ejercen su efecto antimicrobiano. Los resultados indican que las tetracilinas pueden mejorar la efectividad de las dosis subterapéuticas de anfotericina B. En contraste, la rifampicina exhibe un efecto antagónico. Estudios en animales sugieren que la Polixima B puede ser útil en el tratamiento de la coccidioidomicosis. El inconveniente que presenta es su nefrotoxicidad inherente. También se ha demostrado que el ácido itacónico (inhibidor competitivo específico de la isocitrato liasa) puede ser usado en conjunto con la anfotericina B en el tratamiento (9,63).

Anfotericina B metil éster.

La anfotericina B metil éster es una modificación molecular de la anfotericina B; tiene la ventaja de ser mucho más soluble en agua y los estudios en animales indican que es menos tóxica que la anfotericina B. Sin embargo, parece tener menos avidez por sitios enlazantes de las membranas y su distribución en el cuerpo no tiene un patrón tan deseable como el de la anfotericina B (63,146). Además se le han atribuido alteraciones neurotóxicas que comprenden cambios en la personalidad y en el estado mental, las que se presentan en un 96% y 86% de los casos, respectivamente (20). Las anomalías neurológicas también son comunes y prevalecen entre ellas, signos neurológicos focales 71%, ataques 86%, papiledema 80% y alteraciones visuales 100% (90).

Miconazol.

La nueva adición al grupo de las drogas antifungales es el miconazol, un imidazol sintético (fig. 3). El miconazol tiene un amplio espectro de actividad contra hongos patógenos y el mecanismo de acción propuesto es por inhibición de la síntesis de ergosterol y bloqueo de la desmetilación en la posición 14 de los intermediarios entre lanosterol y ergosterol (fig. 4). El miconazol tiene actividad fungicida in vitro (20,63,146).

La fase del micelio, esférula y artroconidia de C. immitis son susceptibles in vitro al miconazol en concentraciones inhibitorias mínimas entre 0.13-1.7 $\mu\text{g/ml}$ (20,63,146). Los cambios y alteraciones que se observan cuando se exponen al miconazol son muy profundos. En la esférula, la morfología subce-

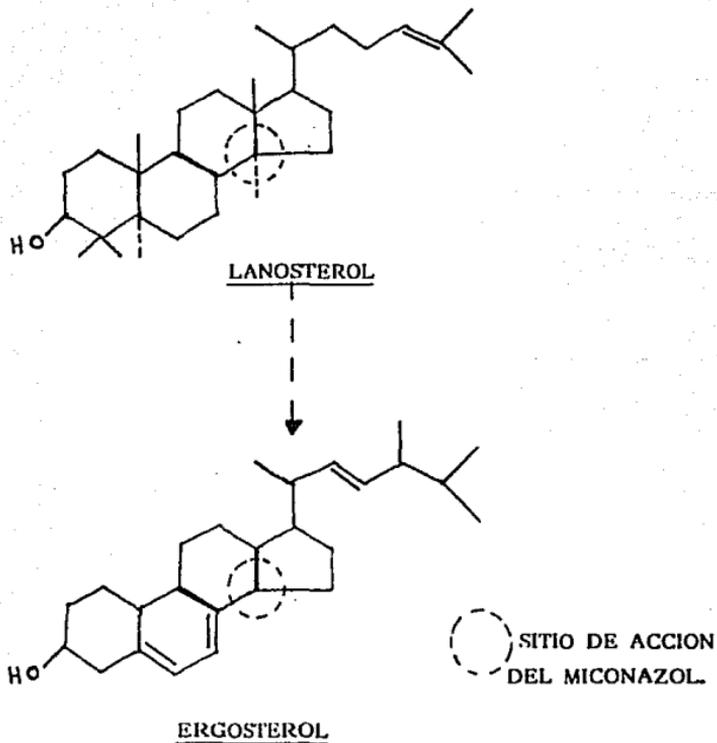


FIG. 4. Mecanismo de acción propuesto para el miconazol: inhibición de la síntesis de ergosterol y bloqueo de la desmetilación en la posición 14 de los intermediarios entre lanosterol y ergosterol.

lular cambia principalmente en dos aspectos; primero, presenta numerosas incusiones osmoflicas de su pared celular circundante y, secundariamente, material parecido a los fosfolípidos acumulados en una vacuola central alargada. La artroconidia presenta una inhibición de la excrecencia del micelio mostrando tubos germinativos cortos sólo ocasionalmente. En algunas células se observa la posición típica de inclusiones osmoflicas en la pared celular, en otras el micelio permanece completamente ausente. Para el micelio, los cambios preneocróticos se presentan en la delgada pared micelial. Bajo el microscopio electrónico muchas células tienen una apariencia colapsada y en el interior un estado avanzado de necrosis con organelos subcelulares apenas identificables. Las células menos dañadas claramente muestran típicas lesiones periféricas en la forma de deposición del material membranoso (fosfolípidos alterados) en la pared celular (19). El desarrollo de resistencia fungal in vitro o in vivo no ha sido demostrado (63,146).

Después de la administración de dosis intravenosas de 600-1000 ug, el pico de concentración sérica de la droga está entre 0.6-1.0 ug/ml en una hora (20,63,146). La droga tiene una fase de desaparición rápida (tiempo medio de 20-30 min.) con una vida media de 20-24 horas (146). El miconazol es pobremente absorbido por vía oral (63). Aproximadamente del 90-93% se enlaza a las proteínas séricas y del 7-10% se excreta por la orina, como metabolitos inactivados (63,146).

El miconazol penetra poco en las meninges inflamadas por lo que debe ser administrado intratecalmente. La dosis de 20mg, administrada por esta vía,

produce concentraciones mayores de 1 ug/ml por 24 horas en el fluido cerebro-espinal. El miconazol dado intravenosamente y la anfotericina B, administrada intratecalmente, se pueden usar como un tratamiento alternativo a la meningitis coccidioidal (54). La droga penetra bien en las articulaciones inflamadas, en el cuerpo vítreo del ojo, en la cavidad peritoneal y escasamente en el esputo y saliva (20,63,146). Los principales efectos tóxicos del miconazol se enlistan en la tabla 4.

Ketoconazol

La siguiente droga derivada de la clase de los imidazoles es el ketoconazol (fig. 3). El ketoconazol aún se encuentra en investigación pero los resultados obtenidos son sumamente alentadores para considerarlo como una promisoriosa droga contra C. immitis. Los cambios y alteraciones producidas en el hongo por el ketoconazol son mucho más marcados que en el miconazol. Las principales ventajas de este agente terapéutico son: vía oral de administración, logrando consistentes niveles sanguíneos encima de las concentraciones fungicidas mínimas, eficacia clínica y relativa falta de toxicidad para los órganos principales (10,147).

TABLA No. 4. Principales efectos tóxicos del miconazol (10).

	Frecuencia, %
Agudos	
Náuseas	42
Tromboflebitis	38
Vómito, diarrea	10
Crónicos (relacionados a la dosis)¹	
Prurito	25
Prurito intratable	5
Trombocitosis	30
Hiperlipidemia ²	Ocasional
Anemia	20-30
Hiponatremia	30-40

¹ Generalmente reversible con la alteración del régimen de la droga o una suspensión del tratamiento.

² Reportada debido al vehículo de la droga, Cremephor EL.

La farmacocinética del ketoconazol aún no está totalmente comprendida. La droga parece ser bien tolerada oralmente permitiendo así el tratamiento de pacientes externos. La absorción del ketoconazol es dependiente de la actividad gástrica y, aunque la droga es una base, se transforma en el estómago en una sal hidrociorada. El tratamiento conjunto con agentes que reducen la secreción gástrica puede interferir con la absorción y biodisponibilidad de la droga y causar el fracaso del tratamiento (28,85,131,139,152,158).

La dosis oral de 200 mg produce niveles séricos de ketoconazol entre 2-2.6 ug/ml a las dos horas (21,28,85,139); en tanto dosis de 400-600 mg lo hacen en el rango de 5.9-6.3 ug/ml, respectivamente (139). Mucha droga se cataboliza y poca se excreta. En orina la concentración de ketoconazol es de 0.4 ug/ml a las 24 horas (85).

La eficacia clínica del ketoconazol en el tratamiento de la coccidioidomycosis en ratón indica que una terapia temprana previene el establecimiento de focos infecciosos en los órganos peritoneales. Cuando la terapia se inicia una vez que la enfermedad se ha diseminado, la droga limita la extensión y frecuencia de la misma más no la erradica (110). Los resultados en la coccidioidomycosis humana son alentadores: en la enfermedad de piel y tejidos blandos con el 91% de éxitos, en la enfermedad pulmonar crónica el 94% de éxitos, en la enfermedad esquelética el 81% de éxitos (85,131,147,152).

La droga no ha mostrado actividad en el tratamiento de la meningitis coccidioidal (21,28,85).

Los efectos colaterales comunmente asociados al tratamiento con ketoconazol son: náuseas, fatiga o somnolencia, artralgia, fotofobia, alopecia, mialgia, prurito ligero, ginecomastia, irregularidades menstruales y hepatotoxicidad (21,28,-131,147,152).

La observación de ginecomastia condujo a descubrir que el fármaco bloquea la síntesis de testosterona así como la síntesis de esteroides adrenales. Los bloqueos son debidos principalmente a la interferencia con los citocromos P450 involucrados en la síntesis de esteroides (124,147).

Econazol y R34000.

El econazol es estructuralmente similar al miconazol y su vía de administración es intramuscular (fig. 3). El R34000, distinto estructuralmente, es absorbido oralmente (fig. 3). Las concentraciones séricas de hasta 4ug/ml se producen en los voluntarios que reciben 15 mg de R34000 por Kg. de peso corporal. El econazol y R34000 demostraron una remarcable capacidad de preservar la vida del paciente y restringir la replicación fungal en los pulmones. Sin embargo, no logran una cura radical. Para R34000, al parecer, no existen síntomas de toxicidad. La evidencia para el uso de estas drogas en la coccidioidomicosis es muy escasa (63,108).

Ambruticina (W7783).

La ambruticina es el nombre propuesto para la droga antimicrobiana producida por el Myxobacterium Polyangiumcellulosum (variedad fulvum) y representa una nueva clase de compuestos antimicrobianos (fig. 3). La droga es absorbida por vía oral. Levine y colaboradores (109) usaron dosis letales de artroconidias de C. immitis en ratones para definir las propiedades terapéuticas de la droga. Todos los animales tratados sobrevivieron mientras que del 50-79% de los animales testigos infectados murieron. Un resultado importante es que el 78% de los animales curados no tuvieron C. immitis recuperable en sus tejidos. Los estudios toxicológicos no indican cambios patológicos atribuibles a las drogas. No obstante, se requieren más estudios para definir la utilidad de la droga (10,63).

Por último, el más reciente desarrollo es la introducción de itraconazol, un triazol oral que tiene actividad contra C. immitis in vitro y en un modelo de ratón. Este agente puede ser menos tóxico que el ketoconazol. Actualmente está en investigación y puede representar un adelanto en la terapia de las varias formas de coccidioidomycosis (86,147).

En general, los pacientes con coccidioidomycosis pulmonar primaria, no complicada, no requieren terapia antifungal. Sin embargo, las excepciones son frecuentemente hechas cuando los pacientes exhiben uno de los factores que predispone a la diseminación coccidoidal (raza, embarazo, inmunosupresión). Bajo estas circunstancias, el tratamiento puede ser instaurado como profiláctico, por lo que el propósito es prevenir la diseminación (63,13,146).

En los pacientes con una neumonía coccidioidal persistente o coccidioidomicosis pulmonar progresiva crónica el tratamiento puede tener valor en limitar los síntomas o extensión de la enfermedad. La cavitación pulmonar pocas veces constituye una indicación para la terapia, porque no hay evidencia que la resolución cavitatoria esté influenciada por la droga.

Sin embargo, el tratamiento puede tener valor cuando la cavidad tenga una pared delgada, cuando los síntomas de la infección pulmonar persisten o cuando hay un rompimiento de la cavidad con empiema o pnoneumotórax. La más clara indicación para la terapia antifungal corresponde a la diseminación extrapulmonar. La diseminación puede ser obvia, clínicamente con una extensión extrapulmonar o puede ser amenazante, sugerida por la falla para desarrollar una reactividad a la coccidicidina o su pérdida temprana después de la infección primaria por una rápido aumento en el título de anticuerpos fijadores de complemento. Sin tratamiento aproximadamente el 50% de los casos fallecen (63,113,146).

INCIDENCIA Y PREVALENCIA

Ecología

Los datos que establecen la distribución de C. immitis provienen principalmente de: a) Reconocimiento de casos probados; b) Estudios con pruebas intradérmicas; y c) Estudios ecológicos en los sitios donde se presentan epidemias (63).

En el Continente Americano, las zonas endémicas se extienden desde los 40°N, 120°W en el norte de California a 40°S, 65°W en Argentina. La mayor área endémica de coccidioidomycosis está localizada en el norte de México y sur de los Estados Unidos de América, la región corresponde a la **Lower Sonoran Life Zone**. Esta zona, definida en términos de plantas y animales que la habitan, se caracteriza por la presencia de plantas como el arbusto creosota Larrea tridentata, mezquites, nopales, yucas, agaves y otros cactus. Los animales encontrados aquí incluyen al ratón "pocket", ratas canguro y al zorro del desierto de oreja grande (63,113,146,166).

Las condiciones climáticas en la Lower Sonoran Life Zone son suelo semiárido, verano caluroso, raro en inviernos helados, latitud baja, suelo alcalino, escasa flora y en presencia de una corta pero intensa temporada de lluvias que parecen ser esenciales en la germinación del hongo en el suelo. En estas regiones, el hongo persiste en el suelo como espora en el invierno y, después de las lluvias invernales, se desarrolla de nuevo y produce más esporas. Por esta razón, la incidencia de la enfermedad es mayor en los meses de verano, particularmente, en aquellos que siguen a los inviernos lluviosos. C. immitis sobrevive en el suelo a profundidades de hasta 20 cm, así como en las madri-

gueras de los ratones y generalmente está ausente de la superficie durante los períodos de calor (63,113,146,166).

AREAS ENDEMICAS

La coccidioidomycosis es una enfermedad propia del Continente Americano donde existen los focos de suelo con las características climáticas y ecológicas para que habite C. immitis.

Estos focos se muestran en la figura No. 5

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA.

Los estados donde la coccidioidomycosis es endémica son: **California, Arizona, Nuevo México, Nevada y Utah**, lugares donde el 20% de la población norteamericana reside. Las áreas afectadas en Nevada, Nuevo México y Utha aún no están bien definidas (136,146,166).

En California, las infecciones han sido adquiridas desde tan al norte como el Condado Tehama hasta tan al sur como San Diego. En esta última ciudad se ha revelado que el 9.7% de estudiantes del 9 grado (equivalente al tercero de secundaria) ya han estado expuestos a C. immitis y que el 7% de aquellos que han residido en San Diego toda su vida tienen una respuesta intradérmica positiva (26).

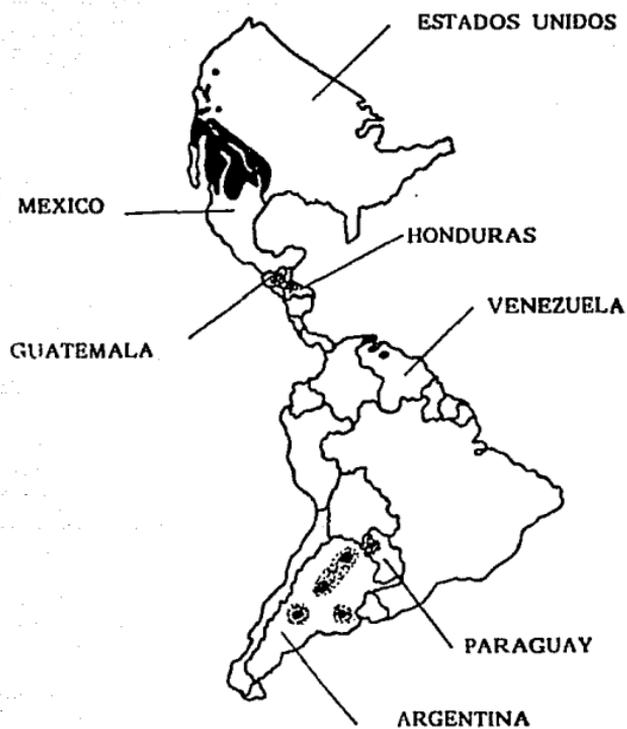


FIG. 5. Distribución geográfica de *C. immitis* y sitios donde la coccidioidomycosis es usualmente adquirida. (146)

En Arizona, el primer caso de coccidioidomicosis se reportó en 1937 y desde entonces ha sido reconocida como una importante región coccidioidal. Las infecciones en este estado, incluyen no sólo al creciente número de inmigrantes sino también a poblaciones estables de indios americanos que viven en las reservaciones. Entre los indios Piman y San Carlos Apache la enfermedad diseminada y muerte por coccidioidomicosis ha disminuido en 67 y 71%, respectivamente. Esta observación proviene de un estudio con duración de 22 años y dividido en dos períodos, cada uno de 11 años. En el mismo estudio se menciona que el mejoramiento en la casa-habitación y condiciones de trabajo son las responsables de tal disminución y que no hay evidencia que señale a los factores genéticos como los probables responsables de la declinación en morbilidad y mortalidad por la coccidioidomicosis disemina en los indios que tan frecuentemente han sido considerados como susceptibles a la infección fungal (142).

Las estimaciones basadas en exámenes de pruebas intradérmicas sugieren que de 25,000 a 100,000 nuevas infecciones coccidioidales se registran anualmente en los Estados Unidos de América y que de esta cantidad sólo 35,000 corresponden al estado de California (26,63,113,136,146). Los casos sintomáticos reconocidos en diferentes individuos significan en promedio de 33-35 días perdidos de trabajo (o escuela) y el costo estimado para los Estados Unidos es casi de un millón de personas-día labor además de que se requieren aproximadamente \$9 millones anuales en atención médica (113,146).

Algunos datos del periodo 1970-1976 señalan que la proporción casos fatalidad para la coccidioidomicosis en el diagnóstico primario y secundario es de 1,3% / 4.4%; la proporción hombres/mujer entre los pacientes, para el diagnóstico primario, es de 4:1 y la incidencia específica de edad demostró una máxima preferencia por adultos de mediana edad y bajas proporciones de niños. Estos datos hacen pensar que la tendencia observada en esos años continuará por algunos años más. Los factores que pueden contribuir a la elevación de esta tendencia son:

- a) Elevación en el número de personas con las condiciones médicas y que parecen tener una predisposición a la enfermedad;
- b) Creciente migración de personas susceptibles a zonas hiperendémicas del hongo; y
- c) Elevada acumulación de poblaciones (69).

MEXICO

González Ochoa describió las tres zonas endémicas de México (81,82,83,84). Estas zonas, determinadas principalmente por resultados con pruebas intradérmicas con coccidioidina, son conocidas como:

Zona norte

Incluye la mitad del norte de Baja California, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas y los estados adyacentes al sureste endémico de los Estados Unidos de América, con una incidencia de la reactividad cutánea que disminuye del oeste hacia el este.

Zona Litoral del Pacífico.

La zona norte está ligada al oeste con la del litoral del Pacífico a través del estado de Sonora y continuando en Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán y partes de Guerrero. También en esta misma zona se observa la misma disminución en la incidencia de reactivos a la coccidioidina.

Zona Central.

La gran zona norte desciende por el centro del país constituyendo una tercera zona, la central. La zona central comienza en Coahuila y se extiende a Nuevo León y noreste de Durango. Al este se continúa por el estado de San Luis Potosí y sigue por el estado de Guanajuato para terminar en los límites de Michoacán. Aquí la incidencia es de norte a sur (fig. 6).

Además, también se describen dos microáreas tropicales que presentan una ecología diferente y están situadas una alrededor de Arcelia, Gro., y la otra alrededor de Apatzingán, Mich. (81,82,83,84).

Las condiciones ecológicas de semiaridez necesarias para la existencia de C. immitis se presentan en las tres zonas endémicas en México. Para las microáreas, ubicadas en zonas tropicales, las condiciones climatológicas son diferentes. No obstante esto, en ambas zonas existen índices de sensibilización a la coccidioidina de 10-30% además de que se han registrado casos autóctonos de la enfermedad (81,82,83,84).



- Zonas no endémicas.
- Zona endémica con el 5-9.9% de casos.
- Zona endémica con el 10-29.9% de casos.
- Zona endémica con el 30% o más de casos.
- Zona no explorada.

FIG. 6. Distribución geográfica estimativa de la sensibilidad a la coccidioidina en la República Mexicana en 1966 (84).

En la actualidad en México no se han hecho estudios epidemiológicos para definir la importancia médico-clínica de la enfermedad coccidioidal. Así, es notoria la falta de datos estadísticos para definir el papel de la coccidioidomycosis no sólo en el área del Sector Salud sino también en el económico y social de la región norte del país.

Es probable que algunas, o muchas, de las infecciones coccidioidales sean adquiridas en los Estados Unidos cuando la gente emigra a buscar trabajo como braceros. Una infección de este tipo fue reportada por Cicero en 1932 (81,82,83,84). Sin embargo, en el presente no se tienen datos que apoyen esta hipótesis. Es aquí donde se resalta la importancia del historial clínico-epidemiológico para determinar si la infección es adquirida en la zona endémica de los Estados Unidos de América o en la región natal de tales personas.

AMERICA CENTRAL

Los casos clínicos y reconocidos de coccidioidomycosis en América Central son pocos. En los pueblos de Zacapa y Gualan, en el noreste de Guatemala, las pruebas intradérmicas producen reacciones hasta en el 25.5% de la población. En Honduras, la reactividad intradérmica produce el 17.5% de reactores en el Valle Comayagua. En Nicaragua únicamente se ha reportado un caso de coccidioidomycosis humana (146).

AMERICA DEL SUR.

Argentina, primer país donde fue reconocida la enfermedad, se ha reportado el asilamiento de C. immitis del suelo de las provincias de San Luis y Mendoza en la Argentina Central (18,63,146). En Paraguay, las pruebas intradérmicas revelan un 16-44% de reactores a la coccidioidina entre personas de las regiones sur-noreste del Chaco (63,146).

Venezuela, reconocida como un foco endémico desde 1949 y actualmente con la mayor incidencia y prevalencia de coccidioidomicosis en América del Sur, se ha producido una gran variedad de formas clínicas de la enfermedad en muchos de los estados del noreste de Zulia, Falcón y Lara. Aproximadamente el 46% de individuos, en una área de Lara, son reactivos a la coccidioidina (63,146). La evidencia de que la coccidioidomicosis pueda ser endémica se ha sugerido y la demostración de un 3.3-6.3% de reactividad a la coccidioidina en el área de Guajira y Maglena apoyan esta sugerencia (63,146). Algunos casos se han reportado en Bolivia y Ecuador (82,63,146,166).

Las infecciones adquiridas o reconocidas fuera de las áreas endémicas por la presencia de C. immitis nativo, de esas tierras, no ha sido confirmada micológicamente. Las infecciones coccidioidales confirmadas fuera de las áreas endémicas del Continente Americano pueden ser atribuidas a productos contaminados de las áreas endémicas, a la presencia del paciente en las áreas endémicas o a la exposición de los laboratoristas a cultivos de C. immitis. Tales casos se han presentado en Gran Bretaña, Italia, Bélgica, Alemania Occidental, Hawai y China (63,80,146,166).

En las áreas endémicas, cuando se producen exposiciones generalizadas, aproximadamente el 60% de personas infectadas con C. immitis tienen un encuentro asintomático reflejado generalmente por una prueba positiva a la coccidioidina. El 40% de individuos que presentan síntomas de 1-3 semanas después de la exposición, desarrollan una enfermedad benigna y sólo el 0.5-1% presentan la enfermedad extrapulmonar que puede involucrar a algún órgano del cuerpo, a uno o más sitios, a excepción del corazón y tracto gastrointestinal que raramente se involucran. La diseminación y la enfermedad fatal es mucho más común en el hombre, mujer embarazada, pacientes inmunocomprometidos y razas de piel oscura (esto será discutido en el capítulo de susceptibilidad) (63, 113, 146, 166).

PREVENCIÓN.

En la actualidad, existen algunas medidas que pueden ser tomadas en cuenta para la prevención o control de la enfermedad. Algunas son prácticas, algunas más prometedoras y otras especulativas.

Una manera sencilla para prevenir la coccidioidomicosis es evitar respirar el aire contaminado de artroconidias. Así las personas que tengan un riesgo extremadamente alto de diseminación (por ejemplo: mujeres embarazadas y pacientes inmunocomprometidos) deben evitar las áreas de alto riesgo. Otra medida es la aplicación de fungicidas (1-cloro-2-nitropropano) en el suelo aunque los resultados han demostrado que tiene un valor muy limitado en la prevención de la enfermedad (65).

También cuando C. immitis se ha establecido en el hospedero y se encuentra en su forma de esférula, existen dos alternativas para prevenir la diseminación. En primer lugar, la esférula puede ser inducida a un rompimiento prematuro y entonces liberar a las endoesporas inmaduras que son incapaces de sobrevivir. O bien, en segundo término, inhibir el rompimiento de la esférula y entonces se previene al hospedero a la exposición de millares de nuevos microorganismos. Sin embargo, ninguna de estas medidas son practicadas actualmente (65).

Las endoesporas son la fase más vulnerable del ciclo celular de C. immitis. Por ello es que los estudios de susceptibilidad con drogas antifungales incluyen esta fase de crecimiento del mohc. Se ha propuesto que si la matriz fibrilar, que encajona las endoesporas jóvenes, pudiera ser inducida a desaparecer en un punto temprano de la morfogénesis entonces las endoesporas pudieran

estar más propensas a morir por fagocitosis (65).

Algunas investigaciones se han dirigido hacia la obtención de una vacuna que proteja sustancialmente contra la enfermedad coccidioidal. Los experimentos en animales señalan que la fase esferular es superior a la fase micelial como vacuna inmunogénica (146). El crecimiento y desarrollo de las esférulas está asociado con una elevada inmunogenicidad y al parecer los principales inmunógenos residen en la pared esferular. Los componentes asociados con la protección y la inmunidad mediada por células después de la vacunación son muy termolábiles y el uso de adyuvante de Freund disminuye la inmunogenicidad (146).

La vía de vacunación es muy importante; la vacunación intramuscular o subcutánea parecen ser mejores que la intravenosa, intranasal o cojinete plantar. El objetivo de la vacunación no es prevenir la infección sino más bien incrementar la respuesta inflamatoria temprana para un subsecuente reto con partículas viables; para disminuir la multiplicación in vivo de los retos, un efecto detectado poco después del reto; para prevenir la diseminación extrapulmonar y para prevenir la muerte (146).

La vacunación ha mostrado ser protectora en los modelos experimentales para varias especies de animales, incluyendo: ratón, cobayos, perros y monos. La resistencia engendrada por vacunas preparadas de una cepa de C. immitis protege contra retos de una amplia variedad de cepas del hongo de diversas características morfológicas (146).

Las vacunas inactivadas por formalina no previenen la infección pero reducen el riesgo de progresión y, eventualmente, la diseminación (65). También se ha probado que una vacuna subcelular obtenida con esférulas muertas por formalina provee un efecto protector proporcional a la dosis de extracto subcelular administrado. Se observa una protección substancial de cerca del 80% de sobrevivencia de ratones a retos intranasales de 1000 artroconidias a dosis de 0.55 y 1.1 mg peso seco del extracto subcelular (118).

Se ha evaluado al antígeno de la pared celular soluble en agua y álcali del micelio de C. immitis (C-ASWS-M) como una potencial vacuna. Los estudios con el extracto C-ASWS-M en adyuvante completo de Freund revelan que se confiere un nivel significativo de protección (83% de sobrevivencia) a ratones vacunados con 1mg del extracto en retos intranasales de 50 y 500 artroconidias (106).

Los experimentos que incluyen la vacunación en humanos son pocos y los efectos colaterales, reportados, son mínimos (146). En la población con prueba dérmica negativa a la coccidioidina, consisten de induración local, hinchamiento y adenopatía axilar en algunos casos. Sólo algunos voluntarios con prueba dérmica positiva y que recibieron la vacuna desarrollan fiebre. La dosis tolerable máxima es de 5 mg. Pocas conversiones de pruebas dérmicas (o transformación linfocitaria) o producción de anticuerpos son producidos en los receptores aunque esto no puede ser significativo en términos de protección (146).

INMUNIDAD.

La respuesta inmune es primordial para la defensa del hospedero contra la artroconidia de Coccidioides immitis que ha sido inhalada por el tracto respiratorio. El pulmón es el principal órgano donde la mayor cantidad de eventos inmunológicos se llevan a cabo para controlar la incipiente infección. En la mayoría de las ocasiones los mecanismos de defensa del pulmón son tan eficientes que la infección resultante es asintomática y subclínica. Sin embargo, la secuela de una enfermedad sintomática regularmente se expresa como neumonías subagudas y sólo una pequeña cantidad de pacientes (0.5-1%) desarrollan dificultades pulmonares persistentes o lesiones coccidiales destructivas en alguna otra parte del cuerpo. Así, aunque muchos pacientes son capaces de limitar la infección a través del sistema inmune, algunos otros, la mayoría, no desarrollan la inmunidad requerida para controlar la micosis por lo que tienden a presentar la enfermedad en su forma diseminada. Si bien, la inmunología de C. immitis aún no está bien comprendida, en este capítulo se expondrán los conocimientos actuales del sistema inmune en la enfermedad.

Antigenicidad.

Desde hace mucho tiempo se ha reconocido a la pared celular del micelio y de la esférula como fuentes de antígenos capaces de estimular la formación de anticuerpos que protejan contra la infección coccidioidal.

Del mismo modo, la existencia e similitudes y diferencias en la composición química de las estructuras que son parte del ciclo de vida de Coccidioides immitis, presupone la existencia de antígenos comunes en la fase saprófita y parasitaria del moho. Estas diferencias y similitudes son estudiadas en el presente apartado, de la siguiente forma:

- I. Composición química de las paredes celulares del micelio, artroconidia y esférula así como diversos extractos del hongo.
 - II. Análisis antigénico de las diferentes fracciones derivadas del micelio y esférula.
- I. Composición química de las paredes celulares del micelio, artroconidia y esférula así como diversos extractos del hongo.

Los estudios realizados para definir la composición química de las paredes del micelio, artroconidia y esférula así como la de los extractos han demostrado la presencia de: i) Carbohidratos (monosacáridos) y N-acetilglucosamina; ii) Proteínas y Aminoácidos; iii) Lípidos; y iv) Esteroides.

i) Carbohidratos y N-acetilglucosamina.

Las paredes celulares y los filtrados del cultivo de las esférulas tienen los mismos componentes de azúcares de las células totales. Las cantidades de los azúcares neutros en las fracciones de la pared celular se han identificado por cromatografía gas-líquido (162,163,164,165).

Los principales monosacáridos, glucosa y manosa (162,163,164,165) varían en las diferentes formas de crecimiento aunque, junto con la galactosa y 3-0-metilmanosa, forman entre un 50-60% de la pared celular aislada (163). Se han detallado claras diferencias en el contenido de manosa y glucosa para las tres fracciones de la pared artroconidial: pared artroconidial externa I (OCW I) 3:1, pared artroconidial externa II (OCW II) 1:2 y pared artroconidial interna (ICW) 1.3:1 (34).

La mayor concentración de 3-0-metilmanosa en las paredes celulares de esférulas y artroconidias contrastan con la pared celular del micelio (tabla 5) (163). Para la artroconidia la mayor cantidad se presenta en ICW (tabla 6) (34). Si bien 3-0-metilmanosa es un componente menor de las paredes es posible que pueda ser considerado específico de C. immitis (165). En ese estudio, los extractos alcalinos y ácidos de las paredes celulares del micelio, producen heteromananos similares en composición química y actividad biológica a los heteromananos parcialmente 3-0-metilados. La actividad biológica asociada a la presencia de 3-0-metilmanosa y manosa se relaciona con las fracciones activas para la prueba intradérmica y las activas serológicamente.

TABLA No. 5 Comparación de la composición relativa de azúcares de las paredes celulares de micelio, artroconidia y esférulas de Coccidioides immitis (163).

AZUCAR	PARED CELULAR (% DE TOTAL)			
	Artroconidia	Esférula	Micelio	
3-0-metilmanosa	7	8 ^a	2 ^b	5 ^c
Manosa	42	27	42	35
Galactosa	17	Trazas	3	3
Glucosa	35	66	55	58

^aCrecido en medio glucosa-Converse.

^bCrecido en medio manitol-Converse.

^cCrecido en medio glucosa-Converse.

(El medio Converse está definido químicamente por: glucosa, acetato de amonio, KH_2PO_4 , Mg SO_4 , NaCl , NaHCO_3 , CaCl_2 , Zn SO_4 , y el detergente N-TAMOL).

TABLA No. 6. MONOSACARIDOS DE LAS FRACCIONES DE LA PARED
ARTROCONIDIAL DE COCCIDIOIDES IMMITIS (34).

Monosacárido	Fracción de la pared artroconidial ^a		
	Externa ^b		Interna ^c
	I (%)	II (%)	(%)
Manosa	65	30	46
Glucosa	23	59	35
Galactosa	12	8	7
3-0-metilmanosa	1	3	12

^aValores expresados como porcentajes de carbohidratos totales determinados por cromatografía de gas-líquido.

^bEl aislamiento de las fracciones de la pared externa se realizó por ultrasonificación y un subsecuente proceso de rasurado de las artroconidias en un fraccionador Ribi para obtener la fracción I. La fracción II se obtuvo de manera semejante utilizando las artroconidias rasuradas de la fracción I.

^cLas artroconidias rasuradas son homogenizadas usando cuentas de cristal. La suspensión resultante fue centrifugada y el paquete conteniendo la fracción de la pared conidial interna (ICW) fue lavada y sonificada.

En recientes investigaciones se han reportado la presencia de pequeñas cantidades de compuestos tentativamente identificados como pentosas, tetrasas, triosas, fucosa y ramnosa. Todos ellos pueden ser considerados como productos de la degradación oxidativa alcalina a la que se someten los azúcares (162,165).

La N-acetilglucosamina, un importante amino-azúcar presente en forma de quitina, es uno de los principales constituyentes de la pared celular de esférulas y micelio. Estas estructuras contienen más glucosamina que la pared artroconidial (tabla 8). Aunque las cantidades de N-acetilglucosamina y proteína son parte de un 40-50% de la pared celular aislada, es posible que la N-acetilglucosamina esté presente en una forma distinta a la quitina o, alternativamente, en una forma semejante al cruzamiento quitina-péptido que se solubilizará cuando una porción de todos los péptidos se digieren por pronasas (163,168).

No obstante que la pared artroconidial exhibe bajas cantidades de glucosamina, se ha observado que la pared artroconidial interna presenta la mayor concentración de este compuesto, en tanto, la fracción II de la pared artroconidial externa tiene la menor (34).

El efecto de la quitinasa en la estructura de la pared esférica limita la actividad inmunizante de las vacunas subcelulares contra la infección coccidiodal. La demostración de los anticuerpos precipitantes tempranos (IgM) en suero humano fuesen absorbidos por los fragmentos de la pared digerida por quitinasa hace pensar que los componentes no quitínicos son significantes en la inducción de los anticuerpos tempranos. Así mismo, la pérdida de actividad inmunizante sugiere que el antígeno protector y el precipitógeno son estructuras diferentes (118).

ii) Proteínas y Aminoácidos.

Al comparar las paredes celulares de la artroconidia, esférula y micelio es interesante resaltar que la pared de la artroconidia contiene 1.5 veces más proteína que la pared micelial y tres veces más que la pared esférular (Tabla 7). Las proteínas y la N-acetilglucosamina componen el 40-50% de pared celular aislada (163). En la artroconidia la principal fuente de proteínas se encuentra en OCW I (34).

Un estudio realizado por Wheat y colaboradores (163) señala que la pared artroconidial no contiene aminoácidos derivados del azufre (cisteína y metionina), tirosina y casi nada de prolina mientras que las paredes del micelio y esférula contienen los más altos niveles de prolina (Tabla 8). Sin embargo, más recientemente, se han mostrado la presencia de esos aminoácidos azufrados (34). Ese trabajo indica que el ácido glutámico fue el aminoácido predominante en la OCW II y para la OCW I son la leucina, fenilalanina, valina, isoleucina, ácido aspártico y lisina mientras que para la ICW se observa un bajo contenido de lisina y alto de histidina. Se ha sugerido que los mananos y proteínas pueden servir para mantener las capas de la pared celular juntas (89).

iii) Lípidos.

R.W. Wheat y colaboradores (163) han proporcionado datos comparativos del contenido de lípidos para varias formas de crecimiento de C. immitis. Observaron la presencia de pequeñas cantidades de lípidos en la fase micelial en comparación a los niveles lipídicos de la artroconidia y esférula. Al mismo

TABLA No. 7. EFECTO DE LA DIGESTION CON PRONASA EN EL CONTENIDO DE AMINOACIDOS DE LAS PAREDES CELULARES DE COCCIDIODES IMMITIS (163).

Fuente del material de la pared celular	Efecto de Pronasa (% peso seco)	
	Aminoácidos	
	Antes	Después
Artroconidia	37	28
Micelio ^a	60	18
Esférulas	52	9

^aCrecida en medio Manitol-Converse.

TABLA No. 8. CONTENIDO COMPARATIVO DE AMINOACIDOS Y GLUCOSAMINA EN LAS PAREDES CELULARES DE COCCIDIODES IMMITIS DESPUES DEL TRATAMIENTO CON S D S Y DIGESTION DE PRONASA (163).

Compuesto	<u>umol/umol de ácido aspártico^a</u>		
	Esférulas	Micelio	Artroconidia
Acido aspártico	1.0	1.0	1.0
Treonina	0.8	1.1	0.6
Serina	0.8	0.1	0.6
Acido glutámico	1.0	1.0	0.8
Prolina	1.0	1.1	0.1
Glicina	1.2	1.1	1.2
Alanina	1.0	0.8	0.8
Valina	0.5	0.6	0.9
Cistina	0.2	0.9	0.0
Metionina	0.2	0.0	0.0
Isolueucina	0.5	0.5	1.0
Leucina	0.8	0.7	1.5
Tirosina	0.2	0.7	0.0
Fenilalanina	0.7	0.4	1.0
Lisina	0.8	0.3	0.3
Histidina	0.3	0.2	0.3
Arginina	0.7	0.4	0.3
Glucosamina	21.0	12.5	4.4

^aAcido aspártico (micromoles por miligramo): esférulas, 0.06; micelio, 0.12; artroconidia, 0.21. Glucosamina (micromoles por miligramo): esférulas, 1.27; micelio, 1.51; artroconidia, 0.92.

tiempo definieron la influencia del medio de crecimiento en la producción de lípidos y cantidades relativas de ácidos grasos, glicéridos, fosfolípidos y glicolípidos en las diversas estructuras del hongo (tabla 9). Sin embargo, sólo se reportan diferencias cuantitativas en la composición de ácidos grasos, que forman un 15-25% de los lípidos totales, mientras que los glicéridos pueden formar parte de un 50% del total de lípidos.

El análisis de la composición de lípidos para la artroconidia ha puesto de manifiesto que forman uno de los principales constituyentes de la fracción OCW I. En contraste, OCW II tiene aproximadamente la mitad del contenido de lípidos. Esto sugiere que pocos lípidos se encuentran libres en la fracción OCW II probablemente porque están asociados con algún material de la pared tales como componentes globulares y fibrosos. También se observa que existe una relación inversa entre las cantidades de lípidos fácilmente extraíbles y aquellos enlazados en las capas de la pared artroconidial externa (aprox. 2:1) e interna (aprox. 1:3). El elevado porcentaje de lípidos enlazados en ICW puede ser indicativo de una asociación con complejos estructurales que contribuyen a la rigidez de la capa de la pared interna. En relación al contenido de ácidos grasos se deduce que el ácido palmítico, esteárico y oléico son los predominantes (34).

Por otro lado, la presencia de lípidos se ha correlacionado con la virulencia de C. immitis (6). El estudio comparativo de lípidos en el micelio y artroconidia de la cepa RS (virulenta) y de la cepa mutante 95 (avirulenta) de C. immitis difiere, presentando la mayor diferencia en la artroconidia. La artroconidia, de la cepa RS se caracterizó por un mayor contenido de lípidos totales

TABLA No. 9. IDENTIFICACION TENTATIVA Y PRINCIPALES ESTERES DE ACIDOS GRASOS OBTENIDOS DE VARIAS FORMAS DE CRECIMIENTO DE COCCIDIOIDES IMMITIS. (163).

<u>Fuente de lípidos (% en peso de ésteres de ácidos grasos totales)</u>			
<u>Esteres de ácidos grasos</u>	<u>Artroconidia</u>	<u>Esférulas^a</u>	<u>Micelio^b</u>
Miristato	0.3	0.5	0.3
Palmitato	14.1	19.1	15.3
Palmitoleato	0.6	0.5	0.8
Esterato	16.2	9.4	7.2
Oleato	56.8	16.8	39.7
Linoleato	8.1	50.0	32.6

^aMedio de crecimiento glucosa-Converse.

^bMedio de crecimiento manitol-Converse.

(casi 15% más de lípidos libres y 39% más de lípidos enlazados) y un mucho menor contenido de ácido oléico (30%) mientras que la cepa 95 promedió un 79% de ácido oléico y 33% más de ácido graso C-20:1. Los lípidos totales del micelio de la cepa 95 son 13.5% más abundantes que los de la cepa RS y los tipos de lípidos, para ambas cepas, son muy semejantes. Los principales fosfolípidos identificados para las dos cepas son: fosfatidil colina, 21%; fosfatidil etanolamina, 17%; esteroides, 26% y cardiopina, 31%. Por todo lo anterior, se cree que el alto contenido de lípidos en la artroconidia, cepa RS, puede ser un factor importante en la capacidad del hongo para iniciar la infección. Existe la posibilidad que un alto contenido de lípidos puedan ayudar a proteger al microorganismo contra los ataques por los mecanismos de defensa del hospedero.

iv) Esteroides.

En realidad poco se conoce de los esteroides de C. immitis. En la literatura existen pocos reportes que hacen mención a ellos. En un estudio comparativo de lípidos del micelio y artroconidias de cepas virulentas y avirulentas para los ratones se reporta la presencia de un esteroide desconocido (6). La cepa avirulenta contiene tres veces más esteroide que la virulenta. Posteriormente, observaron un esteroide no identificado en el micelio y artroconidias del mismo hongo (163). Uno de los más recientes estudios ha identificado al $\Delta^{(9-11)}$ -dehidroergosterol y al ergosterol como los esteroides desconocidos en C. immitis. El ergosterol y $\Delta^{(9-11)}$ -dehidroergosterol se detectaron como ésteres de ácidos grasos en proporciones aproximadas de 3:1 y se cree que el último

mencionado es un producto metabólico (88). Una investigación más reciente confirmó la presencia del ergosterol, principalmente en las fracciones de la atroconidia externa I y II (34). Se ha propuesto que la presencia de los esteroides en C. immitis puede relacionarse a la susceptibilidad de este organismo al antibiótico polieno, anfotericina B (88).

II. Análisis antígeno de las fracciones derivadas del micelio y esférula.

La coccidioidina (material crudo preparado del filtrado del cultivo de la fase micelio-arthroconidia de C. immitis) y la esferulina (fracción soluble liberada por las esférulas de C. immitis producidas in vitro y entonces lisadas por incubación con agua estéril por varios días) son utilizadas como reactivos para las pruebas intradérmicas y serológicas (56,92,93,168).

La comparación de las preparaciones ha revelado que la esferulina es igualmente específica pero más sensible que la coccidioidina como reactivo de prueba en piel (56,78,135) pero la esferulina es menos específica que la coccidioidina en pruebas serológicas (92).

Como la esferulina y la coccidioidina son preparaciones crudas, indudablemente contienen múltiples antígenos. El análisis de la composición antigénica de cada uno de ellos ha revelado no sólo diferencias entre ellas sino también antígenos comunes con otros hongos patógenos productores de micosis sistémicas.

En 1978, Huppert y colaboradores (93) establecieron un sistema de referencia (coccidioidina-anti-coccidioidina) para la coccidioidomicosis y demostraron 16 antígenos únicos para la coccidioidina, 2 para la esferulina y 10 antígenos comunes para ambas preparaciones. Así mismo, indicaron que los antígenos A y B de la esferulina pueden estar presentes en la coccidioidina sólo que en concentraciones muy bajas para ser detectadas por el método utilizado.

Un año después (96), el mismo equipo demostró la presencia de antígenos comunes entre los hongos productores de micosis sistémicas. Al manejar diversas preparaciones antigénicas de Histoplasma capsulatum, Blastomices

dermatitidis y Coccidioides immitis, para realizar su correspondiente análisis, observaron la presencia de 5 antígenos comunes para los extractos usados en ese estudio (tabla 10). Al mismo tiempo pusieron de manifiesto las diferencias cualitativas y cuantitativas en los compuestos antigénicos de las preparaciones de cada especie, por ejemplo: la esferulina contiene mucho más antígeno 12a que la coccidioidina (96). En la coccidioidina se ha detectado que el antígeno F, responsable de la precipitación en la prueba de inmunodifusión del anticuerpo fijador de complemento (IDCF), corresponde al antígeno 3 (50).

Los extractos de la pared celular de C. immitis solubles en agua y álcali, designados C-ASWS, han sido objeto de recientes estudios cuya finalidad ha sido definir el espectro antigénico que poseen. Los progresos en esas investigaciones son evidentes, prueba de ello es que los extractos miceliales y esferulares C-ASWS-M y C-ASWS-S, respectivamente, han demostrado contener dos antígenos distintos: el antígeno 2, que anteriormente había sido detectado y que se asocia con la pared celular de *Aspergillus* y esferulas (168), y el antígeno IPA (antígeno precipitante incompleto) (47,49). Así mismo, la distribución cuantitativa de los antígenos difiere en cada extracto, por ejemplo, para C-ASWS-S existe más del doble de antígeno 2 que en C-ASWS-M, mientras que este último extracto contiene más antígeno IPA (46,47). La función serológica del antígeno IPA como componente reactivo de la coccidioidina y de los extractos C-ASWS está ligada al anticuerpo precipitante IgM. La afinidad del IPA por la concanavalina A y su parcial susceptibilidad a la oxidación periódica sugieren una composición predominante de carbohidratos (49).

TABLA No. 10. ANTÍGENOS COMUNES ENTRE PREPARACIONES SOLUBLES DE ALGUNOS HONGOS CAUSANTES DE ENFERMEDADES SISTÉMICAS (96).

C. immitis			H. capsulatum			B. dermatitidis	
C	S	C-ASWS	75-0105	H42	H-ASWS	KCB26	B-ASWS
1	-	-	1	-	-	1	-
2	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	7	-	7	-
8	8	-	-	8	-	8	-
9	9	-	-	9	-	9	-
10	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-
12a	12a	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-
15	-	15	-	-	-	-	-
16	16	16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	17	-
18	18	18	18	18	18	18	18
19	19	19	19	19	19	19	19
20	20	20	20	20	20	20	20
21	-	-	-	-	-	21	-
22	-	-	-	-	-	-	-
23	23	23	23	23	23	23	-
24	-	-	-	-	-	-	-
25	25	25	25	25	25	25	25
26	26	26	26	26	26	26	26
-	A	-	-	-	-	-	-
-	B	-	-	-	-	-	-

C, coccidioidina; S, esferulina; ASWS, extracto soluble en agua y álcali de las paredes celulares. (los números pertenecen al sistema de numeración empleado por Huppert para las bandas detectadas en la inmunolectroforesis bi-dimensional).

Un análisis comparativo por inmunoelectrotransferencia de la fase micelial y esférula-endoesporulante ha aportado mayor información sobre las características antigénicas de cada uno de ellos (168). Las principales conclusiones obtenidas por los autores son:

- a. Las múltiples bandas observadas en la inmunoelectroforesis y electrotransferencias de proteínas con filtrados del micelio y esférula-endoesporulante confirman las diversas actividades antigénicas reportadas anteriormente.
- b. Aunque la correlación de una banda inmuno reactiva con una función conocida es difícil, se aporta evidencia de que la banda de 48 kD, banda teñible con plata, reacciona más fuertemente con el suero fijador de complemento, detectado por anti-IgG e -IgE. Esta banda, presumiblemente de composición proteica, se destruye por calentamiento.
- c. Existen mayores bandas inmuno reactivas detectadas por la técnica de inmunoelectrotransferencia pero que no son demostrables por la tinción de plata. Esas bandas incluyen dobletes en el área de 50-65 kD, las que son particularmente más reactivas con sueros positivos a la prueba de inmunodifusión de precipitinas en tubo (IDTP) por anti-IgM. Probablemente esas bandas están compuestas por carbohidratos.
- d. Se sugiere que la respuesta de IgM observada en la coccidioidomicosis temprana es producida por la secreción o cambio de antígenos de la pared celular. Sobre la base de aparición temporal de la actividad fijadora de complemento y de las subunidades proteínicas correspon-

dientes a 48 kD (presentes sólo en lisados o rompimientos de la pared celular) se propone que las subunidades proteínicas (o un polímero precursor) es un derivado del citoplasma.

Calhoun y colaboradores (30) han demostrado una banda inmuno reactiva de 100 kD que correlaciona con la actividad del antígeno precipitante en tubo (TP). El antígeno de 100 kD parece ser un monómero porque su peso molecular permanece constante bajo condiciones tanto de desnaturalización como no desnaturalizantes. Sin embargo, no se excluye la posibilidad de que esta fracción sea un constituyente de una gran molécula in vivo.

Por otra lado, se ha señalado la importancia del exoantígeno termoestable (HS) como específico de C. immitis (61,94,101). Ese exoantígeno se encuentra en el 100% de los filtrados del cultivo de C. immitis y en ninguno de los extractos derivados de hongos heterólogos incluyendo H. capsulatum, B. dermatitidis y varios saprófitos productores de artroconidias.

Cox y colaboradores (48) creen que el exoantígeno HS corresponde al componente de la coccidioidina que fue designado como antígeno 11.

Recientemente, se ha demostrado que la fracción OCW II contiene antígenos que son reconocidos por el anti-suero anti-coccidioidina. La mayoría de los antígenos se encuentran en la capa de la pared interna (ICW) lo mismo que en las vacuolas citoplásmicas y en el plasmalemma.

Sin embargo, se cree que los antígenos asociados a la vacuola y plasmalemma son componentes inmunológicos distintos de OCW II o, alternativamente, en el caso de la pared interna y plasmalemma se sugiere la presencia de algunos

componentes antígenos enlazados estructuralmente.

También se han detectado antígenos presentes en el espacio intermural entre las capas de la pared interna y externa. Estos componente, presumiblemente, son liberados al medio circundante una vez que la pared externa se remueve. La pared artroconidial externa puede enmascarar los sitios inmonoreactivos en la superficie celular. Los estudios antigénicos de la fracción OCW II demuestran reactividad con los anticuerpos precipitantes en tubo y los fijadores de complemento. Los antígenos 18 y 23, en el sistema de numeración de Huppert y colaboradores (93,96), se creen son los antígenos que dan origen a la formación de los anticuerpos fijadores de complemento. Finalmente, se demostró que OCW II es inmunoreactivo con los linfocitos inmunes (35).

En la figura (7) se presenta a la artroconidia con la posible ubicación de los antígenos clínicamente importantes.

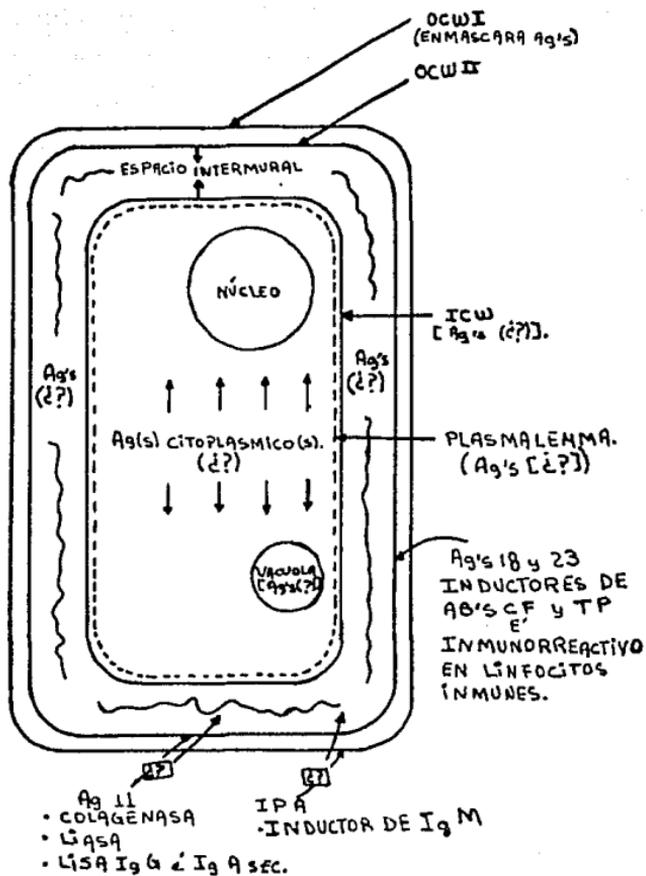


FIG. (7) Representación de la estructura antigénica de la arthroconidia y la posible ubicación de algunos antígenos clínicamente importantes -para mayores detalles consultar Análisis Antigénicos de las Fracciones Derivadas del Micelio y Esférula-.

INMUNODIAGNOSTICO

La identificación de los cultivos de C. immitis ha sido facilitada por los estudios de Kaufman y Standard (101,102,144,146). Estos investigadores establecieron que el micelio de C. immitis produce un exoantígeno termoestable (HS) que es específico para el hongo. La determinación del exoantígeno HS es acompañada por la inmunodifusión del filtrado del cultivo de la fase micelial contra un sistema de referencia coccidioidina-anticoccidioidina.

En una gran serie de estudios, los investigadores (61,94,101,144,146), han establecido que el exoantígeno HS es demostrable en el 100% de los cultivos y que es específico del hongo. Así mismo, han revelado que C. immitis también produce el antígeno termoestable reactivo en la prueba de inmunodifusión de precipitinas en tubo (IDTP) más carece de valor en la inmunoidentificación de los cultivos de este hongo patógeno porque también es producido por hongos saprófitos (102). Cox y colaboradores (48) sospechan que el antígeno HS corresponde al componente de la coccidioidina que fue designado como antígeno II.

Por último, existen en el comercio equipos para identificar los cultivos a través del exoantígeno. Esos equipos han demostrado sensibilidad y especificidad para el hongo, por lo que se recomienda su uso (138).

SECUENCIA INMUNE

Después de la inhalación de la artroconidia se desarrolla un ciclo morfológico muy diferente al observado en la fase saprófita del hongo.

La artroconidia tiene el tamaño óptimo (2 a 5 μ m) para vencer las primeras líneas de defensa pulmonar: el transporte mucociliar en las vías respiratorias superiores y los inhibidores químicos en la capa mucoide (100,146). La respuesta inmune inicial del hospedero a la artroconidia en las vías respiratorias bajas es un ingreso a la zona de macrófagos (M ϕ) y leucocitos polimorfonucleares (PMNL's) acompañados de una respuesta inflamatoria (63,113,146,156). La función de los PMN's y M ϕ en los mecanismo de defensa del hospedero recientemente ha sido tema de investigación, de ellas se desprenden las siguientes conclusiones: (a) los PMN's representan la primera línea de defensa del hospedero para retardar la proliferación fungal.

El ingreso de los PMN's es independiente de las células T (33,70) mientras que el infiltrado de las células mononucleares está bajo el control directo de las células T (70); (b) los PMN's poseen una capacidad limitada para fagocitar y eliminar a las artroconidias de C. immitis (70) aunque esto depende de la susceptibilidad intrínseca de la cepa del hongo (33,70); (c) estudios in vitro han demostrado que los PMN's tienen efectos inhibidores en la incorporación de N-acetil glucosamina a las artroconidias de C. immitis por lo menos durante 6 horas, influenciado así el metabolismo de C. immitis; tales efectos son facilitados por factores séricos termolábiles, probablemente complemento, que promueven el ataque de los PMN's (76); (d) se ha observado que existe un estrecho contacto de los PMNL's con las artroconidias además de una marcada

desgranulación (76); y (e) los estudios in vitro han demostrado que los macrófagos fagocitan a las artroconidias de C. immitis (13).

El estímulo para el ingreso de los PMNL's y M ϕ puede ser una irritación inespecífica, no obstante, algunos estudios in vitro sugieren que los antígenos de la artroconidia pueden promover la migración de los PMN's a través de los factores séricos termolábiles, probablemente por los del complemento (72,113,146,156) por activación de las vías clásica y alterna sobre el hongo (73).

Al paso de los días, las células mononucleares son más evidentes, lo que coincide con el comienzo de la conversión del hongo a la fase parasitaria (146). La evidencia in vitro indica que uno de los principales efectos de los PMN's sobre las artroconidias es la influencia directa en el dimorfismo coccidioidal. Los PMNL's y leucocitos mononucleares (MNL's) viables son las dos subpoblaciones leucocitarias probables en inducir a la artroconidia a convertirse en esférula e inhibir la reversión a la forma micelial (74). Dentro de las células mononucleares se incluyen a los linfocitos que entonces comienzan a reconocer a los antígenos fungales como extraños y los monocitos inician la conversión a macrófagos (146). El origen de las células mononucleares infiltradas aun no está definido, no obstante se considera a la sangre periférica, la red de nódulos paratraqueales, carineal e hilar, las células bronquialveolares y el tejido linfoide asociado al bronquio (BALT) como las posibles fuentes (100). Los macrófagos alveolares, probablemente en el proceso de activación, parecen ser las células centrales en las actividades defensivas contra el hongo y además pueden ser importantes en los intentos de las células mononucleares para fagocitar y restringir el crecimiento y replicación fungal (146).

Así las células mononucleares son predominantes para controlar la residencia del hongo en el cuerpo. Sin embargo, cuando las esférulas maduras se rompen para liberar endoesporas, nuevamente se monta una respuesta transitoria de PMN's, presumiblemente en respuesta a alguna sustancia estimulante liberada por el paso de replicación fungal (146). Los PMN's entonces fagocitan a las endoesporas libres (70). Una característica de la última respuesta mononuclear puede ser la presencia de linfocitos T y B sensibilizados específicamente (146).

Hay mucha evidencia que indica que los linfocitos T son esenciales para la resistencia a la infección fungal (11,12,15,16,33,60,63,113,115,146,156), mientras que las células NK no juegan un papel importante (111). Estudios en ratones han demostrado que al menos 7 millones de linfocitos T se requieren para una efectiva transferencia de resistencia a la infección (12). Así, las subpoblaciones de los linfocitos T, que inicialmente reconocieron al hongo como extraño, son capaces de reaccionar y responder cuando se confrontan nuevamente con esos antígenos fungales (146). Es así como se establecen dos mecanismos defensivos y específicos contra C. immitis, que son:

- a) Cooperación entre las células T y B en el proceso de producción de anticuerpos que probablemente regulan el proceso inmune total (146)
- b) Liberación de linfocinas por las células T. Las principales actividades de las linfocinas que han sido estudiadas son: (i) elevación de la población de las células fagocitarias localmente a través del factor

inhibidor de la migración (MIF) para los macrófagos (24,40,60,113, 146,167); (ii) activación de los macrófagos comenzando con la promoción de cambios fisiológicos y procesos bioquímicos que mejoran la función fagocitaria y eliminación de los elementos fungales (146).

Los estudios in vitro señalan que la liberación de las linfocinas (IL-2), por linfocitos esplénicos inmunes, resulta en una mejor fusión fagosoma-lisosoma en los fagocitos y en la eliminación del hongo. Así mismo, se menciona a los linfocitos T cooperadores como los responsables de la liberación de las linfocinas (16); (iii) otras linfocinas que son quimiotácticas para células inflamatorias en el sitio de infección y que amplifican todo el proceso descrito (146).

Como se ha mencionado, las células fagocitarias (PMN's y M ϕ) son las principales defensas del hospedero contra C. immitis. Después de la ingestión, el hongo está sujeto a los efectostóxicos de las sustancias microbicidas tales como lisozima, péptidos catiónicos, iones superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo entre otros (137).

Los estudios in vitro han demostrado que la lisozima tiene efectos inhibitorios en el crecimiento de la fase parasitaria de C. immitis (36,37).

En las esférulas, las concentraciones de lisozima presentes en el suero humano (18 ug/ml) son suficientes para el efecto supresor (37). El efecto se manifiesta principalmente por dos formas: a) hay una degradación de la pared en las esférulas maduras que deja una delgada capa muy próxima a las endoes-

poras y b) la lisozima induce una pérdida en la viabilidad de las esférulas maduras lo mismo que las endoesporas (36).

La liberación de grandes cantidades de lisozima por los PMN's y Mφ en las áreas circundantes a las células de C. immitis puede ser otra forma a través de la cual la lisozima ejerce sus efectos supresores (37). Se ha demostrado que las concentraciones de lisozima logradas bajo estas condiciones varían de 400-90 ug/ml y la sobrevivencia de las esférulas expuestas a 500 ug/ml por 48 horas es de sólo el 0.2% (36).

Segal y colaboradores (137) han señalado que los péptidos catiónicos, obtenidos de los granulocitos y macrófagos alveolares de conejo, son moléculas capaces de inhibir el crecimiento micelial o de eliminar a las artroconidias de C. immitis. Los péptidos antifungales más potentes son el NP-1 y NP-2 y ejercen sus efectos a concentraciones de aproximadamente 10 ug/ml en condiciones de fuerza iónica baja. El mecanismo por el cual los péptidos ejercen sus efectos antifungales aún es desconocido. Sin embargo, no se ha probado que este mecanismo opere in vivo y si existen péptidos homólogos a NP-1 o NP-2 en los granulocitos humanos o en fagocitos mononucleares (137).

Si bien, se ha demostrado que el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es producido y liberado por los neutrófilos (52) y además posee efectos inhibitorios sobre C. immitis esto no implica que sea el principal o único producto de la explosión respiratoria involucrada en la inhibición de C. immitis por los PMNL's (77). No obstante, no se ha probado una significativa producción de iones superóxido después de la fagocitosis de C. immitis por macrófagos (16). De esta manera, se necesitan más estudios para asegurar la participación de los

componentes de los lisosomas incluyendo el sistema de la mieloperoxidasa, agentes oxidantes como el ácido hipocloroso (un producto del H_2O_2 y el Cl^- en la presencia de mieloperoxidasa) y las sustancias antimicrobianas independientes del oxígeno presentes en los PMN's y M ϕ (77). Sin embargo, se ha sugerido que los mecanismos independientes del oxígeno parecen ser esenciales en la respuesta inmune contra C. immitis mientras que los oxidativos pueden no ser muy importantes en la resolución de la infección (77).

RESPUESTA HUMORAL.

La respuesta humoral específica al hongo permanece como una marca importante de la presencia de micosis en el pasado. Sin embargo, la respuesta humoral del hospedero tiene funciones inmunológicas potenciales con implicaciones directas en los mecanismos de defensa del hospedero. Es difícil juzgar la importancia relativa de los mecanismos humorales en el esquema total de los mecanismos de defensa del hospedero contra el hongo. Sin embargo, algunas inferencias tentativas pueden ser posibles después de revisar cuidadosamente la información acerca de la respuesta humoral hacia el hongo (60).

En la coccidioidomicosis, los experimentos in vitro indican claramente que el papel de los anticuerpos aún no está bien definido. No obstante, se ha deducido que el suero inmune junto con el complemento no ayudan a la eliminación intracelular de artroconidias y endoesporas por los leucocitos de monos Rhesus macaque (14) y M6 (13) aún cuando en el suero inmune existe actividad opsonica (70). El suero inmune también es incapaz de neutralizar la infectividad de 100 a 400 artroconidias (12).

La función del complemento es muy importante porque favorece la migración de PMN's en respuesta a sustancias solubles liberadas por C. immitis (72). La activación de las vías clásica o alterna se ha demostrado in vitro por la eliminación del C4 hemolítico y por la generación de los productos de la activación de los componentes C3, C4 y factor B. En pacientes que cursan una coccidioidomicosis limitada se ha observado una baja transitoria en el

complemento hemolítico total (73). La activación directa del complemento por extractos coccidioidales resulta en la generación de factores quimiotácticos en el suero de sujetos normales no expuestos. Si esto ocurre in vivo, puede favorecer la acumulación de neutrófilos y otras células inflamatorias en el foco de infección (60).

A continuación se examinará el papel de las principales subclases de anticuerpos en la inmunidad humoral a C. immitis.

- INMUNOGLOBULINA M.

Como en las infecciones causadas por otro tipo de organismos, la exposición a C. immitis causa una respuesta inicial de IgM que después es suplantada por la producción de anticuerpos IgG específicos. Una respuesta IgM temprana frecuentemente puede escapar a la detección, porque la exposición al hongo es crónica. Por eso, la detección de anticuerpos IgM para C. immitis puede ser una útil marca de micosis temprana. Sin embargo, es poca la evidencia actual que indique que los anticuerpos de tipo IgM ayuden directamente a otros mecanismos de defensa contra el hongo. No obstante, parece concebible que la interacción de IgM con los componentes del complemento pueda favorecer la generación de factores quimiotácticos, alterando la función de los linfocitos o indirectamente afectando otros aspectos del sistema inmune (60). En la coccidioidomicosis, los anticuerpos específicos IgM son detectados por las pruebas de precipitación en tubo o aglutinación de partículas de látex y su principal utilidad es diagnóstica (41,60).

En ensayos de inmunotransferencia, se ha indicado que los anticuerpos IgM se forman en respuesta a un antígeno de 100 kD. El antígeno parece ser un monómero aunque no se excluye la posibilidad que sea una fracción de una gran molécula in vivo (30).

- INMUNOGLOBULINA G.

En la infección coccidoidal, la respuesta de IgG puede ser medida por pruebas de inmunodifusión o fijación del complemento. Los títulos secuenciales de la última provee parámetros invaluable para juzgar la severidad y posible regresión o diseminación (41). Los elevados títulos de anticuerpos fijadores de complemento (CF) séricos correlacionan con la diseminación de la enfermedad y la detección de anticuerpos CF en el fluido cerebroespinal es diagnóstica de una meningitis coccidoidal (119). Cuando los títulos de anticuerpos anticoccidiales séricos se elevan y no están afectadas las meninges, cantidades bajas de IgG anticoccidiales pueden ser detectables en el fluido cerebroespinal concentrado por una prueba de inmunodifusión de los anticuerpos del suero más que por una producción local (99). La prueba de CF en un fluido cerebroespinal no concentrado es menos sensible en detectar a la IgG producida localmente (60).

Se han propuesto funciones de los anticuerpos IgG. Aunque la mayoría de ellas son negativas también puede tener algunas positivas, principalmente como opsoninas (60). Se ha sugerido que el anticuerpo CF (IgG) y el exceso de antígeno pueden actuar sinérgicamente para inducir la anergia. El

anticuerpo CF quizás actuaría potencializando la anergia (97). También se ha mencionado que el anticuerpo IgG solo o formando complejos antígeno anticuerpo puede tener un efecto adverso en el curso de la enfermedad, posiblemente por tener una retroalimentación negativa en la función de las células T (132). Más recientemente, se ha propuesto que la supresión inducida por el suero en pacientes con enfermedad coccidioidal puede ser atribuida a la IgG anticoccidiales, aunque no se conoce si suprime directamente la proliferación de los linfocitos T o solamente neutraliza el componente coccidioidal que estimula la respuesta de transformación linfocitaria. Un mecanismo alterno puede darse por anticuerpos anti-idiotipo (51).

Actualmente se ha sugerido que el antígeno que da origen al anticuerpo IgG deriva del citoplasma (168) y que tiene un peso de aproximadamente 48 kD (168) o de 100kD (30).

- INMUNOGLOBULINA E.

Los anticuerpos antifungales específicos de la subclase IgE son detectables en el suero de pacientes con coccidioidomicosis (41,44,60). Se ha establecido que los niveles de hiperproducción de IgE correlacionan con la severidad de la enfermedad en términos del sistema del órgano involucrado: el 65% de pacientes presentan tan sólo un órgano afectado (44). La hiperproducción de IgE no se limita a la IgE anticoccidioidal, se ha señalado la presencia de anticuerpos IgE reágnicos o alérgicos que pueden participar en una atopia (41,44).

Los investigadores han sugerido que existe un defecto en la población de linfocitos con funciones para regular la IgE específica del antígeno y la subpoblación con las funciones para regular la síntesis de IgE en general. Si el defecto es adquirido o preexistente no se conoce (41, 44).

Además de potenciar las reacciones de hipersensibilidad inmediata, los anticuerpos IgE han sido detectados en enfermedades crónicas en asociación con una inmunidad mediada por células deprimida (60). Sin embargo, no hay evidencia directa que apoye la relación causal entre los anticuerpos IgE y la supresión de la inmunidad mediada por células del hospedero en la coccidiodomicosis. Se propone que los anticuerpos IgE contra el hongo pueden interactuar con el antígeno y células cebadas resultando en la liberación de inhibidores de la quimiotaxis leucocitaria; esta interferencia con la respuesta inflamatoria aguda normal puede predisponer a la infección (60).

- INMUNOGLOBULINA A

Actualmente no se cree que los anticuerpos IgA puedan tener un gran papel en la respuesta inmune humoral contra C. immitis. Sin embargo, se han detectado niveles de IgA circulante significativamente elevados en pacientes con coccidiodomicosis pulmonar en oposición a los pacientes que exhiben la enfermedad inactiva o diseminada (41).

En las figs. (8 y 9), resumen hipotéticamente, los mecanismos de defensa inespecíficos y específicos, respectivamente, involucrados en la infección por C. immitis.

INMUNOEVASION.

En la actualidad, no se ha esclarecido si las anomalías inmunológicas que se presentan en la enfermedad son la causa o el resultado de la diseminación coccidoidal (63). Debido a ello, se han realizado muchas investigaciones para estudiar la naturaleza y nivel al que se presentan tales afecciones. Para este apartado, la información de las células efectoras y linfocitos T se presentará por separado.

Células efectoras (PMN's y Mφ).

Los PMN's y Mφ son las primeras células de defensa que están en contacto con el hongo y de ellas depende en gran parte la limitación o diseminación de la enfermedad.

Los estudios realizados revelan que los PMN's y Mφ poseen una limitada capacidad para fagocitar y eliminar a la artroconidia y endoesporas de C. immitis (65,70,72,112) lo que resulta en un desarrollo artroconidial intracelular a la forma de esférula (65). Tales efectos pueden ser atribuibles a varios factores, entre ellos:

- a) Características intrínsecas de susceptibilidad en las distintas cepas de C. immitis para la actividad antifungal de los PMN's (70).
- b) Fase de maduración de las formas morfológicas de C. immitis. Las endoesporas y artroconidias son más susceptibles que las esférulas a los efectos de los PMN's (77). La resistencia

esferular puede ser debido no sólo al mayor tamaño (20-80 um) sino también al engrosamiento de su pared que entonces ofrece una gran protección contra las sustancias inhibidoras de los PMN's. Otra, puede ser elevada actividad de catalasa. C. immitis es cualitativamente catalasa positivo (77).

- c) Los M ϕ son incapaces de eliminar intracelularmente a la atroconidia de C. immitis. Esto se debe a la falla de la fusión del fagosoma-lisosoma (13,15,16,65,70,72,112) presumiblemente por la presencia de la capa de la pared externa hifal (HOWL) y cuya función es antifagocitaria (65). La capa está compuesta, predominantemente, de carbohidratos y proteínas (34).

- d) Se han evidenciado escasas interacciones entre PMN's y las esférulas aún en la presencia de suero inmune. Esto se debe a que un componente de la superficie esferular restringe el contacto PMN-pared esferular.

Los estudios histoquímicos indican que la matriz extracelular contiene glicoproteínas acídicas que están carboxiladas y sulfatadas (70). Las endoesporas también poseen un material fibrilar que es derivado de la pared de la capa interna de la esférula y cuya función es antifagocitaria para los PMN's (70) y M ϕ (65). Sin embargo, en la presencia de linfocitos inmunes los M ϕ eliminan eficientemente a las endoesporas (65).

LINFOCITOS T

La inmunidad celular in vitro para C. immitis se ha expuesto por transformación linfocitaria usando el antígeno soluble de la fase micelial (42, 43,56,112), antígenos de la fase esférica (42,43,56,112), un extracto soluble en agua y álcali de la pared micelial de C. immitis (42,43,112) y elementos fungales (57); y por la producción del factor inhibitorio de la migración (MIF) (146). Estos estudios señalan que la coccidioidina es más reactiva que los demás antígenos en los ensayos de transformación linfocitaria (43,112) mientras que las endosporas son más potentes que las artroconidias y esféricas en producir una respuesta linfocitaria máxima (57). Recientemente se ha indicado que los antígenos extracelulares producidos por C. immitis durante el crecimiento esférico son extremadamente potentes en producir respuestas de transformación linfocitaria in vitro (22).

En los pacientes con coccidioidomicosis diseminada se ha observado que una respuesta dérmica deprimida a la coccidioidina correlaciona con una respuesta al MIF suprimida y, menos extensamente, con una respuesta de transformación linfocitaria deprimida (60). La naturaleza exacta del defecto en las células T de la coccidioidomicosis aún es desconocido (24,60,63,146). Sin embargo, es probable que sea adquirido en el curso de la enfermedad (40,87). Los pacientes generalmente tienen números normales de linfocitos T circulantes (24,40) para mediar la respuesta celular. La falla de estas células para reconocer y/o responder a C. immitis puede atribuirse a células T defectuosas funcionalmente, Más, mecanismos reguladores o posiblemente a una retroalimentación por antígeno, anticuerpo o complejos antígeno-anticuerpo (60).

La anergia, es la principal manifestación de que existe un defecto en la función de los linfocitos T (24,27,40,60,63,83,97,113,128,134,146,156). Generalmente es específica y sólo está restringida a pacientes con una enfermedad con elevados títulos de anticuerpos fijadores de complemento (63,76,113,127,128, 146,156). Diversos mecanismos de supresión se han propuesto, entre ellos:

ANTIGENEMIA.

Algunos experimentos han hecho pensar que la no reactividad a los antígenos fungales puede ser debida a una antigenemia que resulta en una anergia de las células T (60,63,97,113,127,156). Ibrahim y colaboradores han señalado experimentalmente que la inyección de antígenos coccidioidales en grandes cantidades conduce a la desensibilización para la coccidioidina.

Además tiene la característica de ser específica y temporal (27). Recientemente, se ha indicado que los antígenos extracelulares producidos por C. immitis durante el crecimiento esferular y en la liberación endoesporas poseen componentes supresores en la pruebas de transformación linfocitaria (22). Los componentes son dializables parcialmente, termolábiles y posiblemente tóxicos para las células inmunes. La antigenemia se ha detectado en humanos (75,157).

FACTORES SERICOS.

Se ha reportado una supresión mediada por el suero autólogo en las respuestas de transformación linfocitaria a la coccidioidina (60,87,117,146), mientras que las células se transforman normalmente en respuesta al antígeno coccidioi-

dal en ausencia del plasma autólogo. Esta supresión se presenta en el 45% de los pacientes con prueba dérmica negativa a la coccidioidina (87). Un probable mecanismo es postulado por Opelz (117). El mecanismo se basa en una interacción de constituyentes del plasma con receptores linfocitarios específicos para la coccidioidina. Los receptores pueden tener una estructura diferente que dependerá si un paciente es negativo o positivo a la prueba dérmica de la coccidioidina.

COMPLEJOS ANTIGENO-ANTICUERPO (CAA).

Los CAA pueden contribuir a la depresión de la respuesta linfocitaria y conducir a una anergia (60,132). Algunos investigadores han examinado esta posibilidad y han concluido que los CAA reflejan la severidad de la enfermedad en términos de órganos afectados: 33% de pacientes con un órgano afectado y el 71% con la enfermedad de 3 o más órganos (45). Se ha observado que los CAA correlacionan con las concentraciones de IgG sérica y esta correlaciona con el anticuerpo fijador de complemento. Sin embargo, el nivel de CAA no correlaciona con los títulos de anticuerpos fijadores de complemento. Una posible explicación es que tales complejos, que son formados en un exceso de anticuerpos, sean removidos de la circulación sanguínea por las células fagocíticas o por la deposición en los tejidos del hospedero (45,132). Los complejos detectados sedimentan principalmente en un rango intermedio de 6.6 y 19S en una ultracentrifugación en gradiente de glucosa (132). La deposición de CAA no se ha reportado en la coccidioidomicosis. Sin embargo, hay ciertas manifestaciones clínicas de esta enfermedad que son consistentes

con la deposición de estos complejos. Uno de estos es el eritema nodoso (45). Este estado de hipersensibilidad se desarrolla aproximadamente en el 20% de pacientes con infección sintomática primaria, esto coincide con el desarrollo de la hipersensibilidad de tipo retardado a la coccidioidina y generalmente denota un pronóstico favorable. Aproximadamente el 10% de estos pacientes experimentan la afección artrítica de los tobillos y rodillas y, menos frecuentemente, de hombros y muñecas (45). La deposición de los CAA en las fases avanzadas de la coccidioidomicosis son difíciles de asegurar. Las esférulas de C. immitis son fácilmente demostrables en tejidos infectados y la resultante respuesta granulomatosa puede enmascarar la inflamación mediada por CAA (45). Un resultado que sustenta la deposición de CAA es la eosinofilia de sangre periférica que ocurre durante la enfermedad pulmonar aguda y diseminada (63,67,146). Aunque esto puede ser atribuido a la quimiotáxis mediada por IgE, algunos estudios han demostrado que los CAA, particularmente los formados en un exceso de anticuerpo, son quimiotácticos para los eosinófilos (45).

Cox y colaboradores (51) han probado que es poca la probabilidad de que la supresión mediada por suero sea causada por CAA. Sustentan que la supresión puede ser atribuida a la IgG anticoccidioidal en cuyo caso la cuestión debe ser resuelta en que si la IgG anticoccidioidal suprime directamente la proliferación de los linfocitos T o solamente neutraliza el componente coccidioidal que estimula la respuesta de transformación linfocitaria. Se propone que un probable mecanismo, consistente con la supresión, puede realizarse por un anticuerpo anti-idiotípico que interactúa con la población de linfocitos T

donde se exhibe los determinantes idiotípicos.

CELULAS SUPRESORAS.

Estudios realizados por diversos investigadores (24,27,40) han señalado que el defecto en las células de pacientes con enfermedad diseminada es reversible, específico y no es a nivel de linfocitos T. Se sugiere que el defecto inmune se presenta en términos de reconocimiento del antígeno (24,40). Las células de pacientes con enfermedad diseminada han evidenciado que la supresión está mediada por células que son adherentes a la lana de nylon (27).

Por último, con respecto a la inmunidad celular, se ha determinado que la eficacia de la respuesta del hospedero puede correlacionarse con la microanatomía del proceso inflamatorio montada contra la enfermedad. En la coccidiodomicosis pulmonar se observaron células que exhiben determinantes de superficie asociados con el fenotipo T cooperador/inductor, en la porción central del granuloma, en estrecho contacto con los M ϕ . Mientras que las células T supresoras/citotóxicas están restringidas a la periferia. Esto sugiere una regulación in situ que promueve el efectivo aislamiento y procesamiento de antígenos de los agentes responsables de la enfermedad (115).

En la coccidiodomicosis diseminada se observaron dos patrones de arreglo entre las células inflamatorias. Primero, los vasos sanguíneos circundantes están enriquecidos con células de todos los fenotipos que parecen estar

esparcidos casualmente entre los Mφ de participación en la respuesta inmune. Este patrón indica una disrupción de la importante relación regulatoria en promover la contención de los patógenos invasores. El segundo patrón observado fue una agregación central de Mφ rodeados de una capa periférica de linfocitos T cooperadores y supresores que puede asociarse sólo a la respuesta del hospedero contra el hongo. Se especula que esta disociación anatómica entre los linfocitos T y las células efectoras representa una forma adicional de disrupción en la regulación para restringir la extensión de este patógeno. La proporción relativamente baja de células T cooperadoras/supresoras (0.7 ± 0.2) en la coccidioidomicosis diseminada puede ser el reflejo de un factor regulatorio adverso (115).

Un esquema hipótetico de la respuesta celular se da en la fig. 8. y fig. 9.

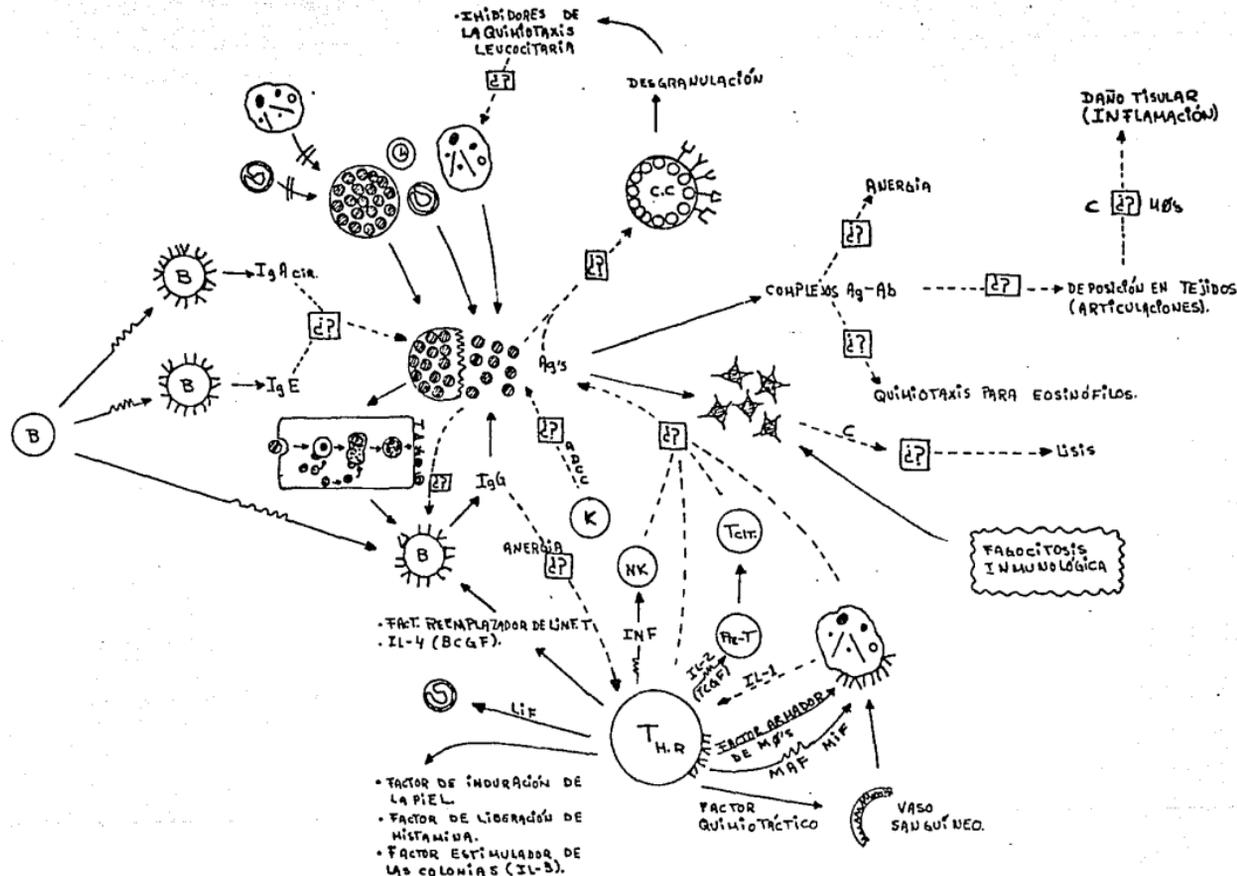


FIG. (9) Esquema hipotético de los mecanismos de defensa específicos involucrados en la infección por *C. immitis* -para detalles favor de consultar el capítulo de inmunidad-.

INMUNOTERAPIA.

Como se ha descrito previamente, los defectos en la inmunidad mediada por células son comunes en la coccidioidomicosis severa y se asocian con un pronóstico pobre. Además son muy conocidas las limitaciones de la anfotericina B como un agente terapéutico. Por eso, el factor de transferencia (TF) ha captado la atención como una alternativa en el tratamiento de la coccidioidomicosis (63).

El TF es un extracto dializable de los leucocitos inmunes que es capaz de transferir una hipersensibilidad del tipo retardado (25,111,129,145) y restaurar los parámetros in vitro de la inmunidad por células (60,113,146); su peso molecular es menor de 10,000 d (60,113).

El extracto tiene características potencialmente deseables para utilizarse en la inmunoterapia: no afecta la producción de anticuerpos, no transfiere el virus de la hepatitis B, ni causa reacciones injerto contra huésped. Además, es resistente a la desoxirribonucleasa, tripsina y ribonucleasa pancreática (60).

Dentro de los efectos inespecíficos inducidos por el TF, se incluyen: mejoramiento de la respuesta linfocitaria a la fitohemaglutinina; incremento de los linfocitos T; conversiones, en los receptores, de las reactividades poseídas por el donador; incremento de monocitos; incapacidad para transferir reactividad a los copolímeros artificiales y un incremento en la blastogénesis linfocitaria (60).

Existe mucha especulación en relación al mecanismo de acción del TF. En los mecanismos postulados se incluye la acción como un receptor antigénico en los linfocitos T, promotor de la diferenciación de los precursores de las células T, adyuvante inespecífico, reclutador de las células T efectoras, amplificador de la respuesta inflamatoria, proliferación de las T de muchos compartimentos centrales y/o desrepressor de la secuencia del DNA (60).

Existen dos procedimientos de prueba en humanos para ensayar el TF: el local y el sistémico. En el procedimiento local, el TF es inyectado intradérmicamente y 24 horas después el antígeno es inyectado directamente en el sitio de inoculación del TF. En el procedimiento sistémico, el TF es inyectado intradérmicamente en un brazo y 24 horas después el antígeno es inyectado en el brazo opuesto. Se ha demostrado que, en los animales de laboratorio, la reactividad local puede ser producida en el cojinete plantar (129).

En la coccidiodomicosis progresiva, varios grupos de investigadores han intentado la terapia con el TF independiente o en conjunción con la quimioterapia antifungal con resultados alentadores (25). Así mismo, se ha señalado que la hipersensibilidad retardada de los cobayos a las esférulas de Coccidiodes immitis es transferida adoptativamente al ratón con el TF dializable, esto ensayado por el método de hinchamiento del cojinete plantar (111).

Los resultados obtenidos en humanos con el TF, revelan que se asocia con la conversión a positiva de la respuesta inmune defectuosa mediada por células al antígeno coccidiodal (60,63,113). Entre los pacientes sin previa respuesta a la coccidiodina, el 66% experimentaron una conversión de la respuesta dérmica a positiva, el 78% en el ensayo de transformación linfocitaria y el 84% en la elaboración del factor inhibitorio de la migración (MIF)

Las conversiones después del tratamiento con TF ocurren de 4 - 10 días (63). Entre los pacientes considerados curados o mejorados en relación a la terapia con el TF se incluyen pacientes con enfermedad pulmonar y/o diseminada o con la forma meningueal (146). Múltiples dosis parecen ser más efectivas que una sola (145). Catanzaro y colaboradores (25) han sugerido que el beneficio clínico observado puede ser el resultado inespecífico del TF antes que una transferencia específica de reactividad. No obstante, se ha evidenciado que pueden existir reacciones cruzadas con la histoplasmina en el TF ensayado en la prueba de inhibición de la migración de células (121).

Los incipientes estudios enzimáticos indican que la actividad de TF específico para C. immitis es sensible a la pronasa aunque es resistente a la RNasa y tripsina (129).

Los estudios del TF como una arma terapéutica en la coccidioidomicosis son muy pocos por lo que se requiere una mayor investigación para determinar el papel de este factor como una alternativa real a la quimioterapia antifungal.

SUSCEPTIBILIDAD.

En diversos estudios se ha demostrado que existen por lo menos cuatro factores que parecen tener una relación con la susceptibilidad a la diseminación coccidioidal. Estos factores son discutidos a continuación.

1.) RAZA.

Es ampliamente aceptado que los factores raciales tienen una fuerte influencia en la susceptibilidad a la diseminación coccidioidal (63,65,113, 120,141). De este modo se reconoce que los filipinos y negros son los grupos étnicos más susceptibles a desarrollar la enfermedad diseminada (120). Aunque se ha evidenciado repetidamente, aún no hay una explicación que lo aclare totalmente (65).

Los estudios epidemiológicos indican que los mexicanos, negros y filipinos son 3.4, 13.7 y 175.5 veces más sensibles a desarrollar la enfermedad coccidioidal, respectivamente, que los blancos y 5, 23.3 y 191.4 veces más probables para morir por esta enfermedad (63).

Algunos investigadores han señalado que los factores de riesgo ambientales son la principal influencia a la enfermedad antes que atribuir la susceptibilidad a la predisposición racial (63). Dentro de las condiciones no raciales que influyen en la presentación de la morbilidad y mortalidad de esta enfermedad se incluyen la prevalencia de la infección coccidioidal, edad al quedar infectado o desarrollar la diseminación, condiciones inter-recurrentes asociadas con una respuesta inmune celular dañada y, probablemente, al tamaño del inóculo infectante y las condiciones socio-económicas (141). No obstante, se ha demostrado que las condiciones ambientales-ocupa-

cionales no son importantes para elevar la probabilidad de una enfermedad diseminada entre los filipinos, negros asiáticos y mexicanos (120).

Deresinski y colaboradores (59) han sugerido que las personas del grupo sanguíneo B son más susceptibles a padecer la coccidioidomicosis diseminada que las personas de otros grupos sanguíneos. Al mismo tiempo, existe una correlación entre el antígeno de histocompatibilidad HLA-A9 en los pacientes con coccidioidomicosis (59,60). La frecuencia del grupo sanguíneo B en filipinos y negro es de 2.7 y 2.0 veces más alto, respectivamente, que en los blancos (59). También, el fenotipo HLA-A9 es más común en esos grupos raciales (59,60). La evidencia indica que los factores hereditarios son importantes en la respuesta inmune a esta infección. Recientemente, se ha sugerido que la resistencia genética, en ratones, es debida a un gen no descrito aún o a la combinación de genes resistentes que todavía no han sido reconocidos (103).

2.) EDAD.

Los estudios señalan que la frecuencia de diseminación y el riesgo de un resultado fatal se incrementan en los extremos de la edad: 5 años de edad, jóvenes y mayores de 50 años de edad (65). De los pacientes infectados, 50% de los niños con 5 años de edad mueren por la coccidioidomicosis y el 40% de los pacientes con edad de 50 años o más mueren por la misma causa (63). Las razones para esta extraordinaria susceptibilidad en los extremos de la vida aún no se han aclarado. El pobre pronóstico en los pacientes de mayor edad puede estar relacionado a una disminución en la inmunidad y/o a la presencia de desórdenes inmunosupresores, como falla renal o linfoma (65).

En los niños, la enfermedad diseminada es probablemente tan común como en los adultos (71,99,146). Aunque la diseminación es más común en los hombres adultos que en las mujeres, parece que no hay diferencias en el sexo antes de la pubertad (146). Las pruebas dérmicas negativas a la coccidioidina son más comunes en la enfermedad diseminada (99).

Hay tres principales presentaciones clínicas de la coccidioidomicosis en los niños (146):

- a) Coccidioidomicosis pulmonar primaria. Una neumonía benigna difícil de diferenciar de una neumonía de etiología viral o bacteriana.
- b) Granuloma coccidioidal primario. Un granuloma benigno localizado resultante de una inoculación o por trauma.
- c) Coccidioidomicosis diseminada. Muy frecuentemente una enfermedad maligna, crónica y sistémica.

Algunos autores han comentado que la coccidioidomicosis tiende a ser más ligera en los niños que en los adultos sólo que los niños infectados requieren atención médica. Los sitios más comunes son piel, tejido subcutáneo, hueso y meninges (99). Las características clínicas de la coccidioidomicosis pulmonar primaria son variables (146).

Se han reportado casos de presumible transmisión materno-fetal en la enfermedad (140) así como en el período neonatal (17), no obstante la fuente de infección no se ha determinado en ambos casos. La infección placentaria, aunque rara, se ha observado. Sin embargo, en ningún instante se ha demostrado alguna infección fetal, por lo que la barrera placentaria es una barrera

de defensa muy efectiva (17,146).

Se ha propuesto que el neonatal puede adquirir la infección coccidioidal del canal de alumbramiento de la madre y no por la transmisión transplacentaria (17).

3.) INMUNOSUPRESION.

La inmunidad mediada por células es reconocida por ser el mecanismo de control central en la coccidioidomicosis (65). Las infecciones fungales son una causa significativa de morbilidad y mortalidad en los pacientes inmunocomprometidos y en ocasiones, en algunas neoplasias, son las infecciones más comunes causantes de muerte. Los hongos más comunmente implicados en tales infecciones son Candida, especies de Aspergillus, Criptococcus neoformans y las infecciones debidas a zigomicetos. Sin embargo, la infección coccidioidal puede ser un problema importante en los pacientes que tienen o tuvieron alguna exposición al hongo (146).

La coccidioidomicosis ha sido reportada en asociación con una variedad de enfermedades malignas (enfermedad de Hodgkin, linfosarcoma y leucemia linfocitaria aguda entre otras), en la inmunosupresión por transplantes o por otras condiciones (55,146) y, recientemente, en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (2,130). Muchos casos han sido reportados en asociación con los tratamientos con corticoesteroides y/o quimioterapia citotóxica (2,63,146). En tales pacientes el comienzo de la enfermedad puede ser explosivo, algunos otros experimentan una neumonía fulminante y otros exhiben una diseminación miliar (63).

La enfermedad diseminada se ha observado que es 100 veces más común en los pacientes inmunocomprometidos que residen en las áreas endémicas que en la población normal. El mayor riesgo de diseminación en los hombre y razas de piel parece acentuarse con la presencia del riesgo asociado con la inmunidad dañada. Así mismo, la coccidioidomicosis puede ser una complicación temprana o tardía de las enfermedades malignas, a diferencia de los invasores oportunistas que comúnmente son observadas en las fases tardías de la enfermedad (146).

En los pacientes inmunocomprometidos, las pruebas dérmicas a la coccidioidina y esferulina son virtualmente inútiles como arma diagnóstica. La terapia inmunosupresora regularmente no suprime completamente la respuesta de anticuerpos a Coccidioides immitis. No obstante, el tiempo requerido para obtener los títulos fijadores de complemento de un laboratorio es prohibitivo, por lo que se recomienda el uso de las pruebas de inmunodifusión, aglutinación de las partículas de látex o contrainmunolectroforesis (63). Una característica inusual de la infección diseminada es la afección pulmonar rápidamente progresiva con infiltrados bilaterales. La fungemia también ha sido observada en tales pacientes (146).

Desafortunadamente, muchos de las pacientes inmunocomprometidos son diagnosticados como poseedores de una infección coccidioidal sólo por un examen antemortem o postmortem. El mayor problema en el diagnóstico de estos pacientes es la falta de sospecha de la enfermedad coccidioidal (63,113,146).

4.) FACTORES HORMONALES.

Recientemente se ha señalado a los factores hormonales del hospedero como los responsables de la susceptibilidad ligada al sexo y embarazo (64,125, 126).

En el embarazo, la coccidioidomycosis es una seria infección (63,65,146). En las regiones endémicas, se ha reportado que es una causa importante de mortalidad materna. Además, que 1 en 1000 embarazos está complicado por la coccidioidomycosis, el 20% de ellos disemina y la mortalidad total en los casos tratados y no tratados es del 88% (146).

La mayoría de los casos en los que se asocia la coccidioidomycosis y el embarazo ocurren en mujeres con edades de 20-29 años aunque existe una ligera tendencia a diseminar en las mujeres con más de 30 años de edad (146). El porcentaje total de mujeres embarazadas con diseminación es de 59. El porcentaje de diseminación entre las mujeres blancas es del 35, las razas de piel oscura combinadas tienen el 96 y los negros el 100% (103,146).

En la fase de gestación, el comienzo de la infección parece ser importante pronósticamente. Las infecciones activas no diseminadas adquiridas semanas antes del embarazo, diseminan con mayor frecuencia que en la población general (63,146). Las infecciones que ocurren durante el embarazo producen diseminación y mortalidades que correlacionan con el trimestre del embarazo. En el primer trimestre la diseminación se presenta en el 31% de pacientes, en el segundo trimestre el 70% y para el tercer trimestre es del 80% (63,65,146). Además, la afección del sistema nervioso central se presenta

más frecuentemente en la última fase gestacional y, principalmente, en las mujeres blancas (146).

La coccidioidomicosis que se presenta en la mujer embarazada tiene serios efectos adversos en el desarrollo del feto. Sólo el 60% de las embarazadas producen prole que sobrevive hasta el período neonatal y un tercio de ellos nacen prematuramente. El 20% de pacientes con infección en el comienzo de la gestación tienen abortos espontáneos en el primer trimestre (146). En contraste, los hombres son de 4 a 6 veces más susceptibles a la diseminación por C. immitis que la mujer no embarazada (63,65).

Las razones para la elevada diseminación, en hombre, y la severidad de la enfermedad en el embarazo, probablemente se deba a factores hormonales (64,125,126). Estudios in vitro han demostrado que los estrógenos y andrógenos son altamente estimulantes para el crecimiento y maduración de la fase saprófita y parasitaria de C. immitis. Probablemente los efectos en el crecimiento del hongo se deben a que en el citosol existen sistemas enlazantes que tiene una elevada afinidad por la progesterona y 17 B - estradiol, progesterona y testosterona (64,125). Para los estrógenos, el sistema enlazante tiene una elevada afinidad por la progesterona y 17 B- estradiol además de que las características cinéticas son las apropiadas para la interacción con los niveles de estrógenos encontrados durante el embarazo (99,126). La demostración del enlazamiento hormonal con C. immitis y la estimulación del crecimiento fungal por los niveles fisiológicamente significantes de las hormonas sexuales sugieren que estos pueden tener una relación en la patogénesis coccidioidal (126). No obstante, se requieren más investigación para asegurar este papel.

CONCLUSIONES.

La investigación monográfica, emprendida para evaluar y definir el conocimiento actual de la coccidioidomicosis, revela las siguientes conclusiones:

- 1) Los estudios bioquímicos que investigan las actividades enzimáticas de Coccidioides immitis son escasos. Aún se desconocen muchos de los procesos bioquímicos y metabólicos realizados por C. immitis que pueden ser importantes en la patogenia y tratamiento de la enfermedad.
- 2) En la actualidad se ha determinado la composición química de las paredes celulares del micelio, artroconidia y esférulas de C. immitis. Se han propuesto actividades biológicas para algunos constituyentes de las paredes celulares, tales como: 3-O metilmanosa y manosa que probablemente se relacionen a las fracciones activas para la prueba intradérmica y las activas serológicamente y los lípidos que pueden ayudar a evadir los mecanismos de defensa del hospedero. Sin embargo, no se conoce la función biológica de los esteroides en el metabolismo del hongo. Así, se requiere investigar las funciones biológicas de los esteroides y su posible actividad en la patogenicidad del hongo.
- 3) Los análisis antigénicos de las fracciones derivadas del micelio y esférulas son preparaciones extremadamente complejas de antígenos coccidioidales. Algunos esos antígenos son únicos para C. immitis y otros compartidos con Histoplasma capsulatum y Blasto-

mices dermatitidis. Los intentos por definir la función biológica de los antígenos clínicamente importantes se están llevando a cabo. De este modo, se han detectado diferentes antígenos con una misma función serológica y diferentes características. Además, hay antígenos con una función única. Es posible que más de un antígeno pueda tener una misma función serológica o, bien, ser parte de una gran molécula in vivo que sufre un fraccionamiento cuando se extrae. Se necesitan más estudios para definir y confirmar la función diagnóstica de cada antígeno.

- 4) Los antígenos coccidioidales son componentes inmunológicos derivados de diferentes estructuras internas del hongo. Existen antígenos derivados de la pared celular, citoplasma, vacuola, plasmalemma y del espacio intermural entre las capas de la pared interna y externa.
- 5) La patogenia de la coccidioidomicosis es sumamente amplia e incluye desde una coccidioidomicosis pulmonar progresiva hasta una meningitis coccidioidal. En general, la severidad de la enfermedad depende del status inmunológico del paciente.
- 6) Aunque la esferulina es un reactivo para las pruebas intradérmicas aparentemente más sensible en detectar a las personas anteriormente expuestas a C. immitis, se recomienda utilizar a la coccidioidina como reactivo intradérmico para las lecturas a las 24 horas y la esferulina a las 48 horas, tiempo en que las reacciones son más específicas. Se precisa de una investigación en humanos con el extracto C-ASWS para definir su importancia como reactivo dérmico.

- 7) Se han desarrollado nuevas técnicas serológicas cuya potencialidad diagnóstica es mayor que las pruebas tradicionales. Muchas de las nuevas técnicas son fáciles de realizar, no son costosas, no consumen mucho tiempo y tienen una buena correlación con la severidad de la enfermedad. No obstante, la prueba de fijación de complemento es el método preferido para el diagnóstico y pronóstico de la coccidioomicosis.
- 8) Se ha introducido al laboratorio el cultivo de esférulas in vitro como un método de confirmación evitando la necesidad de infectar a animales, es específico y reduce el riesgo de infección para el personal de laboratorio.
- 9) La identificación de los cultivos de C. immitis por el exoantígeno HS ha facilitado el diagnóstico. El método tiene la ventaja de ser específico para el hongo.
- 10) En la terapia, se evidencia que el ketoconazol e itraconazol son los agentes terapéuticos más viables en el tratamiento de la enfermedad.

Sin embargo, los efectos colaterales del ketoconazol deben de ser evaluados más ampliamente para que pueda ser considerada la droga de elección.
- 11) En los Estados Unidos de América se reconoce a la coccidioomicosis como un problema de salud pública que ocasiona grandes pérdidas en la industria y una fuerte inversión en atención médica. Dentro de los factores que pueden contribuir a la enfermedad se mencionan: la migración de personas susceptibles; elevada acumula-

ción de poblaciones; y las condiciones de vida.

- 12) En México, a pesar de ser un país con tres áreas endémicas y dos microáreas tropicales no se han realizado estudios epidemiológicos, desde los trabajos de González Ochoa, para determinar la importancia médico-clínica de la enfermedad coccidioidal. Se exhibe una falta de datos que definan el papel de la coccidioidomycosis en el sector salud, económico y social del país.
- 13) En la actualidad, no existe una medida de prevención efectiva para la enfermedad coccidioidal. Los intentos de vacunación en humanos son mínimos y no concluyentes, por lo que, se requiere mayor investigación en este campo.
- 14) En la mayoría de las personas infectadas, la respuesta inmune es un proceso sumamente efectivo en controlar y limitar la infección coccidioidal. Es la inmunidad mediada por células el mecanismo de resistencia central contra el hongo. Las células efectoras son las principales defensas del hospedero contra C. immitis antes y durante el desarrollo de la inmunidad mientras que las células NK no juegan un papel importante contra el hongo.
- 15) Es probable que la eliminación intracelular de las partículas fungales, por las células efectoras, sea debida en gran parte a la lisozima y a los péptidos catiónicos. No obstante, se desconoce la participación que pueden tener los demás componentes de los lisosomas y la importancia de los mecanismos independientes del oxígeno en la resolución de la infección. Es obvia una mayor investigación en esta área.

- 16) Al parecer, las anomalías inmunológicas observadas en la coccidioidomicosis son adquiridas e inducidas por el hongo, C. immitis posee la capacidad de influir las interacciones células efectoras-parásito además de inhibir la fusión fagosoma-lisosoma que son esenciales en el desarrollo de la resistencia fungal. La actividad antifagocitaria puede deberse a la capa de la pared externa hifal, en la artroconidia, o a un material fibrilar derivado de la pared de la capa interna de la esférula, en la fase parasitaria.
- 17) La anergia constituye la principal manifestación de que existe un defecto en los linfocitos. Los mecanismos de supresión propuestos incluyen la antigenemia, factores séricos, complejos antígeno-anticuerpo y células supresoras. Sin embargo, el mecanismo inmunosupresor consistente con los resultados clínicos es el de los anticuerpos anti-idiotipo. No obstante, los otros mecanismos no pueden ser descartados totalmente ya que representan medios de inmunosupresión alternativos que pueden estar actuando en forma aislada o en conjunto para producir la anergia. Es necesario determinar la naturaleza exacta de la anergia para poder implantar una terapia que restituya las defensas inmunológicas y favorezca la resolución de la infección.
- 18) Aún no se ha determinado claramente el papel de la inmunidad humoral en la coccidioidomicosis. Al parecer, los elevados títulos de anticuerpos IgG e IgE pueden contribuir a inducir un estado de anergia que favorece la diseminación coccidioidal. En tanto, se

considera que las inmunoglobulinas M y A no tienen funciones inmunológicas importantes. La investigación en esta área debe ser más exhaustiva en los próximos años y su finalidad deberá ser determinar la naturaleza de los defectos en las poblaciones de linfocitos para regular la producción de las inmunoglobulinas.

- 19) El complemento no constituye una línea de defensa efectiva en la infección fungal, no obstante es importante en la migración de células efectoras en respuesta a las sustancias liberadas por el hongo.
- 20) Deberán de implementarse nuevas líneas de trabajo para definir la importancia inmunológica de otros parámetros que son parte de la integridad del sistema inmune.
- 21) La reconstitución inmunológica con el factor de transferencia es una alternativa viable en los pacientes que no responden al tratamiento con drogas antifungales o tienen un pobre pronóstico. Sin embargo, son pocas las investigaciones realizadas en este campo a pesar de que existen resultados alentadores.
- 22) Una de las principales causas predisponibles a la diseminación coccidioidal son las hormonas sexuales que promueven el crecimiento y maduración de la fase parasitaria de C. immitis.
- 23) Otros factores ligados a la susceptibilidad coccidioidal son los raciales, de edad e inmunosupresión. En los raciales, se necesita una mayor investigación para determinar claramente si existe una resistencia genética o es dependiente de factores ambientales y/o de las condiciones socio-económicas del paciente.

- 24) En general, la investigación en la coccidioidomicosis ha sido muy amplia en algunas áreas mientras que otras presentan un atraso muy evidente. Las áreas de menos desarrollo son prevención, inmunidad humoral e inmunoterapia. Estas constituyen las líneas de trabajo que no han sido estudiadas íntegramente y tal vez en ellas se encuentren algunas de las respuestas a muchas interrogantes que son importantes en la comprensión de la enfermedad de Posada-Wernicke.

B I B L I O G R A P H I A .

- 1) ABOU-GABAL M. A Synthetic Liquid Medium for The Development of the Tissue Form of Coccidioides immitis at 26°C. Sept. 24(9) 534-40.
- 2) ABRAMS, D. I., ROBIA M, BLUMENFELD, W., SIMONSON, J., COHEN, M and HADLEY, K. Disseminated Coccidioidomycosis in AIDS. New England J. Med. 12 April 1984 . 310(15) 986-7.
- 3) AGUILAR-TORRES, F. G., JACKSON, L. J., FERSTENFEL, J. E., PAPPAGIANIS, D., and RYTEL, M. W. Counterimmunoelectrophoresis in the Detection of Antibodies Against Coccidioides immitis. Ann. Intern. Med. Dec. 1976. 85(6) 740-4.
- 4) AGY, M. B., and PAZNOKAS, J. L. Isocitrate Lyase and Malate Synthase Activities of Coccidioides immitis. Exp. Mycol. Dec. 1985. 9(4) 318-25.
- 5) AMPEL, N. M., RYAN, K. J., CARRY, P. L., WEIDEN, M. A., B. S. and SCHIFMAN, R. B. Fungemia Due To Coccidioides immitis. Medicine. 1986. 65(5)312-21.
- 6) ANDERES, E. A., FINLEY, A. A., and WALCH, H. A. The Lipids of an Auxotrophic Avirulent Mutant of Coccidioides immitis. Sabouraudia. Jul 1973. 11(2) 149-57.
- 7) BAYER, A. S., THOMAS, T., GALPIN, J. E., and GUZE, L. B. Unusual Syndromes of Coccidioidomycosis: Diagnostic and Therapeutic Considerations. Medicine. March. 1976. 55(2) 131-52.
- 8) BAYER, A. S., OSHIKAWA, T. T., GUZEL, B. Chronic Progressive Coccidioidal Pneumonitis. Arch. Intern. Med. 1979; 139: 536-40.

- 9) BAYER, A. S. Fungal Pneumonias: Pulmonary Coccidioidal Syndromes (Part 1): Primary and Progressive Primary Coccidioidal Pneumonias-Diagnostic, Therapeutic, and Prognostic Considerations. CHEST May. 1981. 79(5) 575-83.
- 10) BAYER, A. S. Fungal Pneumonias: Pulmonary Coccidioidal Syndromes (Part 2): Miliary, Nodular and Cavitory Pulmonary Coccidioidomycosis; Chemotherapeutic and Surgical Considerations. CHEST. June 1981. 79(6) 686-91.
- 11) BEAMAN, L., PAPPAGIANIS, D., and BENJAMINI, E. Significance of T Cells in Resistance to Experimental Murine Coccidioidomycosis. Infect. Immun. Sept. 1977. 117(3) 580-5.
- 12) BEAMAN, L., PAPPAGIANIS, D., and BENJAMINI, E. Mechanisms of Resistance to Infection with Coccidioides immitis in Mice. Infect. Immun. March. 1979. 23(3) 681-5.
- 13) BEAMAN, L., and HOLMBERG, C. A. In vitro Response of Alveolar Macrophages to Infection with Coccidioides immitis. Infect. Immun. May 1980. 28(2) 594-600.
- 14) BEAMAN, L., and HOLMBERG, C. A. Interaction of Nonhuman Primate Peripheral Blood Leukocytes and Coccidioides immitis in vitro. Infect. Immun. Sept. 1980. 29(3) 1200-1.
- 15) BEAMAN, L., BENJAMIN, E., AND PAPPAGIANIS, D. Role of Lymphocytes in Macrophage-Induced Killing of Coccidioides immitis in vitro. Infect. Immun. Nov. 1981. 34(2) 347-53.

- 16) BEAMAN, L., BENJAMINI, E., PAPPAGIANIS, D. Activation of Macrophages by Lymphokines: Enhancement of Phagosome-Lysosome Fusion and Killing of Coccidioides immitis. Infect. Immun. March. 1983. 39(3) 1201-7.
- 17) BERNSTEIN, D. I., TIPTON, J. R., SCHOTT, S. F., and CHERRY, J. D. Coccidioidomycosis in Neonate: Maternal-Infant Transmission. J. Pediat. Nov. 1981. 99(5) 752-4.
- 18) BONARDELLO, N. M., and DE GAGLIARDI, C. G. Intradermorreacciones con Coccidioidinas en Distintas Poblaciones de la Provincia de San Luis. Sabouraudia. Dec. 1979. 17(4) 371-6.
- 19) BORGES, M., LEVINE, H. B., and COBB, J. M. Ultrastructure of Coccidioides immitis After Exposure to Imidazole Antifungals Miconazole and Ketoconazole. Sabouraudia. March. 1981. 19(1) 27-38.
- 20) BOUZA, E., DREYER, J. S., HEWITT, W. L., and MEYER, R. D. Coccidioidal Meningitis. Medicine. 1981. 60(3) 139-72.
- 21) BRASS, C., CALGIANI, J. N., CAMPBELL, S. M., and STEVENS, D. A. Therapy of Disseminated or Pulmonary Coccidioidomycosis with Ketoconazole. Rev. Infect. Dis. Jul-Aug. 1980. 2(4) 656-60.
- 22) BRASS, C., LEVINE, H. B., and STEVENS, D. A. Stimulation and Suppression of Cell-Mediated Immunity by Endospore Antigen of Coccidioides immitis. Immun. Feb. 1982. 35(2) 431-6.

- 23) BYLUND, D. J., NANFRO, J. J., and MARSH, W. L.
Coccidioidomycosis of the Female Genitral Tract. Arch.
Pathol. Lab. Med. March, 1986. 110; 232-5.
- 24) CATANZARO, A., LINN, E., and MOSER, K. M. Cellular Immune
Response in Coccidioidomycosis. Jan. 1975. 15(1) 360-71.
- 25) CATANZARO, A., SPITLER, L. The Coccidioidomycosis
Cooperative Treatment Group: Clinical and Immunologic
Results of Transfer Factor Therapy in Coccidioidomycosis,
in Ascher MS, Gottlieb AA, Kirkpatrick CH (eds): Transfer
Factor. New York, Academic Press, 1976, pp 477-94.
- 26) CATANZARO, A. Coccidioidin Sensitivity in San Diego
Schools. Sabouraudia. Jan. 1979. 17(2)85-9.
- 27) CATANZARO, A. Suppressors Cells in Coccidioidomycosis.
Cell. Immunol. Oct. 1981. 64(1) 235-45.
- 28) CATANZARO, A., EINSTEIN, H., LEVINE, B., ROSS, J. B.,
SCHILLACI, R., FIERER, J., and FRIEDMAN, P. J.
Ketoconazole for Treatment of Disseminated Coccidioidomycosis.
Ann. Intern. Med. Apr. 1982. 96(4) 436-40.
- 29) CATANZARO, A., and FLATAVER, F. Detection of Serum
Antibodies in Coccidioidomycosis by Solid-Phase
Radioimmunoassays. J. Infect. Dis. Jan. 1983. 147(1) 32-9.
- 30) CALHOUN, D. L., OSIR, E. O., DUGGER, K. O., GALGIANI, J.
N., and LAW, J. H. HUMORAL ANTIBODY Responses To Specific
Antigens of Coccidioides immitis. J. Infect. Dis. Aug.
1986. 154(2) 265-72.

- 31) CARDONA, A., and VELAZQUEZ, T. Infección del Sistema -- Nervioso Central por Coccidioides immitis. Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales. XIV (3) Sept. 1954. 179-88.
- 32) KARL T. K. C. Coccidioidal Peritonitis. Amer. J. Clin. Pathol. Oct. 1983. 80(4) 514-6.
- 33) CLEMONS, K. V., LEATHERS, C. R., and LEE, K. W. Systemic Coccidioides immitis Infection in Nude and Beige Mice. Infect. Immun. March. 1985. 47(3) 814-21.
- 34) COLE, G. T., POPE, L. M., HUPPERT, M., SUN, S. H., and STARR, P. Ultrastructure and Composition of Conidial Wall Fractions of Coccidioides immitis. Exp. Mycol. Dec. 1983. 7(4) 297-318.
- 35) COLE, G. T., KIRKLAND, T. N., and SUN, S. H. An Immunoreactive Water-Soluble Conidial Wall Fraction of Coccidioides immitis. Infect. Immun. March. 1987. 55(3) 657-67.
- 36) COLLINS, M., and PAPPAGIANIS, D. Effects of Lysozyme and Chitinase on the Spherules of Coccidioides immitis in Vitro. Infect. Immun. May. 1973. 7(5) 817-22.
- 37) COLLINS, M. S., and PAPPAGIANIS, D. Inhibition by Lysozyme of Growth of the Spherule Phase of Coccidioides immitis in vitro. Infect. Immun. Sept. 1974. 10(3) 616-23.

- 38) COLLINS, M. S. Inhibition of Growth of Coccidioides immitis on Sabouraud Medium Containing Polymyxin B. J. Microb. March, 1975. 1(3) 335-6.
- 39) COX, R. A., BRUMMER, E., and LECARA, G. In Vitro Lymphocyte Responses of Coccidioidin Skin Test-Positive and -Negative Persons to Coccidioidin, Spherulin and Coccidioides Cell Wall Antigen. Infect. Immun. March, 1977. 15(3) 751-5.
- 40) COX, R. A., and VIVAS, J. R. Spectrum of in Vivo Cell-Mediated Immune Responses in Coccidioidomycosis. Cell. Immunol. June, 1977. 31(1) 130-41.
- 41) COX, R. A., and ARNOLD, D. R. Immunoglobulin E in Coccidioidomycosis. July 1979. J. Immunol. 123(1) 194-200.
- 42) COX, R. A. Cross-Reactivity Between Antigens of Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum and Blastomyces dermatitidis in Lymphocyte Transformation Assays. Infect. Immun. Sept. 1979. 25(3) 932-8.
- 43) COX, R. A., MEAD, C. G., and PAVEY, E. P. Comparison of Mycelia- and Spherule-Derived Antigens in Cellular Immune Assays of Coccidioides immitis-Infected Guinea Pig. Infect. Immun. Feb, 1981. 31(2) 687-92.
- 44) COX, R. A., BAKER, B. S., and STEVENS, D. Specificity of Immunoglobulin E in Coccidioidomycosis and Correlation with Disease Involvement. Infect. Immun. Aug. 1982. 37(2) 609-16.

- 45) COX, R. A., POPE, R. M., and STEVENS, D. A. Immune Complexes in Coccidioidomycosis: Correlation with Disease Involvement. *Am. Rev. Respir. Dis.* Sept. 1982. 126(3) 439-43.
- 46) COX, R. A., HUPPERT, M., STARR, P., and BRITT, L. A. Reactivity of Alkali-Soluble, Water-Soluble Cell Wall -Antigen of Coccidioides immitis with Anti-Coccidioides Immunoglobulin M Precipitin Antibody. *Infect. Immun.* Feb. 1984. 43(2) 502-7.
- 47) COX, R. A., and BRITT, L. A. Antigenic Heterogeneity of an Alkali-Soluble, Water-Soluble Cell Wall Extract of Coccidioides immitis. *Infect. Immun.* Nov. 1985. 50(2) 365-9.
- 48) COX, R. A., and BRITT, L. A. ISOLATION and Identification of an Exoantigen Specific for Coccidioides immitis. *Infect. Immun.* Apr. 1986. 52(1) 138-43.
- 49) COX, R. A., and BRITT, L. Isolation of Coccidioidin Component That Reacts with Immunoglobulin M Precipitin Antibody. *Infect. Immun.* Sept. 1986. 53(3) 449-53.
- 50) COX, R. A., BRITT, L. A., and MICHAEL, R. A. Isolation of Coccidioides immitis F Antigen by Immunoaffinity Chromatography with Monospecific Antiserum. *Infect. Immun.* Jan. 1987. 55(1) 227-32.
- 51) COX, R. A., and POPE, R. M. Serum-Mediated Suppression of Lymphocyte Transformation Responses in Coccidioidomycosis. *Infect. Immun.* May. 1987. 55(5) 1058-62.

- 52) DANLEY, D. L., HILGER, A. E., BOONLAYANGOOR, P., and MILLHOUSE, E. W. Significance of an in Vitro Phenomenon in Which Murine Erythrocytes are Lysed by Autologous Spleen Cells and Spherules of Coccidioides immitis. Infect. Immun. Jan. 1979. 23(1) 115-27.
- 53) DAVIDSOHN, I., and J. B. HENRY. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. Apéndice 3. Tablas de Valores Normales. pp. 1427-46. 6a. edición., Editores Salvat, S. A., Barcelona (España) 1981.
- 54) DAVIS, S. J., and DONOVAN, W. H. Combined Intravenous Miconazole and Intrathecal Amphotericin B for Treatment of Disseminated Coccidioidomycosis. CHEST, Aug. 1979. 76(2) 235-6.
- 55) DERESINSKI, S. C., and STEVENS, D. A. Coccidioidomycosis in Compromised Hosts. Medicine. 1974. 54(5) 377-95.
- 56) DERESINSKI, S. C., LEVINE, H. B., and STEVENS, D. A. Soluble Antigens of Mycelia and Spherules in The in vitro Detection of Immunity to Coccidioides immitis. Infect. Immun. Oct. 1974. 10(4) 700-4.
- 57) DERESINSKI, S. C., APPLGATE, R. J., LEVINE, H. B., and STEVENS, D. A. Cellular Immunity To Coccidioides immitis: In vitro Lymphocytes Responses to Spherules, Arthrospores and Endospores. Cell. Immunol. 1977. 32; 110-119.

- 58) DERESINSKI, S. C., LEVINE, H. B., KELLY, P. C., CREASMAN, R. J., and STEVENS, D. S. Spherulin Skin Testing and Histoplasmal and Coccidioidal Serology: Lack of Effect. *Am. Rev. Respir. Dis.* Dec. 1977. 116(6) 1116-8.
- 59) DERESINSKI, S. C., PAPPAGIANIS, D., and STEVENS, D. A. Association of ABO Blood Group and Outcome of Coccidioidal Infection. *Sabouraudia* Sept. 1979. 17(3) 261-4.
- 60) HOWARD, D. H. Fungi Pathogenic for Humans and Animals. Part B. Pathogenicity and Detection. Chapter 2. Cell-Mediated Immunity. pp. 73-87. Chapter 3. Humoral Responses of the Host. pp. 99-120. 1983. Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
- 61) DISALVO, A. F., SEKHON, A. S., LAND, G. A., and FLEMING, W. H. Evaluation of the Exoantigen Test for Identification of *Histoplasma* Species and *Coccidioides immitis* Cultures. *J. Clin. Microbiol.* March. 1980. 11(3) 238-41.
- 62) DODGE, R. R., LEBOWITZ, M. D., DARBEE, R., and BURROWS, B. Estimates of *Coccidioides immitis* Infection by Skin Test Reactivity in an Endemic Community. *Am. J. Pub. Health.* Aug. 1985. 75(8) 863-5.
- 63) DRUTZ, D. J., and CATANZARO, A. State of The Art: Coccidioidomycosis. Part. I and II. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1978. 117: 559-85., 727-71.
- 64) DRUTZ, D. J., HUPPERT, M., SUN, S. H., and MCGUIRRE, W. L. Human Sex Hormones Stimulate The Growth and Maturation of *Coccidioides immitis*. *Infect. Immun.* May. 1981 32(2) 897-907.

- 65) DRUTZ, D. J., and HUPPERT, M. Coccidioidomycosis: Factors Affecting The Host-Parasite Interaction. J. Infect. Dis. March. 1985. 147(3) 372-90.
- 66) DRUTZ, D. Antigen Detection in Fungal Infection. New. Engl. J. Med. 9 Jan 1986. 314(2) 115-7.
- 67) ECHOLS, R. M., PALMER, D. L., and LONG, G. W. Tissue Eosinophilia in Human Coccidioidomycosis. Rev. Infect. Dis. May-Jun. 1982. 4(3) 656-64.
- 68) FLYNT, P. L., SINISKI, J. T., and KELLEY, L. M. Coccidioidin and Merthiolate in Previously Sensitized Animals. Infect. Immun. Jan. 1975. 11(1) 52-6.
- 69) FRASER, D. W., WARD, J. I., AJELLO, L., and PLIKAYTIS, B. Aspergillosis and Other Systemic Mycoses: The Growing Problem. J. Am. Med. Asso. Oct. 12, 1979. 242(15) 1631-5.
- 70) FREY, C. L., and DRUTZ, D. J. Influence of Fungal Surface Components on the Interaction of Coccidioides immitis with Polymorphonuclear Neutrophils. J. Infect. Dis. May. 1986. 153(5) 933-43.
- 71) PULGINITI, V. A. Cometary: Coccidioidomycosis for all of us. J. Pediat. March. 1981. 98(3) 411.
- 72) GALGIANI, J. N., ISEBERG, R. A., and STEVENS, D. A. Chemotaxigenic Activity of Extracts from the Mycelial and Spherule Phases of Coccidioides immitis for Human Polymorphonuclear Leukocytes. Infect. Immun. Sept. 1978. 21(3) 862-65.

- 73) GALGIANI, J. N., YAM, P., TETZ, L. D., WILLIAMS, P. L., and STEVENS, D. A. Complement Activation by Coccidioides immitis: in vitro and Clinical Studies. Infect. Immun. June. 1980. 28(3) 944-9.
- 74) GALGIANI, J. N., HAYDEN, R., and PAYNE, C. M. Leukocyte Effects on The Dimorphism of Coccidioides immitis. J. Infect. Dis. 146(1) 56-63. July. 1982.
- 75) GALGIANI, J. N., DUGGER, K. O., ITO, J. I., and WIEDEN, M. A. Antigenemia in Primary Coccidioidomycosis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1984. 33(4) 645-49.
- 76) GALGIANI, J. N., PAYNE, C. M., and JONES, J. F. Human Polymorphonuclear Leukocyte Inhibition of Incorporation of Chitin Precursors into Mycelia of Coccidioides immitis. J. Infect. Dis. March. 1984. 149(3) 404-12.
- 77) GALGIANI, J. N. Inhibition of Different Phases of Coccidioides immitis by Human Neutrophils of Hydrogen Peroxide. J. Infect. Dis, Feb. 1986. 153(2) 217-22.
- 78) GIFFORD, J., and CATANZARO, A. A Comparison of Coccidioidin and Spherulin Skin Testing in The Diagnosis of Coccidioidomycosis. Am. Rev. Respir. Dis. 1981. 124; 440-4.
- 79) GOLDSTEIN, E. MILIARY and Disseminated Coccidioidomycosis. Ann. Intern. Med. Sept. 1978. 89(3) 365-6.
- 80) GONZALEZ OC. A. Coccidioidomycosis. Algunos conceptos actuales del Padecimiento con Especial Mención del Problema Mexicano. La Prensa Médica Mexicana, 1945. 246-52.

- 81) GONZALEZ OCHOA, A. La Coccidioidomycosis en México. Rev. Invest. Salud Pública (Méx.) Julio-Sept. 1966. Vol. XXVI. No. 3 245-62.
- 82) GONZALEZ OCHOA, A. Epidemiología de la Coccidioidomycosis en México. Gaceta Médica de México. Nov. 1967. 97(11) 1383-91.
- 83) GONZALEZ OCHOA, A. La Importancia Médica de la Coccidioidomycosis en la Frontera entre México y Estados Unidos de América. Salud Pública de México. Mayo-Junio 1968. Epoca V. Vol. X No. 3. 319-26.
- 84) GONZALEZ OCHOA, A. Las Micosis Pulmonares en México y Centroamérica. Aspectos Epidemiológicos. Rev. Invest. Salud Pública (Méx). Julio-Sept. 1969. Vol. XXIX No. 3 3 179-96.
- 85) GRAYBILL, J. R., LUNDBERG, D., DONOVAN, W., LEVINE, H. B., RODRIGUEZ, M. D., and DRUTZ, D. J. Treatment of Coccidioidomycosis with Ketoconazole: Clinical and Laboratory Studies of 18 Patients. Rev. Infect. Dis. Jul-Aug. 1980. 2(4) 661-73.
- 86) WHITE, H. S. Principios de Bioquímica. Metabolismo de Lípidos. pp. 516-25. Libros McGRAW-HILL de México, México, D. F. 1970.

- 87) HARVEY, R. P., and STEVENS, D. A. In Vitro Assays of Cellular Immunity in Progressive Coccidioidomycosis: Evaluation of Suppression with Parasitic Phase Antigen. Am. Rev. Respir. Dis. June. 1981. 123(6) 665-9.
- 88) HEALD, S. L., JEFFS, P. W., and WHEAT, R. W. The Identification of Ergosterol and -Dehydroergosterol from Mycelia of Coccidioides immitis by Reverse-Phase High-Performance Liquid and Gas Chromatography and Ultraviolet and Mass Spectrometry. Exp. Mycol. June, 1981. 5(2) 162-6.
- 89) HECTOR, R. F., and PAPPAGIANIS, D. Enzymatic Degradation of the Wall of Spherules of Coccidioides immitis. Exp. Mycol. June. 1982. 6(2) 136-52.
- 90) HOEPRICH, P. D. Amphotericin B Methyl Ester and Leukoencephalopathy: The Other Side of The Coin. J. Infect. Dis. Aug. 1982. 146(2) 173-6.
- 91) HUPPERT, M., SUN, S. H., and BAILEY, J. W. Natural Variability in Coccidioides immitis, in: Coccidioidomycosis. Proceedings of the 2nd Symposium on Coccidioidomycosis (L. Ajello, ed). University of Arizona Press, Tucson (1967) pp 327-48.
- 92) HUPPERT, M., KRASNOW, I., VUKOVICH, K. R., SUN, S. H., and RICE, J. H. Comparison of Coccidioidin and Spherulin in Complement Fixation Test for Coccidioidomycosis. J. Clin. Microbiol. Jul. 1977. 6(1) 33-41.

- 93) HUPPERT, M., SPRATT, N. S., VUKOVICH, K. R., SUN, S. H. and RICE, E. H. Antigenic Analysis of Coccidioidin and Spherulin Determined by Two-Dimensional Immunoelectrophoresis. Infect. Immun. May, 1978. 20(2) 541-51.
- 94) HUPPERT, M., SUN, S. H., and RICE, E. H. Specificity of Exoantigen for Identifying Cultures of Coccidioides immitis. J. Clin. Microbiol. Sept. 1978. 8(3) 346-8
- 95) HUPPERT, M., OLIVER, D. J., and SUN, S. H. Combined Methenamine-Silver Nitrate and Hematoxylin and Eosin Stain for Fungi in Tissues. J. Clin. Microbiol. Nov. 1978. 8(5) 598-603.
- 96) HUPPERT, M., ADLER, J. P., RICE, E. H., and SUN, S. H. Common Antigens Among Systemic Disease Fungi Analysed by Two-Dimensional Immunoelectrophoresis. Infect. Immun. Feb, 1979. 23(2) 479-85.
- 97) IBRAHIM, A. B., and PAPPAGIANIS, D. Experimental Induction of Anergy to Coccidioidin by Antigens of Coccidioides immitis. Infect. Immun. May, 1973. 7(5) 786-94.
- 98) JOHNSON, J. E., JEFFERY, B., and HUPPERT, M. Evaluation of Five Commercially Available Immunodiffusion Kits for Detection of Coccidioides immitis and Histoplasma capsulatum Antibodies. J. Clin. Microbiol. Sept. 1984. 20(3) 530-2.
- 99) KAFKA, J. A., and CATANZARO, A. Disseminated Coccidioidomycosis in Children. J. Pediat. March. 1981. 98(3) 355-61.

- 100) KALTREIDER, H. B. Expression of Immune Mechanisms in The Lung. State of the Art. Am. Rev. Respir. Dis. 113; 347-79. 1976.
- 101) KAUFMAN, L., and STANDARD, P. Improved Version of The Exoantigen Test for Identification of Coccidioides immitis and Histoplasma capsulatum Cultures. J. Clin. Microbiol. Jul. 1978. 8(1) 42-5.
- 102) KAUFMAN, L., STANDARD, P. G., HUPPERT, M., and PAPPAGIANIS, D. Comparison and Diagnostic Value of the Coccidioidin Heat-Stable (HS and Tube Precipitin) Antigens in Immunodiffusion. J. Clin. Microbiol. Oct. 1985. 22(4) 515-8.
- 103) KIRKLAND, T. N., and FIERER, J. Inbred Mouse Strains Differ in Resistance to Lethal Coccidioides immitis infection. Infect. Immun. June. 1983. 40(3) 912-6.
- 104) KLOTZ, S. A., DRUTZ, D.J., HUPPERT, M., SUN, S. H., and DeMARSH, L. The Critical Role of CO₂ in the Morphogenesis of Coccidioides immitis in Cell-Free Subcutaneous Chabers. J. Infect. Dis. July. 1984. 150(1) 127-34.
- 105) LARSEN, R. A., JACOBSON, J. A., MORRIS, A. H., and BENOWITZ, B. A. Acute Respiratory Failure Caused by Primary Pulmonary Coccidioidomycosis: Two Case Reports and Review of the Literature. Am. Rev. Respir. Dis. May. 1985. 131(5) 797-9.

- 106) LECARA, G., COX, R. A., and SIMPSON, R. B. Coccidioides immitis Vaccine: Potential of an Alkali-Soluble, Water-Soluble Cell Wall Antigen. Infect. Immun. Jan. 1983. 39(1) 473-5.
- 107) LEE, J. C., CATANZARO, A., PARTHMORE, J. G., ROACH, B., and DEFTOS, L. J. Hypercalcemia in Disseminated Coccidioidomycosis. New England. J. Med. 1977. 297; 431-3.
- 108) LEVINE, H. B. R34000, A Dioxolane Imidazole in the Therapy for Experimental Coccidioidomycosis: Comparison with Miconazole and Econazole. CHEST, Dec. 1976. 70(6) 755-9.
- 109) LEVINE, H. B., RINGEL, S. M., and COBB, J. M. Therapeutic Properties of Oral Ambruticin (W7783) in Experimental Pulmonary Coccidioidomycosis of Mice. CHEST. Feb 1978. 73(2) 202-6.
- 110) LEVINE, H. B., and COBB, J. M. Ketoconazole in Early and Late Murine Coccidioidomycosis. Rev. Infect. Dis. Jul-Aug. 1980. 2(4) 546-50.
- 111) LIKHOLETOV, S. M. Delayed Hypersensitivity and Transfer Factor in Experimental Coccidioidomycosis. Sabouraudia. Sept. 1979. 17(3) 251-9.
- 112) LUPAN, D. M., and ZIRAMASANGA, P. N. Collagenolytic Activity of Coccidioides immitis. Infect. Immun. Jan. 1986. 51(1) 360-1.

- 113) MANDEL/DOUGLAS/BENNETT. Principles and Practice of Infectious Disease. Chapter. 220. Coccidioides immitis. pp. 2053-66. A Wiley Medical Publication. Hohn Wiley and Sons 1979. Vol. 2.
- 114) MEYERS, F. H., JANETZ, E., and GOLDFINN, A. Farmacología Clínica. Capítulo 55. Agentes Antimicóticos. pp. 570-73. 5a. Edición, Editorial El Manual Moderno., México, D. F. 1982.
- 115) MODLIN, R. L., SEGAL, G. P., FOFMAN, F. M., WALLEY, M. S., JOHNSON, R. H., TAYLOR, C. R., and REA, T. H. In Situ Localization of T Lymphocytes in Disseminated Coccidioidomycosis. J. Infect. Dis. Feb. 1985. 151(2) 314-9.
- 116) NZIRAMASANGA, P., and LUPAN, D. M. Elastasa Activity of Coccidioides immitis. J. Med. Microbiol. 1985. 19; 109-14.
- 117) OPELZ, G., and SECHEER, M. I. Cutaneous Sensitivity and In Vitro Responsiveness of Lymphocytes in Patients with Disseminated Coccidioidomycosis. J. Infect. Dis. Sept. 1975. 132(3) 250-55.
- 118) PAPPAGIANIS, D., HECTOR, R., LEVINE, H. B., and COLLINS, M. S. Immunization of Mice Against Coccidioidomycosis with a Subcellular Vaccine. Infect. Immun. July. 1979. 25(1) 440-5.

- 119) PAPPAGIANIS, D., SAITO, M., and VAN HOOSEAR, K. H.
Antibody in Cerebrospinal Fluid in Non-Meningitic
Coccidioidomycosis. Sabouraudia. Jul. 1972. 10(2)
173-9.
- 120) PAPPAGIANIS, D. Ethnic Background and The Clinical
Course of Coccidioidomycosis. Am. Rev. Respir. Dis.
1979. 120; 959-61.
- 121) PAQUE, D. E. The Coccidioidomycosis Cooperative
Treatment Group: In Vitro Transfer of Coccidioidin and
Histoplasmin Sensitivity to "Nonsensitive" Leukocytes
Utilizing Whole Cell Lysates from Skin Test Positive
Coccidioidin Sensitive Human: Evidence of Cross
Reactivity in a Transfer System, pp 197-303., in Ascher
MS, Gottlieb, AA, Kirkpatrick GH (eds): Transfer Factor.
New York, Academic Press, 1976.
- 122) PARKER, M. S., DOKOH, S., WOOLFENDEN, J. M., and
BUCHSBAUM, H. W. Hypercalcemia in Coccidioidomycosis.
Feb. 1984. Am. J. Med. 76(2) 341-4.
- 123) PETKUS, A. F., BAUM, L. L., ELLIS, R. B., STERN, M.,
and DANLEY, D. L. Pure Spherules of Coccidioides
immitis in Continuous Culture. J. Clin. Microbiol. Aug.
1985. 22(2) 165-7.
- 124) PONT, A. Ketoconazole Blocks Adrenal Steroid Synthesis.
Ann, Intern. Med. Sept. 1982. 97(3) 370-2.

- 125) POWELL, B. L., and DRUTZ, D. J. Identification of a High-Affinity Binder for Estradiol and Low-Affinity Binder for Testosterone in Coccidioides immitis. Infect. Immun. Sept. 1984. 45(3) 784-6.
- 126) POWELL, B. L., DRUTZ, D. J., HUPPERT, M., and SUN, S. H. Relationship of Progesterone- and Estradiol-Binding Proteins in Coccidioides immitis to Coccidioidal Dissemination in Pregnancy. Infect. Immun. May. 1983. 40(2) 478-85.
- 127) REA, T. H., EINSTEIN, H., and LEVAN, N. E. Dinitrochlorobenzene in Disseminated Coccidioidomycosis: An inverse Correlation with Complement-Fixing Antibody Titers. J. Invest. Dermat. Jan. 1976. 66(1) 34-7.
- 128) REA, T. H., JOHNSON, R., EINSTEIN, H., and LEVAN, N. E. Dinitrochlorobenzene Responsivity: Severe Pulmonary Coccidioidomycosis and Patients with Disseminated Coccidioidomycosis. J. Infect. Dis. March. 1979. 139(3) 353-8.
- 129) RIFKIND, D., FREY, J. A., PETERSEN, E. A., and DINOWITZ, M. Transfer of Delayed Hypersensitivity in Mice to Microbial Antigens with Dialyzable Transfer Factor. Infect. Immun. Apr. 1977. 16(1) 258-62.
- 130) ROBERTS, C. J. Coccidioidomycosis in Acquired Immune Deficiency Syndrome: Depressed Humoral as well as Cellular Immunity. Am J. Med. Apr. 1984. 76(4) 734-6.

- 131) ROSS, J. B., LEVINE, B., CATANZARO, A., EINSTEIN, H., SCHILLACI, R., and FRIEDMAN, P. J. Ketoconazole for Treatment of Chronic Pulmonary Coccidioidomycosis. Ann. Intern. Med. Apr. 1982. 96(4) 440-3.
- 132) SADAYOSHI-YOSHINOYA., COX, R. A., and POPE, R. M. Circulating Immune Complexes in Coccidioidomycosis: Detection and Characterization. Oct. 1980. J. Clin. Invest. 66(4) 655-63.
- 133) SALAKI, J. S., LOURIA, D. B., and CHMEL, H. Fungal and Yeast Infections of the Central Nervous System: A Clinical Review. Medicine, Jan. 1984. 63(2) 108-32.
- 134) SCALONE, G. M., LEVINE, H. B., CHAPARAS, S. D., and COBB, J. M. Properties and Assay of Spherulins from Coccidioides immitis in Delayed Sensitivity Responses of Animals. Sabouraudia. 1973. 11(3) 222-34.
- 135) SCALONE, G. M., LEVINE, H. B., PAPPAGIANIS, D., and CHAPARAS, S. D. Spherulin as a Complement-fixing Antigen in Human Coccidioidomycosis. Am. Rev. Respir. Dis. 1974. 110:324-8.
- 136) SCHWARZ, J. Comparative Epidemiology of Four Deep Mycoses. A Review. Mykosen. Jan 1986. 29(1) 5-9.
- 137) SEGAL, G. P., LEHRER, R. I., and SEISTED, M. E. In vitro Effect of Phagocyte Cationic Peptides on Coccidioides immitis. J. Infect. Dis. May. 1985. 151(5) 890-4.

- 138) SEKHON, A. S., DISALVO, A. F., STANDARD, P. G., KAUFMAN, L., TERRENI, A. A., and GARG, K. M. Evaluation of Commercial Reagents to Identify the Exoantigens of Blastomyces dermatitidis, Coccidioides immitis and --- Histoplasma Species Cultures. Am. J. Clin. Patho. Aug. 1984. 82(2) 206A-9A.
- 139) SHADOMY, S., ESPINEL-INGROFF, A., TARTAGLIONE, T. A., and DISMUKES, W. E. Treatment of Systemic Mycoses with Ketoconazole: Studies of Ketocanazole Serum Levels. Mykosen. May. 1986. 29(5) 195-209.
- 140) SHAPAI, T. Neonatal Coccidioidomycosis in Premature Twins. Am. J. Dis. Child. 132:634, 1978.
- 141) SIEVERS, M. L. Coccidioidomycosis and Race. Am. Rev. Respir. Dis. May. 1979. 119(5) 839.
- 142) SIEVERS, M. L., and FISHER, J. R. Decreasing Incidence of Disseminated Coccidioidomycosis Amongst the San Carlos Apache Indians: A Probable Environmental Basis. CHEST. Oct. 1982. 82(4) 455-60.
- 143) SINSKI, J.T., REED, G. L., KELLEY, L. M., and FEBURE, R. L. Macrophage Migration Technique using Coccidioidin. Infect. Immung. Feb. 1973. 7(2) 226-30.
- 144) STANDARD, P. G., and KAUFMAN, L. Immunologic Procedure for the Rapid and Specific Identification of Coccidioides immitis Cultures. J. Clin. Microbiol. Feb. 1977. 5(2) 149-50.

- 145) STEVENS, D. A., PAPPAGIANIS, D., MARINKOVICH, V. A.,
and WADDELL, T. F. Immunotherapy in Recurrent
Coccidioidomycosis. Cell. Immunol. Apr. 1974. 12(1)
37-48.
- 146) STEVENS, D. A. Coccidioidomycosis. A Text. Pleurum
Medical Book. Company., New York and London, 1980.
- 147) STEVENS, D. A. Advances in Therapy of Coccidioidomycosis.
Microbiology 1986. American Society for Microbiology.
179-80.
- 148) SUN, S. H., HUPPERT, M., and VUKOVICH, K. R. Rapid in
Vitro Conversion and Identification of Coccidioides
immitis. J. Clin. Microbiol. Feb. 1976. 3(2) 186-90.
- 149) SUN, S. H., and HUPPERT, M. A cytological Study of
Morphogenesis in Coccidioides immitis. Sabouraudia.
Jul. 1976, 14(2) 185-98.
- 150) SUN, S. H., SEKON, S. S., and HUPPERT, M. Electron
Microscopic Studies of Saprobic and Parasitic Forms
of Coccidioides immitis. Sabouraudia. Sept. 1979.
17(3) 265-73.
- 151) SUN, S. H., COLE, G. T., and DRUTZ, D. J. Electron-
Microscopic Observations of The Coccidioides immitis
parasitic Cycle in vitro. J. Med. Veter. Mycol. 1986.
24:183-92.

- 152) SYMOENS, J., MOENS, M., DOM, J., SCHEIJGROND, H., DONY, J., SCHVERMANS, V., LEGENDRE, R., and FINESTINE, N. An Evaluation of Two Years of Clinical Experience with Ketoconazole. *Rev. Infect. Dis.* Jul-Aug. 1980. 2(4) 674-87.
- 153) THE INDEX MERCK. An Encyclopedia of Chemicals and Drugs. 9a. Edición, Merck and C. O., Inc. Rahway, N. Y., USA, 1976.
- 154) VALDECASAS, F. G. Farmacología. Capítulo 12: Quimioterapia de las infecciones producidas por Hongos. pp. 497-503. 7a. Edición., Librerías EXPAX5, Barcelona (España) 1978.
- 155) WARD, E. R., COX, R. A., SCHMITT, J. A., HUPPERT, M., and SUN, S. H. Delayed-Type Hypersensitivity Response To a Cell Wall Fraction of the Mycelial Phase of Coccidioides immitis. *Infect. Immun.* Nov. 1975. 12(5) 1093-7.
- 156) WARREN, K. S., and MAHWOOD, A. A. F. Tropical and Geographical Medicine. Chapt. 100: Coccidioidomycosis. Eskild A. Petersen, Galgiani, J. W., pp. 916-20. McGRAW-HILL, Inc., 1984.
- 157) WINER, M. H. Antigenemia Detected in Human Coccidioidomycosis. *J. Clin. Microbiol.* Jul. 1983. 18(1) 136-42.

- 158) WELS, O., GONZALEZ, J. G., DIAZ, M., MADERO, D., and GONZALEZ, J. Therapeutic Evaluation of Ketoconazole in Patients with Coccidioidomycosis. Rev. Infect. Dis. Jul-Aug. 1980. 2(4) 651-5.
- 159) WEIDEN, M. A., GALCIANI, J. N., and PAPPAGIANIS, D. Comparison of Immundiffusion Techniques with Standard Complement Fixation Assays for Quantitation of Coccidioidal Antibodies. J. Clin. Microbiol. Sept. 1983. 18(3) 529-34.
- 160) WOOD, J. C., FRIEDLY, G., ZARTARIAN, M., AANAES, S., and DE LA MAZA, L. M. Alternatives to the Standardized Laboratory Branch Complement Fixation Test for Detection of Antibodies to Coccidioides immitis. J. Clin. Microbiol. Dec. 1982. 16(6) 1030-3.
- 161) WOODRUFF III, W. W., BUCKEY III, E., GALLIS, H. A., COHN, J. R., and WHEAT, R. W. Reactivity to Spherule-Derived Coccidioidin in the Southeastern United States. Infect. Immun. March. 1984. 43(3) 860-9.
- 162) WHEAT, R., SCHEER, E. Cell Walls of Coccidioides immitis: Neutral Sugars of Aqueous-Alkaline Extract Polymers. Infect. Immun. Jan. 1977. 15(1) 340-1.
- 163) WHEAT, R. W., TRITSCHER, C., CONANT, N. F., and LOWE, E. P. Comparison of Coccidioides immitis Arthrospore, Mycelium and Spherule Cell Walls and Influence of Growth Medium on Mycelial Cell Wall Composition. Infect Immun. July. 1977. 17(1) 91-7.

- 164) WHEAT, R. W., SU CHUNG, K. S., ORNELLAS, E. P., and SCHEER, E. R. Extraction of Skin Test Activity from Coccidioides immitis Mycelia by Water, Perchloric --- Acid and Aqueous Phenol Extraction. Infect. Immun. Jan. 1978. 19(1) 152-9.
- 165) WHEAT, R. W., WOODRUFF III, W. W., and HALTIWANGER, R. S. Occurrence of Antigenic (Species-Specific) Partially 3-O-Methylated Heteromannans in Cell Wall and Soluble Cellular (Nonwall) Components of Coccidioides immitis Mycelia. Infect. Immun. Aug. 1983. 41(2) 728-34.
- 166) YOUMANS, G. P., PATERSON, P. Y., and SOMMERS, H. M. The Biologic and Clinical Basis of Infectious Diseases. 1975, W. B. Saunders Company/Philadelphia/London/Toronto. Chapt. 26: Histoplasmosis, Coccidioidomycosis and Blastomycosis. pp. 375-94.
- 167) ZABEZENSKY, F., and NORTHEY, W. T. Variation in the in vitro Migration of Sensitized Guinea Pig Peritoneal Exudate Cells in the Presence of Coccidioidin. Infect. Immun. Feb. 1974. 19(2) 416-8.
- 168) ZIMMER, B. L., and PAPPAGIANIS, D. Comparison of Immunoblot Analyses of Spherule-Endospore-Phase Extracellular Protein and Mycelial-Phase Antigen of Coccidioides immitis. Infect. Immun. July. 1986. 53(1) 64-70.