

70



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA



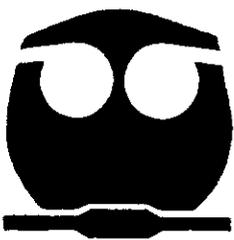
EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA

## TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

### HISTOPLASMOSIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**  
 P R E S E N T A :  
**MARIANELA GONZÁLEZ MENDOZA**

2000/05/25





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

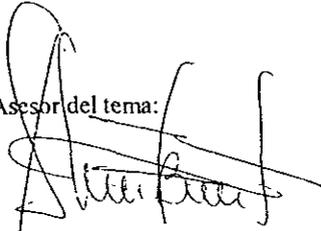
**JURADO ASIGNADO:**

Presidente: **ABEL GUTIERREZ RAMOS**  
Vocal: **MARIA GUADALUPE TSUZUKI REYES**  
Secretario: **JOSE ALEXANDRO BONIFAZ TRUJILLO**  
1er. Suplente: **MARCO ANTONIO ORTIZ JIMENEZ**  
2do. Suplente: **MA. DE LOS DOLORES CAMPOS ECHEVERRIA**

Sitio donde se desarrollo el tema:

1. **Biblioteca del Hospital General de México**
2. **Biblioteca del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Subirán"**
3. **CENAIDS (Centro Nacional de Investigación Documental en Salud) en el Centro Médico siglo XXI**
4. **Biblioteca de la Facultad de Medicina de la UNAM**
5. **Biblioteca del Instituto de Biomédicas de la UNAM**

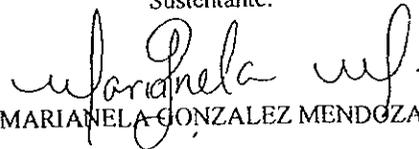
Asesor del tema:

  
M.C. JOSE ALEXANDRO BONIFAZ TRUJILLO

Supervisor Técnico:

  
Q.F.B. JAVIER ARAIZA SANTIBAÑEZ

Sustentante:

  
MARIANELA GONZALEZ MENDOZA

*Agradezco a mis padres el cariño y apoyo que siempre me han dado, a mis hermanos, a mis abuelos y a mis tíos su generosidad y estímulo. A mi pareja por su amor.*

*A mi asesor de tesis, por su valioso tiempo dedicado en este trabajo y por su desempeño profesional.*

*A mis amigos y profesores de la facultad de química, de los que siempre he tenido demasiadas cosas que aprender.*

*A mi Alma Mater, que me ha formado no solo como profesionista, sino también como persona.*

*Marianela González Mendoza.  
abril de 2000*

*Los grandes viajes inician con el primer paso...*

*Lao Tse.*

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>2</b>
<b>DEFINICIÓN</b>	<b>3</b>
<b>ANTECEDENTES HISTÓRICOS</b>	<b>4</b>
<b>ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS</b>	<b>7</b>
<b>PATOGÉNI</b>	<b>21</b>
<b>MICOLOGÍA</b>	<b>22</b>
<b>MANIFESTACIONES CLÍNICAS</b>	<b>34</b>
<b>DIAGNÓSTICO</b>	<b>55</b>
<b>TRATAMIENTO Y PROFILÁXIS</b>	<b>65</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>70</b>
<b>APÉNDICE A</b>	<b>71</b>
<b>APÉNDICE B</b>	<b>78</b>
<b>APÉNDICE C</b>	<b>80</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>84</b>

## INTRODUCCIÓN:

La histoplasmosis se ha caracterizado como una micosis profunda o sistémica que afecta al sistema reticuloendotelial. *Histoplasma capsulatum* variedad *capsulatum* es un hongo dimórfico, se adquiere principalmente en ambientes cerrados donde abundan deyecciones de quirópteros y aves.

En nuestro país existen zonas altamente endémicas que anualmente tienen registros de micro epidemias, tanto por su relación a actividades laborales como de recreación. Su asociación con SIDA es cada vez más importante, por lo que el laboratorio debe tener bien delineados los métodos de detección, así como un diagnóstico diferencial efectivo.

El tratamiento temprano con anfotericina B y/o derivados azólicos en pacientes no inmunocomprometidos por lo regular erradica la enfermedad.

En pacientes con SIDA es necesaria una terapia de inducción, aunada a una de mantenimiento para evitar recaídas.

**OBJETIVO GENERAL:**

Realizar una revisión bibliográfica sobre histoplasmosis con particular enfoque en los aspectos clínicos, factores predisponentes, diagnóstico de laboratorio y tratamiento.

**OBJETIVOS PARTICULARES:**

Hacer una revisión de los factores predisponentes, su importancia en pacientes con problemas inmunológicos, en especial en pacientes con SIDA.

Reportar los avances en las formas de detección y los fármacos utilizados en este padecimiento.

#### DEFINICIÓN:

La histoplasmosis es una micosis sistémica o profunda que se adquiere por inhalación de hifas y esporas del hongo dimórfico: *Histoplasma capsulatum* variedad *capsulatum*. Afecta el sistema reticuloendotelial, produce básicamente un cuadro pulmonar, y en menor proporción puede provocar una afección cutánea así como diseminarse.

Es también llamada histoplasmosis americana, enfermedad de Darling, reticuloendoteliosis, citomicosis, enfermedad de las cavernas y minas, enfermedad de los mineros y espeleólogos<sup>1</sup>.

## ANTECEDENTES HISTÓRICOS

En 1904-1905 Darling<sup>2</sup>, patólogo norteamericano, describió en Panamá la histoplasmosis. al practicar la necropsia de un sujeto negro originario de Martinica que murió de fiebre progresiva con anemia, hepatoesplenomegalia, y presentaba lesiones muy parecidas a las de tuberculosis. Observó al microscopio tejido infectado y encontró dentro de histiocitos cuerpos intracelulares con “cápsula” y decidió llamarlo *Histoplasma capsulatum*. Darling influenciado por los recientes descubrimientos de Donovan y Leishman creyó, que el microorganismo encontrado era un protozooario por sus características de tinción y tamaño. En 1906 descubrió dos casos más y concluyó que el padecimiento era muy parecido al Kala azar (Leshmaniasis sistémica), ya que inducía esplenomegalia, sin embargo, dedujo que se trataba de un padecimiento diferente debido a que el microorganismo no presentaba blefaroblasto y aparentemente tenía un halo capsular<sup>3</sup>.

En 1906 en Filipinas, Strong<sup>4</sup> publicó la descripción de una enfermedad similar, aunque era muy probable que se tratara del mismo padecimiento, su descripción y dibujos eran menos completos que los de Darling.

Más tarde en 1912, Rocha<sup>5</sup> estudiante brasileño en Hamburgo, concluyó que la histoplasmosis era una micosis, al comparar cortes histológicos del primer caso panameño con una linfagitis epizótica equina, causada por *Histoplasma capsulatum* variedad *farcimonium*

En 1926 Riley y Watson<sup>6</sup> describieron el padecimiento en una mujer de Minnesota, con lo que se concluyó que la histoplasmosis no sólo estaba restringida a clima tropical.

En 1929 Dodd y Tomkins<sup>7</sup> en la Universidad de Vanderbilt diagnosticaron el primer caso premortem, al encontrar al hongo en sangre periférica de un infante. El material fue cultivado por DeMonbreum<sup>8</sup> en medios diferentes donde creció un moho, con

el que reprodujeron la enfermedad en animales, lo que permitió demostrar la fase de micelio a temperatura ambiente y de levadura a la temperatura del cuerpo humano y de algunos otros mamíferos.

En 1934 Hansmann y Schenken<sup>9</sup>, presentaron a la Sociedad Americana de Patólogos y Bacteriólogos, la descripción de un organismo al que denominaron *Sepedonium sp.*, el cual resaltaba por su capacidad dimórfica.

En 1940 Negroni<sup>10</sup> estudió el primer caso de histoplasmosis en Argentina.

En 1941 se hizo notar la histoplasmosis pulmonar crónica (HPC), en una autopsia<sup>11</sup>, y en 1948 se diagnosticó por primera vez en un paciente vivo.<sup>12,13</sup>

En 1943, Perrín y Martínez Baéz<sup>14</sup> diagnosticaron el primer caso en México al identificar el hongo en una biopsia de una placa faríngea, en la expectoración y el sedimento urinario de un enfermo de 68 años de edad.

En 1944 Christie<sup>15</sup> y Palmer<sup>16,17</sup> realizaron intradermoreacciones con el extracto de la fase micelial de *Histoplasma capsulatum* (histoplasmina), lo que le permitió señalar una forma benigna de la histoplasmosis, además de la distribución de la enfermedad.

En 1947 Tenenberg<sup>18</sup> desarrolló la prueba de fijación de complemento como el primer método serológico para el diagnóstico de histoplasmosis.

En 1948 Emmons<sup>19</sup> aisló el hongo del suelo, mientras que Zeidberg<sup>20</sup> y colaboradores concluyeron que el excremento de aves y murciélagos favorecían el crecimiento del hongo.<sup>21,22</sup>

En 1951 Hotchkiss logró teñir la pared celular de la levadura usando una variante de la tinción periódica de McManus ácido-Schiff. Más tarde Kligman y colaboradores<sup>23</sup> establecieron la utilidad de dicha tinción para la diferenciación de hongos en tejidos.

En 1955 el trabajo de Schwarz, y colaboradores<sup>24,25</sup> describieron las características clínicas y patológicas de la infección benigna.

En 1960, el fenómeno de crecimiento pulmonar de histoplasmosas fue descrito por Baum y colaboradores<sup>26</sup>.

En 1972 Kwon-Chung<sup>27,28</sup> describió el estado perfecto de *Histoplasma capsulatum*, al que nombró *Emmosiella capsulata*, más tarde en 1979 Mc Ginnis y Katz<sup>29</sup> concluyeron que *Emmosiella capsulata* era sinónimo de *Ajellomyces capsulatus* quedando este último como el nombre válido para la fase sexuada y perteneciendo a la familia *Gymnascaceae* de la subdivisión *Ascomycotina*

## ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS

### DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La histoplasmosis se distribuye en todo el mundo con excepción de la Antártida. En la naturaleza *H. capsulatum* se encuentra entre los paralelos 45° norte y 30° sur del ecuador, es decir, se desarrolla con más facilidad en climas tropicales y subtropicales, con temperatura promedio de 22 a 30°C y humedad relativa de 60 a 80%<sup>30</sup>, aunque existen algunas variantes.

Se considera como la micosis respiratoria más frecuente en el mundo, tan sólo en Estados Unidos se estiman 40 000 000 de enfermos y se calculan 200 000 casos nuevos al año<sup>31</sup>.

En Canadá, el área endémica de la histoplasmosis se extiende por la franja situada a lo largo de los lagos Erie y Ontario, siguiendo el curso del río San Lorenzo en el sureste del país<sup>32</sup>. Hasta 1982 se habían diagnosticado 244 casos de histoplasmosis distribuidos en las provincias de Quebec, Ontario y Manitoba entre otras.<sup>33</sup>

En Estados Unidos existen áreas hiperendémicas donde los habitantes del medio rural y urbano tienen una positividad a la histoplasmina mayor del 50%, como ocurre en los estados de Arkansas, Kentucky, Tennessee y Missouri, habiéndose encontrado en la población adulta del condado de Boone, Missouri, una prevalencia de reactores a la histoplasmina del 100%<sup>34</sup>. Esta gran región, es considerada de alto riesgo puesto que cada año se notifican numerosos casos nuevos de histoplasmosis en humanos y animales. En lugares vecinos a esta región la positividad a la histoplasmina permanece alta, como sucede en los estados de: Illinois, Indiana, Ohio, y Oklahoma; con prevalencia media alta en Alabama, Kansas, Louisiana, Maryland, Mississippi, Texas y Virginia Oeste. Se sugiere que algunos de estos brotes epidémicos son producidos por las parvadas de estorninos, pájaros negros y gregarios que anidan formando grandes colonias que alcanzan hasta 8 millones, y llegan a depositar hasta 13 cm de excretas por estación.<sup>35,36</sup> aunado a los vientos formados por huracanes, que favorecen la dispersión de las esporas del hongo desde los focos infecciosos.<sup>37</sup>

La reactividad cutánea promedio del país se calcula en un 20 %, lo cual significa que más de 40 millones de estadounidenses están infectados.<sup>38</sup>

En México su importancia resalta por el alto índice de letalidad observado en la forma clínica pulmonar primaria, generalmente asociada a brotes epidémicos por su relación cercana con ciertas actividades laborales que aumentan el riesgo de contraer la enfermedad y por su cada vez más frecuente asociación al SIDA.

Los escasos reportes de la enfermedad en el país se iniciaron en la década de los cuarenta, aunque existen datos que remontan su probable descripción al siglo pasado e incluso a la época precolombina.<sup>39</sup>

A partir de 1988 inician los registros oficiales de la enfermedad por parte de la Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud, señalando 1 065 casos nuevos hasta 1994, aunque datos no oficiales refieren un número mayor, lo que pone en evidencia el subregistro de la enfermedad.<sup>40</sup> Los casos registrados por la Dirección General de Epidemiología<sup>41</sup> se localizan principalmente en el centro del país, seguidos del Pacífico Sur y del Golfo; sobresaliendo: Veracruz, Campeche, Tabasco, Yucatán, Chiapas, Oaxaca, Guerrero; en el norte, en San Luis Potosí, Nuevo León y Tamaulipas.

Estudios recientes muestran áreas de alta y baja endemicidad, incluso en un mismo estado como es el caso de Guerrero donde la reacción positiva a histoplasmina fue del orden de 87.25, 80 y 4.7% en Juxtlahuaca, Olinalá y Coyuca de Benítez, respectivamente; por otra parte, en Querétaro, la población de Bucareli presenta una positividad del 53%, comparada con Tlaxcala que muestra sólo un 2.04%. Aunque el hongo se encuentra en amplia distribución en la naturaleza, los resultados anteriores son explicables debido a la actividad ocupacional de los habitantes de cada zona, las cuales son determinantes para adquirir la infección.<sup>42,43</sup> (tabla I, figura I).

Por otro lado, se ha registrado histoplasmosis aguda epidémica (HAE) en Belice, Costa Rica, Panamá, Colombia y Brasil<sup>44,45</sup>. En Venezuela, se diagnosticaron casos de histoplasmosis en los estados de Zulia, región capital de Caracas y en el estado de Monagas<sup>46,47</sup>

Se han confirmado formas diseminadas fulminantes asociadas al SIDA principalmente en Argentina, Guayana Francesa, Jamaica, México, Cuba y otras islas del Caribe<sup>48,49</sup>

En Argentina, Brasil y México se ha descrito frecuentemente, la presencia de lesiones bucales y cutáneas.<sup>50,51</sup> Hasta noviembre de 1993, en Brasil se habían notificado 314 casos de histoplasmosis diseminada, en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida, lo que correspondía al 0.7% de todas las infecciones diagnosticadas en estos enfermos.<sup>52</sup>

En Argentina, los numerosos casos clínicos publicados, provienen en su mayor parte de las planicies húmedas, tanto de la capital, Buenos Aires, como de la provincia federal: Santa Fe, Entre Ríos, el sur de Córdoba y la Pampa Oriental. Se han publicado también casos de SIDA con histoplasmosis asociada, en pacientes que presentaron una alta frecuencia de lesiones mucocutáneas.<sup>21,53-59</sup>

En la región Andina se demostró una prevalencia de reactores a la histoplasmina por arriba del 40%, no así en la República de Chile, donde la prevalencia fue muy baja.<sup>60</sup> En Ecuador se observó la existencia de pacientes neumópatas infectados por *H. capsulatum* principalmente en las provincias del litoral tropical y húmedo de Guayas, Manabí, los Ríos, el Oro, y Quito. Sin embargo no se diagnosticó el hongo en ninguna muestra de la región Interandina, donde el clima es más frío y con un ambiente relativamente seco.<sup>61</sup>

En Europa, la mayoría de los casos reportados son en personas que han viajado a las zonas endémicas, así como inmigrantes que llegan a vivir al viejo continente<sup>62,63</sup>, no obstante, existen algunos casos autóctonos que confirman la existencia de las condiciones ambientales necesarias para el crecimiento de *H. capsulatum*<sup>64,65,66</sup>. Se han reportado casos de histoplasmosis "Europea" en la región de Emilia-Romaña de Italia, en la región de Lombardía en el Valle del Río Poo y en Francia.<sup>67</sup>

En Asia, la positividad a la histoplasmina varió de 3 al 34% en Tailandia, con cifras menores en Hong-Kong, Birmania, Vietnam, India, Indonesia, Java, las Islas Filipinas y Malasia, habiéndose publicado algunos casos esporádicos: hasta 1970 sólo se conocían 30 casos asiáticos, 6 de ellos pulmonares y los restantes fueron considerados como "diseminados".<sup>69-73</sup>

En la Isla de Nueva Caledonia se descubrieron 5 pacientes todos con afección pulmonar<sup>74</sup>. Se han conocido casos esporádicos en Australia, Nueva Zelanda y Japón.<sup>75</sup>

En Africa, la prevalencia histoplasmínica varió del cero al 31% en Uganda, 49% en Costa de Marfil, y del 1 al 20% en Liberia, Malí, Sudán, Rwanda, Zaire y Sudáfrica,<sup>76,77</sup> y se han reportado brotes epidémicos ocurridos en las cuevas con murciélagos en Tanzania, Zimbabwe y Sudáfrica en la región de Transval<sup>78,79</sup> La histoplasmosis se ha demostrado esporádico también en Benin, Camerún, República Centroafricana, Congo, Djibouti, Kenia, Nigeria, Somalia, Senegal, Burundi y Bangui.<sup>80,81</sup>

Es importante resaltar que en África se presenta más bien la histoplasmosis ocasionada por *Histoplasma capsulatum*. Variedad *duboissi*, la cuál comparte variantes genéticas y antigénicas, por lo que no se tiene la certeza del origen de los reactores.

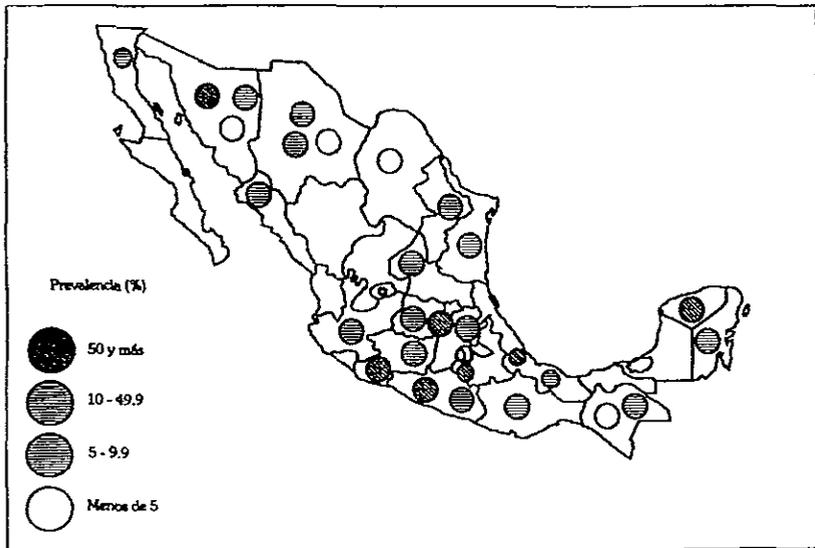


Figura 1. Distribución geográfica de la histoplasmosis en la República Mexicana según la prevalencia a la histoplasmina.

Ref. 30

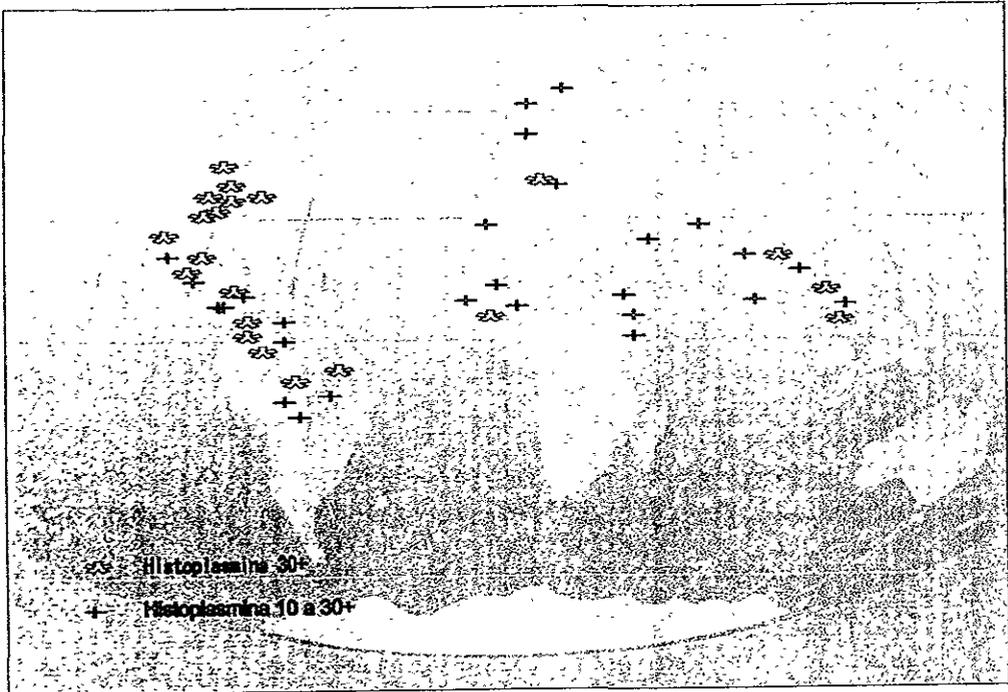


Fig. 2 Distribución geográfica de la histoplasmosis en el mundo según la prevalencia a la histoplasmina. Modificado de la Ref. 60

**Tabla I. Cronología de los brotes de histoplasmosis y focos de infección informados, 1956-1980.**

Año	Sitio de la Epidemia, Estado	No. Casos	Letalidad (%)	Año	Sitio de la Epidemia, Estado	No. Casos	Letalidad (%)
1956	Grutas de Cacahuamilpa, Gro.	8	80	1980	Tecalitlán (túnel), Jal.	8	ND
1960	Túnel de Cardona, Coíma	50	84.7	1980	Ezatlán, (mina aband.), Jal.	4	ND
1960	Cueva la Joya, Durango	11	100	1980	Guadalajara (caverna), Jal	4	ND
1961	Grutas de Cacahuamilpa, Gro.	5	55.6	1980	Torreón (caverna), Coah.	4	ND
1973	El Chlico (mina activa), Hgo.	15	46.6	1980	Tijuana, B.C.N.	1	ND
1973	Mina de los Santos, Querétaro	15	46.6	1980	Guanajuato (mina aband.), Gto.	4	ND
1979	Copalillo (túnel), Gro.	15	13.3	1980	Huadahuaca (caverna), Gro.	3	ND
1979	Tepic (mina aband.), Nay.	8	12.5	1980	San Joaquín (mina aband.), Qro	1	ND
1979	Ajijic (túnel), Jalisco.	15	ND	1980	Tzitzio (mina aband.), Mich.	3	ND
1979	S.L.P. (cavernas), S.L.P.	30	ND	1980	S.L.P. (mina aband.)	3	ND
1979	Tzitzio (mina aband.), Mich.	1	ND	1980	Tamaulipas (cueva)	30	ND
1979	Chilapas, Chis.	1	100	1980	Yucatán (cueva)	3	ND
1979	Huasteca Potosina (mina aband.), S.L.P.	1	ND	1980	Indeterminado	13	ND
1979	Cuernavaca (mina aband.), Mor.	2	ND				
1979	Jalisco (mina aband.)	2	ND				

Fuente: Boletines Epidemiológicos, Dirección General de Epidemiología, ND= No determinada; aband.= abandonada.

Ref. 30

## HÁBITAT Y FUENTE DE INFECCIÓN:

*Histoplasma capsulatum* es un saprobio poco competitivo del suelo, cuyo desarrollo y sobrevivencia dependen tanto de sus características intrínsecas como de la interacción de diversos factores del suelo con la humedad y temperatura ambiental, lo que determina los nichos ecológicos en que puede establecerse, siendo los ambientes cavernícolas uno de los principales.<sup>39</sup> Se sabe que es capaz de prosperar en diferentes tipos de suelos, desde limos arenosos y calizos hasta arcillas duras, cuya composición química y características físicas influyen en el tipo de biota presente.<sup>82</sup>

Goodman y Larsh<sup>83</sup> han establecido que *Histoplasma capsulatum* puede tolerar temperaturas del suelo de 18°C bajo cero, hasta 40°C o más por periodos no muy prolongados, siempre y cuando la humedad sea del 12% o más, así como crecer en un rango de pH de 5 a 10, con disponibilidad de oxígeno para sobrevivir y desarrollar su estado micelial o conidial, sin tener ninguna modificación morfológica.

En las capas superiores del suelo (1-2 cm) el hongo forma predominantemente conidios, que son sustituidos por hifas no esporuladas conforme aumenta la profundidad. Esto explica la formación de aerosoles con macroconidias, pero principalmente con

En las capas superiores del suelo (1-2 cm) el hongo forma predominantemente conidios, que son sustituidos por hifas no esporuladas conforme aumenta la profundidad. Esto explica la formación de aerosoles con macroconidias, pero principalmente con microconidias y pequeños fragmentos de hifas, que constituyen la fase infectiva del hongo cuando la superficie del suelo es perturbada.<sup>82</sup>

*Histoplasma capsulatum* se desarrolla de modo favorable, en el guano de quirópteros y aves, ya que aporta todos los nutrientes requeridos para su establecimiento, como es un elevado contenido de nitrógeno, fosfatos y otras sales; además se dispone de iones  $Ca^{+2}$  necesarios para el crecimiento de la fase micelial, como resultado de la lixiviación de las rocas calcáneas,<sup>84</sup> presentes en la mayoría de los suelos, razón por la cual la infección se da principalmente en ambientes cerrados como son cuevas, grutas, edificios abandonados entre otros.

La presencia de pequeñas cantidades del hongo en espacios abiertos, tanto en zonas rurales como urbanas constituye el foco más probable de infección para los individuos inmunodeprimidos.<sup>69</sup>

Se sugiere además que la su distribución en la naturaleza se deba al desplazamiento de murciélagos, aves e incluso de otros animales silvestres infectados, que transportan al hongo a otros sitios con condiciones favorables para su crecimiento y originando brotes epidémicos.

## VECTORES:

### Quirópteros:

Los murciélagos son el reservorio más importante del hongo en la naturaleza, se infectan al inhalar grandes concentraciones de esporas, éstas se instalan en el tracto gastrointestinal produciendo úlceras, y ocasionando padecimientos asintomáticos en la mayoría de los casos. Durante las deyecciones el parásito es arrojado en el guano, dando lugar a la óptima reproducción del hongo. De acuerdo a la disponibilidad de los recursos alimentarios, los murciélagos pueden manifestar desplazamientos altitudinales y longitudinales<sup>85,86</sup>, que los llevan a ocupar diferentes ambientes cavernícolas contaminados

y así su posible distribución e infección cerrando el ciclo infeccioso. González Ochoa en 1963<sup>87</sup> estableció que el 94% de los brotes de epidemias de histoplasmosis debieran ser asociadas al guano de *Tadarida brasiliensis*, especie insectívora que realiza desplazamientos de larga distancia en Norteamérica.<sup>88</sup>

Kunz<sup>89</sup>, en 1988, presenta un trabajo de recopilación de datos en el que integra todos los informes sobre aislamiento de *H. capsulatum* a partir de murciélagos infectados entre 1970 a 1981, y recientemente Taylor y colaboradores<sup>90</sup> comunican dos nuevos registros en el mundo y uno para México Tabla II

Aves:

Aunque se tienen reportes de aislamientos positivos del hongo en aves, no se consideran portadoras de la infección.<sup>91</sup> Es interesante hacer notar que la elevada temperatura corporal de las aves, no favorecen la replicación del hongo, sin embargo, lo pueden transportar en las plumas y depositarlo en su nido, siendo éste un lugar óptimo de cultivo, así como un foco de distribución.<sup>92</sup>

Por otra parte las granjas representan un foco de infección muy importante, tanto en zonas rurales como urbanas. En México, por ejemplo Taylor<sup>39</sup> establece que los llamados "palenques" o peleas de gallos pudieran ser un riesgo para los asistentes.

En EUA los excrementos de estorninos constituyen un nicho ecológico muy importante para *H. capsulatum*, en las zonas de mayor endemicidad

Otros:

El nicho ecológico que establece las condiciones microclimáticas para el desarrollo del hongo representa un riesgo de infección para los mamíferos en general. Los animales pueden sufrir infecciones leves o con evolución a enfermedad grave y muerte. Se ha reportado infección en varias especies correspondientes a 30 géneros, 12 familias y seis órdenes de mamíferos silvestres, 37 de las especies citadas pertenecen al orden *Chiroptera* (murciélagos).<sup>93,96</sup> se reportan casos también en armadillos,<sup>97</sup> tlacuaches,<sup>98</sup> hurones, zarigüeyas, mapaches, ratones, zorros, monos,<sup>99</sup> en animales domésticos se tiene registro de perros<sup>100</sup>, gatos<sup>101</sup>, conejos<sup>102</sup>, caballos<sup>103</sup>, camellos<sup>104</sup>, ovinos, porcinos, ratas caseras,

Tabla II. Especies de murciélagos portadora de *Histoplasma capsulatum*.<sup>93</sup>

Familias y especies	País de aislamiento	Familias y especies	País de aislamiento
<i>Noctilionidae</i>		<i>Lonchorhina aurita</i>	Panamá
<i>Noctilio labialis</i>	Panamá	<i>Macrotus waterhousii</i> *	Cuba
<i>Natalidae</i>		<i>Micronycteris megalotis</i>	Panamá
<i>Natalus stramineus</i> ***	México	<i>Phyllostomus discolor</i>	Panamá, El Salvador
<i>Mormoopidae</i>		<i>Phyllostomus harstatus</i>	Panamá
<i>Mormoops blainvillii</i>	Cuba	<i>Tonatia bidens</i>	Panamá
<i>Mormoops megalophylla</i> **	México	<i>Vespertilionidae</i>	
<i>Pteronotus davyi</i>	México	<i>Eptesicus brasiliensis</i>	Colombia
<i>Pteronotus parnellii</i> **	Panamá, Belice, México	<i>Eptesicus fuscus</i>	EUA, Cuba
<i>Pteronotus suapurenstis</i>	Panamá	<i>Myotis austroriparius</i>	EUA
<i>Phyllostomidae</i>		<i>Myotis californicus</i> **	México
<i>Artibeus hirsutus</i> ***	México	<i>Myotis grisescens</i>	EUA
<i>Artibeus jamaicensis</i>	El Salvador, Cuba	<i>Myotis lucifugus</i>	EUA
<i>Brachyphylla cavernarum</i>	Puerto Rico	<i>Myotis myotis</i>	Israel
<i>Brachyphylla nana</i>	Cuba	<i>Myotis sodalis</i>	EUA
<i>Carollia perspicillata</i>	Panamá, Ecuador	Colombia, <i>Nyctictetus humeralis</i>	EUA
<i>Desmodus rotundus</i>	Panamá, Colombia,	<i>Pipistrellus subflavus</i>	EUA
<i>Glossophaga soricina</i>	Panamá, Colombia,	<i>Molossidae</i>	
<i>Leptonycteris curasae</i>	México	<i>Molossus molossus</i>	Panamá, Ecuador
<i>Leptonycteris nivalis</i> ***	México	<i>Molossus sp</i>	Panamá
<i>Leptonycteris sanboni</i>	EUA	<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	Panamá
<i>Lonchophylla robusta</i>	Panamá	<i>Tadarida brasiliensis</i>	EUA

Modificada de Kunz<sup>89</sup> y actualizada con datos de \*Fernández-Andreu<sup>95</sup>, \*\*Taylor y cols.<sup>90</sup>.

\*\*\*Flores Estrada<sup>91</sup>

entre otros; el índice de infección varía según la localización geográfica y la especie animal.

Se ha observado que el perro parece ser el más susceptible a la infección, mientras que en el laboratorio, el ratón es el más utilizado para el estudio y cultivo del hongo. Los animales adquieren su enfermedad del suelo y no existen pruebas en pro de la transmisión de la histoplasmosis del animal al hombre.<sup>105</sup>

### VÍA DE ENTRADA:

#### Respiratoria:

La infección se inicia por lo general al inhalar microesporas asexuales (microconidias) y pequeños fragmentos de hifas, (las macroconidias por ser de un tamaño superior de 8-10  $\mu\text{m}$  no llegan hasta los alveolos, y generalmente son eliminadas por la expectoración); por lo que las lesiones primarias ocurren en los pulmones. Si subsecuentemente hay manifestaciones cutáneas, estas son asociadas con la diseminación progresiva de la infección pulmonar primaria y es considerada una lesión secundaria.<sup>106</sup>

#### Cutánea:

Es muy poco común que una lesión cutánea sea resultado de la inoculación del hongo en la piel,<sup>107</sup> sólo 0.5% de veces ocurre,<sup>1</sup> dando un complejo chancriforme, similar al de la esporotricosis o coccidioidomicosis, pero tiene tendencia a la involución espontánea y sólo se mantiene en pacientes severamente inmunosuprimidos, con lo que se podría decir que *H. capsulatum* no tiene afinidad al tegumento cutáneo y la mayoría de estos casos son secundarios a focos pulmonares. En algunos casos las pinchaduras en el laboratorio con material contaminado pueden dar lugar a chancros pequeños que involucionan favorablemente.

#### Vía directa (hombre-hombre):

Se tiene el registro de una mujer infectada por vía directa a través de contacto sexual. La transmisión venérea de la histoplasmosis cutánea primaria ha sido descrita como "histoplasmosis conyugal"<sup>108</sup>, además de existir un reporte de una posible transmisión directa en pacientes inmunodeprimidos.<sup>109</sup>

### **TIEMPO DE INCUBACIÓN:**

Los lapsos de incubación son muy variables, van desde los tres días hasta los tres meses, si bien esto acontece en casos raros, ya que el periodo ordinario oscila de siete a diez días, pero con frecuencia se observan periodos de incubación de 15 días.<sup>110</sup>

### **OCUPACIÓN:**

Sin lugar a duda la histoplasmosis tiene una estrecha relación con la actividad ocupacional, tanto en la forma epidémica (brotes esporádicos en grupos de personas que suelen penetrar a grutas o minas) como la endémica (cuando siempre se presentan casos aislados o de gran parte de la población), y aunque en la primera implique actividades recreativas, la actividad ocupacional es el más importante factor de riesgo para los grupos blanco donde destacan mineros, jardineros y campesinos que laboran en campos fertilizados con guano, criadores de aves, así como personal de laboratorio que trabaja con el microorganismo, espeleólogos, arqueólogos, antropólogos, geólogos, biólogos, entre otros, quienes deben procurar medidas de control.

*En México la histoplasmosis está referida como una enfermedad ocupacional según el código 130, artículo 513, renglón 9 de la ley federal de trabajo del seguro social.*<sup>111</sup>

### **RAZA:**

La raza blanca es más susceptible hasta en 25% con respecto a la negra<sup>1</sup>.

### **SEXO:**

En cuanto al sexo, se ha notificado que los hombres son más susceptibles a la enfermedad, con una proporción de 3 a 1 con respecto a las mujeres, pero se ha observado que en los adolescentes o adultos, los hombres se infectan con mayor frecuencia, e incluso cursan una enfermedad más agresiva; estos hallazgos se han comprobado también a nivel experimental en modelos murinos.<sup>112,113</sup>

## EDAD:

La enfermedad en menores de 10 años es mucho más grave, mientras que en el adulto joven la enfermedad es más benigna y tiene una fuerte asociación ocupacional. En México, es frecuente que los menores de cinco años se infecten cuando las madres acompañan al marido campesino a fertilizar los suelos con guano.

Se puede decir que la tasa de infección es acumulable, puesto que sigue una tendencia ascendente conforme la edad; en menores de 1 año, la tasa de infección es de un 9%, en niños menores de 14 años la tasa de infección es del 43% y si es menor de 24 años llega al 63%, sugiriendo que la gente joven, por sus hábitos ocupacionales (profesionistas, campesinos colectores de guano, excursionistas, etc.) presentan mayor riesgo de exposición al hongo<sup>30</sup>.

## FACTORES PREDISPONENTES:

- Deficiencia de linfocitos T
- Tiempo de exposición relacionado estrechamente con la cantidad de inóculo
- Linfoma, leucemia, transplantes de órganos, alcoholismo crónico, administración de glucocorticoesteroides, o inmunosupresores
- SIDA, con respecto a este padecimiento, la histoplasmosis podría ser más ampliamente distribuida de lo que se cree, ya que muchos pacientes no refieren haber visitado zonas de alto riesgo, ni viven en zonas endémicas, y se cree que el microorganismo puede encontrarse en parques y suelos urbanos. Es una de las micosis que probablemente en zonas endémicas, ocupa uno de los primeros lugares en la asociación con SIDA.<sup>114-117</sup>
- Se ha estudiado en México la inmunogenética de la histoplasmosis, donde se ha descrito la participación de factores genéticos susceptibles a la infección; los alelos HLA-B17 y HLA-B22 del Sistema Principal de Histocompatibilidad (SHP) se presentan en los pacientes con HP, con lo que se podría hablar de un marcador asociado con la susceptibilidad a la enfermedad, sin embargo se requieren de más estudios que se enfoquen al hallazgo de otros genes relevantes en la epidemiología de la histoplasmosis<sup>118</sup>.

## ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS MOLECULARES:

Los avances moleculares en los métodos de tipificación genotípica aunado a los métodos fenotípicos<sup>119</sup> son una herramienta importante para resolver dudas sobre fuentes ambientales de brotes epidémicos, así como la determinación de cepas patógenas, su virulencia, su manejo y distribución geográfica. Fenotípicamente se puede mencionar:

- La identificación del microorganismo de acuerdo a su morfología colonial y microscópica
- La producción de exoantígenos
- La transformación *in vitro* de fase micelial a levaduriforme (conversión dimórfica) e inoculación *in vivo* (histopatológica).
- El análisis de los perfiles electroforéticos SDS-PAGE (electroforesis en geles de poliacrilamida-dodecil sulfato de sodio) de las fracciones antigénicas de las histoplasminas
- Reconocimientos por sueros específicos en inmunoelectrotransferencias donde se pueden clasificar histoplasminas desnaturalizadas de cultivos diferentes, dependiendo de su peso y características físicas.

Sumados a los métodos genotípicos, de los que destacan:

- El polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción de ADN (RFLP), que consiste en digerir el ADN total del organismo con una enzima de restricción de alta frecuencia de corte, generando fragmentos de abundancia relativa que aparecen como bandas discretas en geles de agarosa; requiere de cantidades de ADN con alto grado de pureza, para ser digerido por endonucleasas de restricción.
- RAPD-PCR o polimorfismo del ADN amplificado al azar por la reacción de la polimerasa en cadena; éste método tiene la ventaja de utilizar muestras pequeñas y no muy puras de ADN para amplificarlas, con un resultado muy sensible.
- El análisis de restricción se complementa con el uso de sondas específicas de ADN genómico que permiten dividir las cepas en clases diferentes que reflejan la

distribución geográfica de *Histoplasma capsulatum* así como relacionarlas con cepas de referencia de otros países.

Dentro de los pioneros en tipificar molecularmente a *H. capsulatum* se encuentran los trabajos realizados por Kobayashi y colaboradores<sup>120-122</sup>, quienes en 1986 clasificaron en tres grupos muestras del hongo procedentes de los Estados Unidos y Panamá. A partir de dichos estudios en México se han realizado comparaciones moleculares dentro de las que destacan los trabajos de Salas y colaboradores<sup>123</sup> en el hospital de la Raza, cuyos resultados concluyen que:

- La variabilidad genética, determinada por RFLP, de cepas aisladas de México, es mayor a la descrita hasta ahora por cepas de otras regiones geográficas.
- La correlación de cepas tipo C en el país y su frecuencia en pacientes con SIDA
- Así como una distribución más amplia de la cepa A ó Downs, que se creía de distribución local en E.U, y fue encontrada en pacientes mexicanos con poca probabilidad de haberla contraído en E.U.

Por otra parte, Chávez Tapia y colaboradores<sup>96</sup> han estudiado marcadores moleculares del hongo en diferentes áreas geográficas asociadas al desplazamiento de murciélagos, con lo que se sugiere trazar un mapa de distribución de patrones polimórficos, que comprometan a los murciélagos como responsables de la dispersión de cepas, considerando sus movimientos y rutas migratorias que serían de gran utilidad para estudios mastozoológicos.

Aunque los trabajos moleculares en México aún son escasos se puede concluir que la diversidad genética de las cepas de *Histoplasma capsulatum* aporta datos interesantes que permiten sugerir posibles clasificaciones por medio de sus porcentajes de relación fenotípica y genotípica, así como, proponer ubicaciones de cepas en la naturaleza, considerando que existe diversidad entre las geográficamente cercanas y similitud entre otras lejanas, además de las variaciones debidas a condiciones propias del hábitat (presiones en diferentes nichos ecológicos), así como cambios genéticos de una misma clona por mecanismos de recombinación propios de organismos sexuales.

## PATOGENIA:

*Histoplasma capsulatum* es un hongo patógeno, su capacidad para producir enfermedad depende de mecanismos de adhesión y enzimáticos, así como de otros factores de virulencia, entre los que destacan su dimorfismo y la termodiferenciación a 37°C. Generalmente, la inhalación de una cantidad suficiente de conidias, provoca la infección en los pulmones, excepcionalmente se produce histoplasmosis cutánea primaria, la cual se origina por inoculación traumática y solución de continuidad.

La infección inicia con:<sup>124-127</sup>

1. El reconocimiento de las estructuras fúngicas por los macrófagos
2. La adhesión a las moléculas (adhesinas) CD 11a,b,c / CD18 de los macrófagos
3. La fagocitosis, que provoca alveolitis;
4. Posteriormente, se transforman en el sistema reticuloendotelial en levaduras intracelulares que pueden observarse en bazo, médula ósea, ganglios, hígado y glándulas suprarrenales;
5. Hay diseminación hematógena rápida y transitoria, pero casi siempre origina una enfermedad autolimitada, benigna;
6. Desaparece dejando calcificaciones en pulmones y bazo
7. Puede quedar hipersensibilidad al antígeno e inmunidad a la infección, que depende del sistema fagocítico mononuclear.

Tal curso constituye la forma benigna de la histoplasmosis.

La resolución de la enfermedad confiere cierto grado de inmunidad a la reinfección. sin embargo, cuando es masiva puede provocar desde varios grados de hipersensibilidad a los componentes antigénicos del microorganismo, hasta una alergia fatal<sup>128</sup>

Pocas veces la enfermedad se hace crónica y progresiva dando una reacción granulomatosa con caseosis que se manifiesta años después como una masa fibrosa y encapsulada por hipersensibilidad a los antígenos del hongo, el cual permanece atenuado pero viable en la zona: este fenómeno es muy similar a lo que ocurre con la tuberculosis.

Generalmente predisponen un defecto anatómico o una deficiencia de la inmunidad celular, como en pacientes con linfomas, trasplantes y SIDA.

MICOLOGÍA:

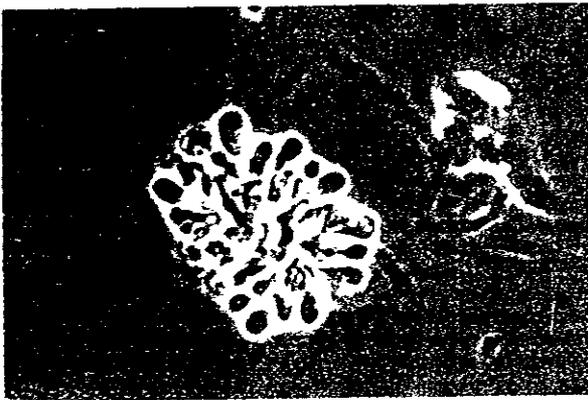
TAXONOMÍA Y NOMENCLATURA:

➤ *Histoplasma capsulatum* Darling<sup>2</sup>, 1906

Sinonimia<sup>3</sup>: (Acronimia)

- *Cryptococcus capsulatus* Castellani y Chalmers, 1919
- *Torulopsis capsulatus* Almeida, 1933
- *Posadasia capsulata* Moore, 1934
- *Posadasia pyriforme* Moore, 1934
- *Histoplasma pyriforme* Dodge, 1935

Estado sexuado:



➤ *Ajellomyces capsulatus* (Kwon Chung) McGinnis et Katz, 1979<sup>29</sup>.

Sinonimia:

➤ *Emmonsia capsulata* Kwon Chung<sup>28</sup>, 1973

Fig.3 *Ajellomyces capsulatus*. Gimnotecio maduro con ascas y ascosporas. Ref. 3

Tabla III. Clasificación Taxonómica de *H. capsulatum* var. *capsulatum*. Ref. 1

Clasificación	Fase asexual	Fase sexual
CLASE	<i>Deuteromycetes</i>	<i>Ascomycetes</i>
SUBCLASE:	<i>Hyphomycetidae</i>	<i>Plectomycetidae</i>
ORDEN:	<i>Moniliales</i>	<i>Onygenales</i>
FAMILIA:	<i>Moniliaceae</i>	<i>Gymnoascaceae</i>
GÉNERO:	<i>Histoplasma</i>	<i>Ajellomyces</i> o <i>Emmonsia</i>
ESPECIE:	<i>capsulatum</i>	<i>Capsulata</i> o <i>capsulatus</i>

## FORMA SAPROFÍTICA:

La fase micelial (M) ó saprofítica se desarrolla de los 20 a los 30°C produciendo un crecimiento moderado en la mayoría de los medios micológicos. *Histoplasma capsulatum* se puede cultivar en agar Sabouraud, el tiempo de crecimiento de las colonias es variable. Berliner<sup>129-131</sup> descubrió dos subtipos de las formas coloniales: uno albino y veloso (A) y otro café y plano (B), las cuales suelen cubrir el medio de cultivo aproximadamente en 14 días, ambos subtipos han sido aislados de un mismo enfermo, pero la forma B ha demostrado ser más virulenta para los roedores.

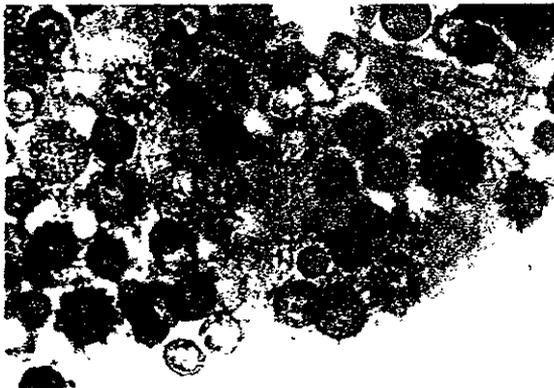


Fig. 4 Variación en tamaño y morfología de las macroconidias. Ref. 3

Las colonias albinas o blancas tienden a producir un micelio más grueso que las colonias café, estas últimas producen hifas aéreas esparcidas y macroconidias abundantes, pero se tornan blancas con una densa hifa aérea como resultado de repetidas transferencias en agar. La conversión de colonias café a blancas es un proceso irreversible y ocurre mucho más rápido cuando los cultivos son mantenidos en medios ricos en glucosa y nitrógeno, que cuando son mantenidos en medios pobres como agar harina de maíz o agar extracto de levadura. La temperatura de incubación también influye en la conversión; cuando los cultivos son incubados a 30°C, la velocidad de crecimiento se acelera, y la conversión es más rápida que cuando se mantienen a 25°C.

Los cultivos denominados “stock” ó cultivos madre se deben almacenar a 4°C y transferirlos periódicamente (cada 3 ó 4 semanas) a medio de cultivo recién elaborado, para la preservación de las características originales de la cepa.

En raras ocasiones se han descrito colonias aisladas del suelo, productoras de un pigmento rojo<sup>132</sup>.

Aislados de la variedad *duboisii* también producen colonias blancas que toman a cafés y que son indistinguibles de las de *H capsulatum* var. *capsulatum*.

**Tabla IV. Propiedades diferenciales de las variantes morfológicas de *Histoplasma capsulatum* variedad *capsulatum*.(Ref. 129)**

A Albina-Filamentosa	B. Café-Plana
Crecimiento rápido	Crecimiento lento
Sin pigmento (blanquecina)	Pigmento café
Hifas gruesas y anchas, hialinas	Hifas muy finas y pigmentadas
Macroconidias lisas	Macroconidias equinuladas
Microconidias abundantes	Microconidias escasas
Poco virulenta en los animales de laboratorio	Son virulentas para conejos y ratones
Puede perder su capacidad de esporular.	Es inestable y puede pasar a la fase albina
Predomina en los cultivos viejos.	

Los microcultivos de la fase M teñidos con azul de lactofenol están formados por un micelio hialino y septado, de 2µm de ancho; produce dos tipos de conidias a temperaturas menores de 35°C:

1. Microconidias, ovales, redondas o piriformes, con un diámetro de 2 a 4 µm y pared celular de lisa a ligeramente rugosa. Probablemente sean las más infectantes, dado su tamaño pequeño.

2. Macroconidias espiculadas o equinuladas o llamadas también clamidioconidias tuberculadas, de pared gruesa, la mayoría redondas o piriformes de 7-15 $\mu$ m de diámetro, recubiertas de proyecciones superficiales digitiformes, los tubérculos ó equínulas contienen un mucopolisacárido, el cual se tiñe íntensamente con el método de PAS(Ácido Peryódico de Schiff). Las equínulas son extensiones de la capa exterior y no gemaciones. Existe una variante de macroconidia de pared delgada y superficie lisa.

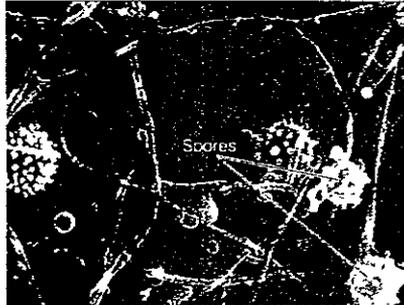


Fig. 5 Filamentos y esporas de *H. capsulatum*. Ref. 189

Ambas, macroconidias y microconidias son producidas individualmente en la punta de los conidióforos cortos y delgados, que se desprenden de la hifa en ángulo recto. Ocasionalmente los conidióforos tienen otros laterales con dos o tres conidias en cadena. El diámetro del conidióforo usualmente es uniforme a lo largo de la hifa, sin embargo, algunos presentan engrosamiento justo debajo de la conidia.

Las macroconidias contienen generalmente grandes gotas de lípidos. El grado de formación conidial varía en cada aislamiento. Los cultivos que forman colonias cafés-pardas producen muchas macroconidias con muy pocas microconidias. Por otra parte las cepas que forman colonias blancas tienden a producir más microconidias que macroconidias. Algunas otras cepas aisladas de casos clínicos o del suelo, caen entre estos dos extremos y producen igual abundancia de ambas.

Cuando los cultivos in vitro se mantienen por largos periodos en medios de cultivo con agar, pierden su capacidad para producir conidias, y con esto la posibilidad de recombinación genética o capacidad sexual, esto se resuelve agregando al medio de

cultivo glicerol y lactosa, con lo que además se mantienen las características coloniales. Algunas cepas poseen un número considerable de macroconidias sin las típicas proyecciones o espículas, generalmente éstas, son obtenidas después de terapia antimicótica y presentan este tipo de macroconidias no tuberculadas formando colonias blancas con micelio grueso y laxo.

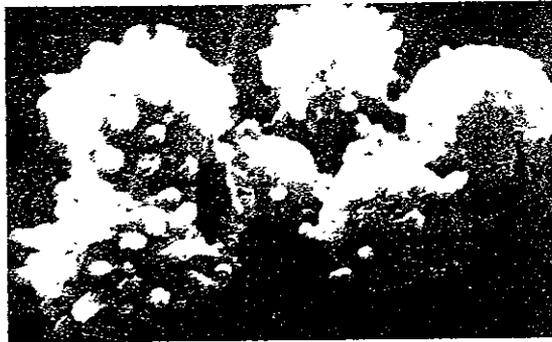


Fig. 6 Micrografía electrónica de la fase micelial de *H. capsulatum*. Ref. 3

En los cultivos a partir de biopsias de casos clínicos, es posible observar macroconidias típicas hasta que son subcultivados varias veces en agar. Tanto las macro como microconidias son liberadas por la ruptura de la pared del conidióforo y la base de la conidia. Las conidias libres tienen las características de aleurioconidias.

FORMA PARASITARIA O FASE LEVADURIFORME.

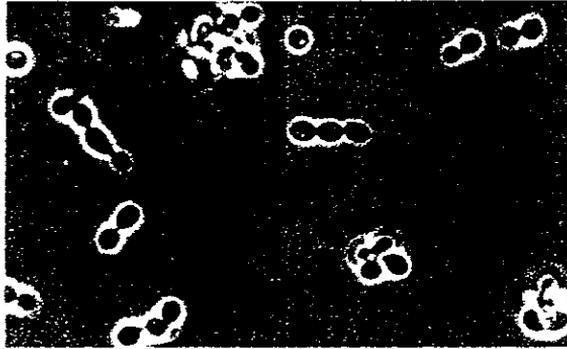


Fig. 7 Morfología microscópica de levaduras de *H. capsulatum*. 800X Ref. 3

*Histoplasma capsulatum* por definición es un hongo dimórfico, es decir su fase parasitaria levaduriforme (L), tiene una forma totalmente diferente a la fase micelial (M) saprofítica.

Esa conversión morfológica se puede lograr también *in vitro*, usando ciertos medios de cultivo sólidos incubados a 37°C, principalmente en agar infusión de cerebro-corazón, en agar sangre-glucosa-cisteína o el medio de Kurung -Yegian.<sup>133</sup> es decir, es dimórfico dependiente de temperatura y nutrientes.

Mientras que la transformación en los tejidos animales, es pronta y completa, el micelio sembrado en la superficie de esos medios, sufre una transformación paulatina, y alrededor del inóculo original van apareciendo pseudohifas que se convierten en una célula única y forman colonias lisas o rugosas, de consistencia suave, nunca mucoides, sin micelio aéreo, de color inicialmente crema a beige y torna a blanco grisáceo conforme pasa el tiempo; en ocasiones se necesita efectuar varios pases sucesivos para obtener la conversión a fase levaduriforme.

En algunas cepas, la conversión es incompleta en medios con agar, y se tienen mezclas de levadura e hifas, después de varias transferencias o pases. Algunas otras cepas no se transforman *in vitro* y requieren ser inoculados en animales para después formar colonias levaduriformes.

Aunque el hongo generalmente produce sólo levaduras en los tejidos, en raras ocasiones, se ha encontrado la producción de tubos germinales cortos, hasta hifas masivas, que invaden el interior de la cavidad pulmonar o las válvulas del corazón, tal como sucede en algunos casos de histoplasmosis endocardial<sup>134</sup>.

En el examen microscópico de la fase L, generalmente se ven células levaduriformes, ovoides, unicelulares, de pared delgada. Con un diámetro de 1.5 a 4  $\mu\text{m}$ , algunas de ellas se multiplican formando una blastoconidia, el istmo entre la célula madre y la gema suele ser muy estrecha.

A veces resulta difícil diferenciar la levadura de *H. capsulatum* de la fase levaduriforme pequeña y rara de *Blastomyces dermatitides*, sin embargo, las células de *Histoplasma* son uninucleadas e intracelulares, mientras que *Blastomyces* multinucleado y extracelular.

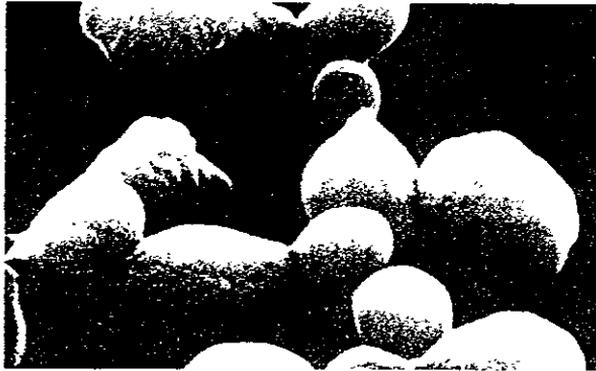


Fig. 8 Micrografía electrónica de levaduras de *H. capsulatum*. Ref. 3

Las levaduras de la var. *duboisii* en el tejido, se diferencian por ser de mayor tamaño (8-15  $\mu\text{m}$ ), tener una pared delgada y un istmo más pronunciado entre la célula madre y la gema.

## FASE SEXUADA O ESTADO PERFECTO:

*Gymnoascus demonbreunii* fue reportado primeramente por Ajello y Cheng<sup>135</sup> como el estado teleomorfo de *H. capsulatum*, después se descubrió que era un hongo homotático, no relacionado, pero que compartía el hábitat con *H. capsulatum*.

*Histoplasma capsulatum* fue clasificado como *Deuteromycota* desde 1972, cuando Kwon Chung<sup>26</sup> descubrió el estado heterotático o perfecto al cual le llamó *Emmonsia capsulata*. McGinnis y Katz<sup>29</sup> reestudiaron al microorganismo y lo clasifican con el género *Ajellomyces* junto con *A. dermatitidis*, el estado teleomorfo de *B. dermatitidis*. *A. capsulatus* es un ascomiceto heterotático, produce cleistotecios con características de la familia *Gymnoascaceae* similar a los dermatofitos.

La formación de cleistotecios es iniciada por una hifa no diferenciada morfológicamente, que se enrosca alrededor de la hifa del sexo opuesto, de dos a diez hifas angostas invaden el centro del joven ascocarpo. Esta formación de hifa es la única característica que comparte con *Ajellomyces dermatitidis*. Un racimo de hifas ascogenas salen del centro del ascocarpo joven, mientras que hifas cortas, perideales se producen al final de las colas delgadas. Las ascas están unidas por una forma de pera de 3 a 5 x 10 a 16  $\mu\text{m}$  y contiene 8 ascosporas. Las ascosporas son globosas, de 1.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, parecen lisas bajo la luz del microscopio, pero las observaciones ultraestructurales revelan escrescencias o "carnocidades" cónicas en la capa externa de la pared de la espora<sup>136</sup>. Análisis genéticos han demostrado que la compatibilidad de *Ajellomyces capsulatus* está controlada por el sistema de locus 1, alelo 2<sup>28</sup>.



Fig. 9 Zarcillos de *Ajellomyces capsulatus*. Ref. 3

## QUIMIOMORFOGÉNESIS MOLECULAR.

Desde hace más de 20 años estudios fisiológicos y bioquímicos se han enfocado al dimorfismo de *H. capsulatum*. Las diferencias bioquímicas de la fase levadura y micelio están condicionadas a requerimientos nutricionales, de temperatura, sistemas de síntesis de ARN, transporte de aminoácidos, composición de la pared celular y susceptibilidad a fármacos.

La temperatura es el factor más importante en el control del dimorfismo<sup>137</sup>. Cuando la temperatura cambia de 25 a 37°C, el hongo sufre una modificación metabólica profunda que se ha dividido en tres pasos:

1. En las primeras 24 a 40 horas, en el micelio se presenta una disminución progresiva de:
  - Respiración celular,
  - Concentración intracelular de cisteína y de otros aminoácidos,
  - Síntesis de las proteínas y del ATP.
  - Baja muy acentuada en la concentración y actividad de los citocromos b, c, a, a<sub>3</sub>
  
2. En la segunda fase que dura de 3 a 6 días, las células se mantienen en estado latente, la respiración ha cesado completamente al igual que la síntesis de ARN y proteínas.
  
3. En la última fase se presenta:
  - Incremento en la cisteína intracelular (debido a la activación de una permeasa<sup>138</sup> dependiente de ATP que la transporta)
  - Aparece la actividad de la cisteína oxidasa que genera grupos sulfidrilo libres, capaces de recuperar progresivamente el transporte de electrones en las mitocondrias<sup>139</sup> y mantener un potencial rédox bajo
  - Recuperación de la síntesis de proteínas y ARN

Durante la fase micelial *Histoplasma capsulatum* posee la enzima sulfito-reductasa capaz de reducir compuestos sulfurados y necesaria para la biosíntesis de la cisteína, al cambiar la temperatura, el potencial rédox y las condiciones del medio se expresa la cisteína-oxidasa, enzima que no se ha encontrado en el micelio y es capaz de

proporcionar los grupos sulfidrilo necesarios para el mantenimiento y transformación de la fase levaduriforme. Cuando el hongo crece a 37°C es probable que la cisteína actúe como un aceptor transitorio de los electrones, y cuando el microorganismo se adapta al cambio, los citocromos y las oxidasas vuelven a funcionar, sin embargo, esa derivación resulta ser ineficiente para la generación del adenosintrifosfato (ATP) necesario; para ello los macrófagos parasitados representan una ventaja para el hongo, puesto que el citosol del fagocito es muy rico en cisteína y en los metabolitos intermedios del ATP, además de proporcionar un ambiente favorable con un potencial redox muy bajo. Estudios realizados revelan que más del 40% de la cisteína se queda en la pared celular de la levadura<sup>140</sup>. En el medio intracelular hostil, las levaduras quedan protegidas por la coraza resistente de quitina y de 1 alfa-glucana presentes en la pared del hongo.

La adaptación del *Histoplasma capsulatum* a la temperatura corporal del huésped (37 °C), implica un proceso de modulación enzimática, con cambios en la estructura y fluidez de la membrana, así como de la pared celular del microorganismo, regulado parcialmente por los genes hsp-70 y hsp-83, los cuales inducen la síntesis de las proteínas de choque térmico. Recientemente Maresca y Kobayashi<sup>141</sup> demostraron que ese fenómeno es regulado principalmente por la concentración y los tipos de ácidos grasos presentes en el medio de cultivo; cuando al micelio se le añade el ácido palmítico saturado, se observa un incremento significativo en la transcripción de ARN mensajero específico, pero habiéndose agregado el ácido oleico insaturado, se reduce drásticamente la transcripción de los genes responsables de la termotolerancia fúngica. Las cepas virulentas tratadas con ácidos grasos insaturados perdieron esa propiedad, debido probablemente a que en esas circunstancias, la membrana citoplasmática del parásito fue incapaz de adaptarse con rapidez suficiente al ambiente intracelular del huésped.

En el micelio incubado a 37 °C, se interrumpió la síntesis de la desaturasa microsomal (ole-1), enzima facilitadora de la conversión de los ácidos grasos saturados a insaturados, cuya presencia y funcionalidad son necesarios para mantener así la virulencia del hongo. además de que simultáneamente se disminuyó el nivel intracelular del ATP, justo con un desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. A nivel molecular, *H. capsulatum* es sin duda el hongo patógeno difásico mejor estudiado<sup>137-144</sup>. el proceso de morfodiferenciación celular, es en realidad un mecanismo adaptativo.

## COMPOSICIÓN DE LA PARED CELULAR:

En la composición de la pared celular de las levaduras y el micelio se encuentran: glucanas, quitina, pequeñas cantidades de proteínas y lípidos<sup>145,146</sup>, la variabilidad en las cantidades de estos componentes permite el reconocimiento de dos serotipos y quimiotipos diferentes. Pine y Boone demostraron que los serotipos de *H. capsulatum* tenían diferente composición celular.<sup>147</sup>

La pared celular de la levadura tiene una estructura laminada, con un grosor aproximado de 100 nanómetros (nm), conteniendo principalmente quitina y  $\alpha$ -glucana, mientras en el micelio la pared alcanza un espesor de sólo 30 nm, con predominio de  $\beta$ -glucanas.

El quimiotipo I de la fase levaduriforme contiene grandes cantidades de quitina y no contiene  $\alpha$ -glucanas, mientras que el quimiotipo II contiene  $\alpha$ -glucanas y muy poca quitina. El quimiotipo II es similar a la pared celular de la fase levadura de *Blastomyces dermatitidis* ambos contienen cantidades iguales de quitina y monosacáridos. De aquí que se presenten cruces de reactividad.

Ha sido comparada la sensibilidad *in vitro* de la fase micelial y levaduriforme ante diferentes fármacos; mientras que la fase micelial de *H. capsulatum* es más susceptible a la anfotericina B y clotrimazol, la fase levaduriforme, presenta mayor susceptibilidad a la ciclohexamida, cloramfenicol y actinomicina D. Por otro lado el miconazol resulta con el mismo efecto en ambas fases. Howard<sup>148</sup> ha estudiado la sensibilidad de los sistemas oxidativos antifúngicos de las conidias y levaduras. En un mismo cultivo levaduras y conidias resultaron con igual susceptibilidad al peróxido de hidrógeno, lo que se atribuye al contenido de catalasa en ambas fases.

Por otro lado las células levaduriformes forman colonias cuando por lo menos  $1 \times 10^4$  células son inoculadas en agar. Por experiencias descritas, cuando una célula

manejada por micromanipulación es puesta en agar BHI o BGC a 37 ó 25°C no se obtiene crecimiento alguno.

Burt y Underwood<sup>149</sup> encontraron que para inóculos pequeños de levaduras, son necesarios ciertos factores de crecimiento, éstos son producidos por los mismos cultivos de levaduras de *H. capsulatum* en medios específicos. El factor de crecimiento fue identificado como ácido hidroxámico, sin embargo cuando el medio de cultivo utilizado es rico en hierro, la formación de éste se inhibe a 37°C. Análisis químicos de las sideróforas<sup>150</sup> muestran que tres de cada cuatro ácidos hidroxámicos son deferricoprógeno B y sus moléculas de deshecho: ácido dimerúmico y trans-fusarina también presentan actividad de factor de crecimiento tanto en la fase micelial como en la levaduriforme. El factor de crecimiento es producido por el cultivo de levaduras en caldo McVeigh y Morton<sup>151</sup> El factor resultante es estable a temperatura ambiente y puede ser incorporado al agar BHI, garantizando que el 90% de los inóculos de dicho agar produzcan colonias<sup>152</sup>.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS:

Desde los primeros casos clínicos de histoplasmosis se desarrolló un gran interés por el estudio de esta micosis; la clasificación de los cuadros clínicos presenta variantes dependiendo del punto de vista de los autores que más la han estudiado.

Entre estas clasificaciones destacan las de Rippon<sup>3</sup>, Kwon Chung y Bennett<sup>68</sup>, González Ochoa<sup>110</sup>, Goodwin y Dez Prez<sup>153</sup> entre otras. Lo importante es destacar que estas clasificaciones consideran todas las manifestaciones clínicas de esta micosis.

Goodwin y Dez Prez<sup>153</sup> clasifican a la histoplasmosis de la siguiente manera:

**Tabla V. CARACTERÍSTICAS**

INFECCIÓN BENIGNA EN PACIENTES SANOS:
Exposición usual media: Primaria asintomática y reinfección
Excepción: Primaria sintomática
Exposición inusual: Histoplasmosis Aguda
INFECCIÓN OPORTUNISTA:
Histoplasmosis Diseminada (defectos inmunes)
Histoplasmosis Pulmonar Crónica (defecto estructural)
FIBROSIS EXCESIVA: Residual de la fase primaria
Histoplasmosomas
Fibrosis mediastinal o colagenosis

Además de hacer distinción entre la Histoplasmosis Pulmonar Primaria (HPP) y la histoplasmosis de reinfección con el siguiente cuadro:

**Tabla VI. HISTOPLASMOSIS AGUDA. Ref. 153**

	TIPO PRIMARIO	REINFECCIÓN
Período de incubación	10-18 días	3-7 días
Grado de la enfermedad	Más severa	Menos severa
Localización geográfica	Periferia del área endémica	Área altamente endémica
En área endémica	Emigrantes	Nativos
Hallazgos en rayos X	Bronconeumonía	Nódulos miliares
	Adenopatía hiliar	Sin adenopatías
	Afección pleural	Sin afección pleural
Antigua clasificación	Usual	Ninguna

**Tabla VII. Clasificación según Rippon<sup>3</sup>**

---

- I. Infección benigna
    - a) Dosis común: histoplasmosis endémica
      - 1. Enfermedad endémica subclínica “convertidores de prueba cutánea”
      - 2. Enfermedad endémica sintomática: enfermedad de verano en niños y “gripe del hongo” en adultos.
      - 3. Enfermedad cutánea primaria.
    - b) Dosis fuerte: histoplasmosis epidémica
      - 1. Histoplasmosis pulmonar aguda
        - a) Infección primaria (síntomas en 10-18 días)
        - b) Reinfeción (síntomas en 3 a 7 días)
      - 2. Histoplasmosis aguda diseminada
  - II. Infección oportunista
    - a) Histoplasmosis diseminada (curso de la enfermedad con el tiempo)
      - 1. Enfermedad fulminante en niños (2 a 10 semanas)
      - 2. Enfermedad crónica moderada de los adultos (varios meses)
      - 3. Enfermedad crónica ligera de los adultos (10 a 20 años)
      - 4. Enfermedad fulminante en adultos, relacionada con inmunosupresión o con enfermedades linfomatosas (rápida pero variable)
  - III. Fibrosis aberrante y enfermedad por hipersensibilidad.
    - a) Histoplasmosis
    - b) Fibrosis de mediastino
      - 1. Síndrome de vena cava superior
      - 2. Granulomatosis broncoconcentrica
-

**Tabla VIII. Clasificación según Kwon Chung<sup>68</sup>**

La histoplasmosis esta clasificada de acuerdo a la vía de entrada.  
Avanzando por los nodos linfáticos y estructuras continuas.

- Histoplasmosis pulmonar aguda
- Mediastinitis
- Pericarditis
- Histoplasmosis pulmonar crónica
  - No cavitaria
  - Cavitaria
- Mucocutánea
- Histoplasmosis hematógicamente diseminada

Para México, la clasificación de González Ochoa<sup>110</sup> describe las formas clínicas de la histoplasmosis observadas en nuestro país:

**Tabla IX. CLASIFICACIÓN DE LA HISTOPLASMOSIS PRIMARIA SINTOMÁTICA.** Ref. 110

FORMA CLÍNICA	CARACTERÍSTICAS
LEVE	Ausencia de cuadro respiratorio
	Malestar general
	Radiología discreta o nula
MODERADA	Serología positiva débil
	Cuadro respiratorio discreto
	Fiebre
GRAVE	Radiología marcada
	Serología positiva alta
	Cuadro respiratorio agudo con disnea
	Insuficiencia respiratoria
	Fiebre muy alta
	Radiología impresionante
	Serología positiva muy alta

**Tabla X. HISTOPLASMOSIS RESIDUAL  
DE LA FASE PRIMARIA Ref. 110**

---

**CARACTERÍSTICAS:**

---

Lesiones cavitarias o tumorales

encapsuladas

Sintomatología respiratoria mínima

Serología negativa o positiva débil

---

**Tabla XI. CLASIFICACIÓN CLÍNICA  
DE LA HISTOPLASMOSIS PROGRESIVA. Ref. 110**

FORMA CLÍNICA	CARACTERÍSTICAS
AGUDA	Cuadro respiratorio febril agudo Hepato y esplenomegalía, adenopatía y diarrea Serología positiva intensa, mortal a corto plazo
CRÓNICA	Cuadro respiratorio crónico que semeja tuberculosis Fiebre moderada Cuando disemina: adenopatía, hepato y esplenomegalia. lesiones en mucosas preferentemente faringea, laringea y oral

**Tabla XII. Clasificación propuesta en el presente trabajo para el estudio de la histoplasmosis.**

FASE	TIPO	FORMA CLÍNICA
PRIMARIA	PULMONAR	Asintomática o subclínica 60-95% de los casos
		Sintomática: Leve Moderada Grave
	MUCOCUTÁNEA	Excepcional (Sólo 5% de los casos) Asociada a inmunosupresión
RESIDUAL DE LA FASE PRIMARIA		Histoplasmosomas Fibrosis mediastínica Pericarditis De reinfección o reemergencia
	AGUDAS DISEMINADAS	Fulminante infantil Fulminante en inmunodeprimidos
SECUNDARIA O PROGRESIVA	CRÓNICAS	En inmunodeprimidos En adenopatías Cavitaria No acavitaria

## HISTOPLASMOSIS PRIMARIA:

La histoplasmosis primaria se parece a la coccidioomicosis y a la blastomicosis norteamericana primarias, todas estas infecciones pulmonares por inhalación, relativamente benignas

## INFECCIÓN PRIMARIA ASINTOMÁTICA

La infección usual por *H. capsulatum* en la población normal es esencialmente asintomática y es atendida sin consecuencias clínicas. En áreas de alta endemicidad, involucra a toda la población. Se asume que los mecanismos de inmunidad celular son competentes para erradicar las esporas inhaladas y el inóculo insuficiente para producir un estímulo con síntomas o daños al tejido. Del 60-95% de los casos de histoplasmosis sufren la infección de forma subclínica, por lo que se les incluye dentro del tipo asintomático.

## INFECCIÓN PRIMARIA SINTOMÁTICA:

La infección sintomática primaria es producida por la inhalación ordinaria de esporas, generalmente afecta a los niños y raramente a los adultos. Su identificación se hace por medio de radiografías donde se muestran adenopatías hiliares y mediastiales o infiltrados, además de fiebre. En la mayoría de los casos dura sólo algunos días, pero en los casos severos puede persistir hasta por 2 ó 3 semanas o más. En una pequeña parte de los casos, probablemente relacionados con deficiencias en el mecanismo inmune por la edad, el curso usual puede terminar en la enfermedad diseminada.

En todos los casos el principio de la enfermedad es repentino; los síntomas generales y el cuadro respiratorio, varían en intensidad de acuerdo con el grado de infección. Los casos leves solamente presentan sensación de malestar general con cefalea, dolores musculares y óseos, así como febrícula muy irregular que alcanza unos cuantos décimos y se acompaña de sudoración. No hay síntomas ni signos respiratorios, y en

algunos casos la imagen radiográfica muestra lesiones micronodulares muy pequeñas. Después de una o dos semanas estas molestias desaparecen y el enfermo se recupera.

En los casos moderados, la fiebre, que suele presentar remisiones, es mayor de 38°C, así como toda la sintomatología general. Los signos respiratorios son discretos, consistentes en tos seca, disnea leve, estertores húmedos y pequeñas áreas de submatidez, contrastando esta pobreza del cuadro respiratorio, con los acentuados nódulos pulmonares que se observan en la radiografía en los primeros días de la infección. El proceso termina tres o cuatro semanas, aunque el enfermo continúa con sensación de debilidad por un tiempo variable.

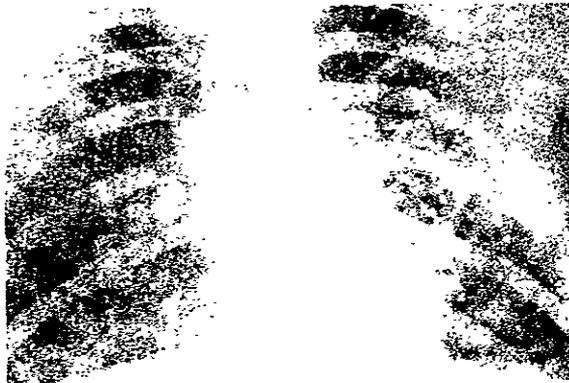


**Fot. 1** infección pulmonar primaria, forma clínica moderada. Ref. 110

En los casos graves la fiebre es alta (39 a 41°C), continua, con sólo leves remisiones, acompañada de escalofríos, sudoración profusa, cefalea y dolores musculares y óseos, así como profundo decaimiento y debilidad. Generalmente hay diarrea y los enfermos que mueren presentan hepato y esplenomegalia días antes del fallecimiento. Los síntomas y signos respiratorios dominan el cuadro, siendo lo más llamativo una disnea sumamente acentuada que ni el oxígeno puede aliviar, y que es empeorada por la tos y dificultad para expectorar, a pesar de la cantidad de secreciones broncopulmonares que

producen diversos tipos de estertores; a la percusión se advierten áreas alternantes de submatidez por todo el tórax; en casos fatales es impresionante la cianosis por la enorme cantidad de células obstruyendo los conductos alveolares, que mata a estos enfermos por asfixia entre 4 y 5 semanas.

La anomalía radiográfica consiste en multitud de nódulos diseminados por ambos campos pulmonares con cierta predominancia basal; las radiografías de diferentes enfermos muestran una similitud llamativa, y únicamente difieren en la cantidad y tamaño de los nódulos, siendo más abundantes y mayores en los enfermos que cursan sintomatología de mayor intensidad. La hepato y esplenomegalia constituyen signos de diseminación y, por consiguiente, indican mal pronóstico. La duración del proceso es de una semana a seis meses; la mejoría se manifiesta gradualmente pero, entre nosotros, los mexicanos, la tasa de letalidad es de cerca de 28% y la muerte se presenta de las 2 a las 8 semanas. La resolución de las lesiones pulmonares se observa hasta unos tres meses después de la desaparición de la fiebre y es necesario que transcurran más de seis meses, o en algunos casos hasta varios años, para que las lesiones desaparezcan por completo. Las calcificaciones resultantes de la resolución de los nódulos no se forman en la totalidad de los casos, sólo aproximadamente en la tercera parte; en la mayoría de los sujetos son tardías, de dos a cinco años, y son del tipo miliar múltiple.



Fot. 2 Numerosos nódulos en un caso grave de HPP. Ref. 110

En los que se recuperan, la sintomatología desaparece después de uno a dos meses, pero el alivio es seguido de una convalecencia prolongada.

Es raro encontrar enfermos con áreas extensas localizadas de infiltración pulmonar en los que no se observan síntomas ni signos físicos. Una minoría netamente definida de pacientes tienen tos, fiebre, pérdida de peso y fuerzas, y estertores pulmonares. En algunos casos se ha aislado *H. capsulatum* en el esputo o en líquido de lavado gástrico de casos asintomáticos.

La histoplasmosis pulmonar primaria en México<sup>154</sup>, debería ser considerada un problema de salud pública, no sólo por su magnitud sino por su trascendencia dada por la gravedad del cuadro clínico y por la elevada tasa de mortalidad debida a la aspiración de grandes cantidades del hongo en ambientes cerrados como cavernas, túneles, pozos. además de la virulencia de las cepas aisladas en nuestro país.

**Tabla XIII.** Cuadro clínico comúnmente observado en pacientes con HPP en México Ref. 154

1.	Malestar general
2.	Astenia
3.	Adinamia
4.	Cefalea intensa
5.	Dolor torácico
6.	Tos seca (tos productiva)
7.	Hemoptisis ocasional
8.	Diarrea frecuente
9.	Fatiga
10.	Fiebre variable, a veces muy elevada (hasta 42°C)
11.	Alucinaciones en caso de fiebre elevada
12.	Disnea de esfuerzos
13.	Cianosis
14.	Hepatoesplenomegalia
15.	Importante pérdida de peso

En México se desconoce el número de casos de histoplasmosis que ocurre al año, sin embargo, en el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE) en cuatro periodos diferentes(1953-1963, González Ochoa y Félix; 1964-1978, González Ochoa, Velasco, Shibayama y Anaya; 1979-1993 Shibayama, Contreras y Anaya;

1994-1997, Contreras, Shibayama y García) se han estudiado 102 focos epidémicos con 1,444 enfermos registrados, lo que pone de manifiesto la gran importancia de esta enfermedad. El problema de la histoplasmosis no sólo se restringe a las epidemias, las pruebas de reactividad cutánea han puesto en evidencia miles de personas infectadas en el país y los estados más afectados se encuentran en el centro, sur y sudeste de México<sup>155</sup>



**Fot. 3 Caso mortal de HPP Ref.110**

## MUCOCUTÁNEAS:

La histoplasmosis cutánea primaria es verdaderamente excepcional, aunque Hazen y cols<sup>156</sup> lograron reproducirla experimentalmente en conejos.

Ha sido descrita después de su inoculación en una autopsia en el laboratorio. Se presenta como una úlcera definida, involucra al nódulo linfático más cercano y cura espontáneamente durante un periodo de algunos meses.

La dermatosis secundaria es muy polimorfa, pero es relativamente más frecuente la observación de las ulceraciones y los granulomas de la oronasofaringe que al comienzo son placas induradas, con infección secundaria.

Generalmente las lesiones mucocutáneas son consecuencia del proceso crónico de la enfermedad, por ejemplo en personas seronegativas al VIH, y con cuadros de histoplasmosis diseminada crónica, la incidencia de lesiones de las mucosas fue del 21% (104) en 486 pacientes investigados, por otro lado, en 280 enfermos seropositivos al VIH hubo sólo 48(17%) con lesiones bucales<sup>157</sup>. Cohen analizó 12 casos bucales publicados hasta septiembre de 1994 en pacientes con SIDA, y la proporción de hombres contra mujeres fue de 9:1, el rango de edades fluctuó de 26 a 65 años con una media de 39. Las lesiones se localizaron principalmente en la lengua, piso de la boca, paladar duro y blando, y encías<sup>158</sup>. La biopsia permitió el diagnóstico en 8 (66%) casos y el cultivo en 4 (33.3%), pero en México y Argentina se ha demostrado la utilidad del examen citológico a partir de una muestra tomada del borde ulcerado, preparando un frotis teñido con el método Giemsa. La dermatosis petequial o de púrpura equimótica se localiza preferentemente sobre el tórax y abdomen, o en el paladar, señalándose como la manifestación cutánea más común de los niños afectados. Se han descrito también pápulas escamosas y pruriginosas asentadas sobre una base eritematosa y lesiones pustulosas, que más tarde se transformaron en úlceras con aspecto de sacabocados de forma redondeada u oval, recubiertas de costras melicéricas, con un fondo granuloso, y color grisáceo-rosado, las cuales suelen ser dolorosas acompañadas o no, de una linfagitis secundaria.

Más raras son las lesiones subcutáneas principalmente los nódulos o abscesos, y excepcionalmente se han reportado manchas hiperpigmentadas, o pápulas faciales

moluscoides y umbilicadas, o lesiones semejantes al sarcoma de Kaposi. También se han observado casos de pioderma o furúnculos.

En los enfermos sudamericanos y del Caribe, mal nutridos y con histoplasmosis diseminada aguda (HDA), se han descrito dermatosis micronodulares difusas muy extendidas que deben ser diferenciadas de la lepra lepromatosa, la leishmaniasis diseminada anérgica<sup>158</sup>, por lesiones ulceronecroticas de las extremidades inferiores y de la discromía cutánea.

**Tabla XIV. Lesiones dermatológicas en pacientes seropositivos al VIH, que padecían micosis sistémica asociada. Ref. 128**

Morfología	Histoplasmosis <i>H. capsulatum</i>	Coccidioidomycosis <i>C. immitis</i>	Criptococcosis <i>C. neoformans</i>	Esporotricosis <i>S. schenckii</i>	Blastomicosis <i>B. dermatitidis</i>	Paracoccidioidomycosis <i>P. brasiliensis</i>
Mácula	+					
Nódulo	+		+	+	+	
Absceso semejante a herpes	+	+	+		+	
Fístulas semejantes sarcoma Kaposi	+	+				
Molusco contagioso *			+			
Púrpura		+				
Pápula	+	+	+	+		+
Mácula	+	+				
Placa	+			+		
Pústula	+	+	+	+		+
Úlcera cutánea	+	+	+	+	+	+
Úlcera mucosa	+		+			

\*Pápulas umbilicadas moluscoides

En un estudio realizado por Orozco Topete y Reyes<sup>160</sup>, en el INNSZ, las lesiones más frecuentes fueron pápulas combinadas con nódulos y pústulas en 6/9 casos; placas y nódulos en 1/9. La dermatosis se localizó principalmente en cabeza y tronco, no se observaron síntomas relacionados a ésta, pero todos cursaron con fiebre. 7/9 con hepatomegalia y esplenomegalia, y 5/9 con pérdida de peso.

Por otro lado, el Síndrome de Histoplasmosis Ocular se ha descrito como una corioretinitis en el área macular, es considerada una lesión granulomatosa, se cuestiona la evidencia indirecta relacionada con cualquier infección de *H. capsulatum*, ya que el microorganismo nunca ha sido hayado en las lesiones. Sin embargo las evidencias lo relacionan por la alta incidencia de positividad a la intradermoreacción (IDR), comparada con otros tipos de retinitis.



Fot. 4 Múltiples calcificaciones miliares consecutivas a una histoplasmosis primaria pulmonar grave. Ref. 110

## IIISTOPLASMOSIS RESIDUAL DE LA FASE PRIMARIA

Tomando en consideración la frecuencia de la histoplasmosis primaria pulmonar en México, lógicamente las lesiones que se incluyen en esta fase son también frecuentes. Consisten en lesiones cavitarias o tumorales encapsuladas que tienen la peculiaridad de producir sintomatología respiratoria mínima y una respuesta serológica negativa o positiva débil

Las lesiones residuales a que nos referimos son hallazgos accidentales de estudios radiológicos pulmonares practicados por diversos motivos; éstas cursan con una histoplasmino-reacción positiva, lo cual es poco precisa como ayuda diagnóstica, dada la frecuencia de reactores cutáneos que existe en México por haber sufrido una infección primaria asintomática o sintomática. Al plantearse la hipótesis clínica de histoplasmosis residual en un sujeto con lesiones cavitarias o tumorales, se impone el estudio serológico; pero, en la mayoría de los casos, la fijación del complemento con antígenos tanto micelial como levaduriforme de *Histoplasma capsulatum* es, como ya se mencionó, negativa o positiva débil. Además, por tratarse de lesiones encapsuladas, no hay expectoración, lo cual limita el diagnóstico por la búsqueda del *Histoplasma capsulatum*, o su aislamiento por cultivo o por inoculación de las secreciones pulmonares. En consecuencia el diagnóstico depende del estudio histopatológico. Por lo anterior se infiere que el tratamiento es la extirpación quirúrgica de estas lesiones, protegiendo al enfermo con anfotericina B de una posible diseminación producida por el proceso quirúrgico.

**HISTOPLASMOMAS:**

El histoplasmoma, como el tuberculoma y el coccidioidoma, son masas fibrosas crecientes que se desarrollan alrededor de un foco curado de infección primaria pulmonar. Durante su fase activa, la lesión original tiene un tamaño de 2 a 4 mm; después se cura por encapsulación fibrosa y calcificación. La pared tiene alrededor de 1 mm de espesor en el histoplasmoma; sin embargo la fibrosis continúa y se añaden capas concéntricas de colágeno y calcificación.

Por lo regular el ritmo de crecimiento anual es de 1 a 2 mm, y llega a ser de 3 a 4 cm al cabo de 10 a 20 años. Por sí misma, la lesión no es de consecuencias, pero su crecimiento puede causar erosión de estructuras vitales. En periodos de actividad se puede observar a través del estudio radiológico reacción alrededor del nódulo. Histológicamente consiste en cúmulos de fibroblastos, linfocitos y células mononucleares. Es probable que la fibrosis continua sea una respuesta al material antigénico que proviene del centro de la lesión.



**Fot. 5 Sección pulmonar mostrando un histoplasmoma  
y una caverna histoplasmósica Ref.110**

Después de algunos años las capas concéntricas de colágeno se interrumen y aparecen las calcificaciones concéntricas. Esto da una imagen radiológica de calcificación central (lesión primaria), con anillos circundantes de depósitos de calcio. Este cuadro ayuda a distinguirlo de un neoplasma. Con frecuencia se observa el crecimiento rápido de los histoplasmosas en radiografías en serie, motivo de preocupación para el clínico. Estas lesiones se desarrollan en el parénquima periférico, sin causar daño considerable a estructuras anatómicas importantes. Algunas veces, se desarrollan muy cerca de sitios vitales y pueden originar complicaciones. Sin embargo, sus lesiones en contraparte en el mediastino, producen secuelas que ponen en peligro la vida.

Con el tiempo, la mayor parte de los histoplasmosas dejan de crecer y se calcifican por completo y el paciente queda con la apariencia de una "pelota de mármol" con numerosos anillos en el pulmón. Si no cesan de crecer, pueden necesitar intervención quirúrgica sobre todo si constituyen una amenaza para alguna estructura adyacente importante.

#### FIBROSIS MEDIASTÍNICA Y PERICARDITIS:

La formación de granuloma en el mediastino representa coalescencia y fibrosis excesiva, en la cual la lesión inicial se encuentra en uno o varios nódulos, éstos pueden entretejerse, agrietarse y encapsularse para formar una masa hasta de 10 cm de diámetro. Por lo regular, la pared tiene de 4 a 5 mm de espesor, pero puede continuar creciendo hasta llegar a 9 mm. estas lesiones se localizan más a menudo en las áreas peritraqueales derechas; la formación de masas grandes afectan estructuras vitales adyacentes, incluyendo vena cava superior, arteria pulmonar, venas pulmonares y bronquios. Esto origina complicaciones considerables como puede ser el síndrome de vena cava; si esto no sucediera, prácticamente la masa sería inofensiva. La mayoría de los pacientes son varones en edad madura. sin embargo en las áreas endémicas, los niños pueden presentar cualquiera de los signos o síntomas mencionados. Es raro que este crecimiento continuo y la necrosis

puedan llegar a causar fistulas; éstas pueden causar erosión dentro de los bronquios e incluso atraviesan la pared torácica y la piel.

La fibrosis mediastínica es la contraparte central de la formación de histoplasmodios periféricos. Los sitios primarios afectados son los ganglios linfáticos hiliares o mediastínicos. Cuando el paciente es hipersensible a los componentes antigénicos del hongo se presenta fibrosis o colagenosis exageradas. Con frecuencia, es necesaria la extirpación quirúrgica de esas masas, con el fin de aliviar la estenosis resultante y diferenciarlas de neoplasmas. La anfotericina B u otro antifúngico no produce ningún beneficio. Existen diversas entidades que incluyen respuesta tisular anormal a la presencia de *Histoplasma* o de otros hongos como la granulomatosis broncoconocéntrica, que produce estenosis bronquial y compresión mucoide.

#### HISTOPLASMOSIS SECUNDARIA O PROGRESIVA:

La forma clínica aguda es debida a la diseminación consecutiva a una infección primaria pulmonar grave, sin que haya reposo sintomático, en cualquier edad pero particularmente en niños menores de un año; o bien, como una reinfección endógena tardía en enfermos que sufren de algún trastorno linfomatoso, actuando *Histoplasma capsulatum* como un hongo oportunista. Esta forma aguda oportunista, es mortal a corto plazo con o sin tratamiento. Se caracteriza por un cuadro respiratorio febril agudo, acompañado de hepato esplenomegalia, adenopatía generalizada y diarrea, presentándose invasiones de *Histoplasma* en órganos que son comúnmente atacados en la histoplasmosis progresiva crónica, como son endocardio, meninges, huesos y peritoneo. Estos casos, en los que abunda el microorganismo en las lesiones y por consiguiente su aislamiento por cultivo es fácil, cursan con altos títulos de reagentes fijadoras del complemento y con anergia a la histoplasmino-reacción.

La forma clínica crónica es propia de adultos y se presenta como reinfección endógena años después de una reinfección primaria sintomática o asintomática, por lo que también actúa como hongo oportunista. Se manifiesta, en su forma pulmonar pura, como una enfermedad crónica febril indistinguible clínica y radiológicamente de cualquier

proceso pulmonar crónico, particularmente de la tuberculosis. Cuando se disemina a partir de pulmón aparece hepato esplenomegalia y lesiones ulcerosas en boca, faringe, laringe, estómago e intestinos y menos frecuente en la piel. En esta forma clínica *H. capsulatum* es muy abundante y es fácilmente observable en las lesiones, la fijación del complemento señala títulos altos y la histoplasmino-reacción es positiva; por consiguiente el diagnóstico es fácil de comprobar ante la hipótesis de histoplasmosis progresiva crónica (HPC).

#### HISTOPLASMOSIS FULMINANTE EN NIÑOS:

Esta fue la primera forma de histoplasmosis identificada premortem<sup>7</sup>. Presenta el desarrollo más rápido y es la más fatal de las formas diseminadas. Los macrófagos se presentan en mayor cantidad de la normal y llenos de levaduras, obstruyen los capilares acumulándose y provocando colapsos circulatorios.

El 80% de los pacientes son niños menores de un año. Cursan con fiebre, anorexia, pérdida de peso, marcada hepatoesplenomegalia (6 cm o más en el costado) neumonía intersticial, desórdenes hematológicos tales como anemia, leucopenia y trombocitopenia. El curso de la enfermedad transcurre de 2 a 10 semanas y resulta ser fatal si no se da tratamiento oportuno. La anfotericina B se usa con buenos resultados en algunos casos. Se sugiere que estos pacientes tienen un defecto a nivel reticuloendotelial, sin embargo aún no hay evidencia que lo pueda corroborar.

#### HISTOPLASMOSIS DISEMINADA FULMINANTE EN INMUNOSUPRIMIDOS

Esta es una forma de rápido desarrollo, por lo regular en pacientes con trastornos predisponentes como son los diversos estados malignos linfomatosos hematopoyéticos y tratamientos con fármacos que provocan inmunosupresión (en general esteroides), durante el curso de trasplantes de órganos y el tratamiento de hepatitis, sarcoides, lupus eritematoso, SIDA, artritis reumatoide, pancitopenia y muchos otros trastornos. No hay síntomas constitucionales que caractericen esta enfermedad, y los únicos hallazgos constantes son la fiebre y la presencia de levaduras en los exámenes de médula ósea y en

ocasiones, en los frotis de sangre periférica así como cultivos de sangre. Los macrófagos cargados con hongos son enormes, su aspecto es parecido a aquel que se observa en la enfermedad fulminante en la infancia.

En pacientes con SIDA la histoplasmosis diseminada debe sospecharse en aquellos que presenten fiebre, particularmente en presencia de trombocitopenia e infiltrados pulmonares difusos, la mayor parte de estos casos resultan mortales.

Gracias a las punciones esterales y cultivos de sangre al comienzo de la enfermedad se estableció el tratamiento con anfotericina B, el cual resultó curativo. En la era pre-SIDA la histoplasmosis se presentaba en 1 de cada mil personas infectadas, pero al propagarse esta epidemia, se observó que prácticamente el 100% de los enfermos infectados desarrollaban formas diseminadas subagudas o fulminantes, como un reflejo de la inmunodeficiencia celular progresiva. En un estudio de 48 pacientes con HDA el 92% tenía menos de  $20 \text{ mm}^3$  linfocitos  $\text{CD}^{4+}$  con un promedio de  $46 \text{ mm}^3$  y el 100% de estos enfermos tenían calcificaciones pulmonares, en comparación con un 50% del grupo testigo, lo cual sugiere fuertemente un proceso de reactivación endógena de la infección micótica latente<sup>161,161\*</sup>.

En el 90% de los pacientes se ha registrado fiebre y pérdida de peso, con duración mayor a un mes. Aproximadamente el 20% presentaron tos, diarrea, y la hepato esplenomegalia se observó en un tercio de los casos. El 50% de los pacientes pueden presentar lesiones de las glándulas suprarrenales y algunos de ellos, desarrollan síndrome de insuficiencia suprarrenal con enfermedad de Addison. Driks<sup>162-163</sup> registró un 11% de manifestaciones gastrointestinales con presencia de lesiones ulceradas y pseudotumorales, localizadas principalmente en el colon, aunque también se diagnosticaron adenopatías y alteraciones del yeyuno, del apéndice y del ciego. La meningitis, la encefalopatía y las lesiones neurológicas focalizadas se han observado en el 20% de los pacientes. Se han descrito también casos de uveítis, oftalmítis y cororretinitis<sup>164</sup>, úlceras bucales<sup>165</sup>, pericarditis<sup>166</sup> y dermatosis diversas<sup>167</sup>. Aproximadamente el 10% de los pacientes presentan formas fulminantes y mortíferas asociadas con hipotensión, insuficiencia

respiratoria renal, encefalopatía, coagulación intravascular y hemorragias gastrointestinales<sup>166</sup>

### HISTOPLASMOSIS CRÓNICA CAVITARIA:

La histoplasmosis cavitaria comprende los espacios ampollosos, lo que genera enfermedad progresiva crónica. Los microorganismos se encuentran en el recubrimiento necrótico, en número pequeño y presentan poca muestra de duplicación activa. En el huésped y sobre todo el hipersensible, la pared de la cavidad continúa con necrosis y el agrandamiento llega a obstruir o derramarse en cavidades adyacentes.

Los síntomas son similares a la HPC, donde puede presentarse fiebre intermitente ligera, tos, alta producción de esputo, malestar, fatiga, pérdida de peso. La tercera parte de los pacientes sufren de dolor torácico intenso y persistente. En una quinta parte de los pacientes no hay síntomas y se descubre la enfermedad al hacer revisión radiológica sistemática.

Existe tos con alta producción de esputo, puede ocurrir ataques de hemoptisis cuando las lesiones se erosionan dentro de los vasos. En estos casos la muerte sobreviene a causa de la insuficiencia pulmonar avanzada.

### HISTOPLASMOSIS CRÓNICA NO CAVITARIA

En este caso, es difícil determinar la contribución de alguna enfermedad pulmonar preexistente, de nuevo las lesiones son apicales y progresivamente destructivas, el curso varía en duración pero empeora de manera inexorable, a menos que proporcione tratamiento con anfotericina B, en ocasiones combinado con cirugía. Estos pacientes pueden tener un defecto celular y su enfermedad representa la manifestación pulmonar de histoplasmosis diseminada crónica del adulto.

## HISTOPLASMOSIS DE REINFECCIÓN O REEMERGENCIA

La forma de reinfección endógena se caracteriza por lesiones fibrocaseosas y crónicas, que comienzan de preferencia en uno o ambos lóbulos pulmonares superiores. Durante muchos años se creyó que las áreas calcificadas múltiples de los pulmones indicaban curación con inmunidad relativa, de modo que era imposible una reinfección exógena o endógena. Sin embargo, se ha observado reinfección exógena en algunos individuos con reacción positiva a la histoplasmina que fueron expuestos a un ambiente epidémico junto con sujetos con pruebas cutáneas negativas. Los individuos previamente sensibilizados escaparon a la infección o la padecieron temprana y leve desapareciendo con mayor rapidez. Minuciosas investigaciones se han hecho sobre reinfección endógena, Flurcolow y colaboradores<sup>168</sup> en 1960 concluyen que la histoplasmosis de reinfección endógena, no reconocida durante muchos años, es en realidad la manifestación clínica más frecuente de la histoplasmosis. En un número considerable de pacientes coexisten tuberculosis e histoplasmosis crónica. Los síntomas comienzan con tos, expectoración, malestar, fiebre ligera y pérdida de peso, lo que recuerda a la tuberculosis pulmonar crónica, excepto que los síntomas son más leves, y relativamente raros, el esputo sanguinolento o la hemoptisis franca. Las recaídas y exacerbaciones son más frecuentes y la muerte final, en casos no curados, sin embargo algunos sujetos pueden vivir hasta 20 años. En estos enfermos se observa a menudo cutirreacción positiva a histoplasmina y anticuerpos fijadores del complemento en su suero en presencia de antígenos procedentes de *H. capsulatum*. En ocasiones, puede identificarse el organismo en frotis teñidos de esputo, y a veces, aislarse en enfermos con serología positiva.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO:

El diagnóstico clínico de la histoplasmosis se inicia con la detección del hongo bajo el microscopio así como el aislamiento en cultivo, y la serología<sup>169</sup>.

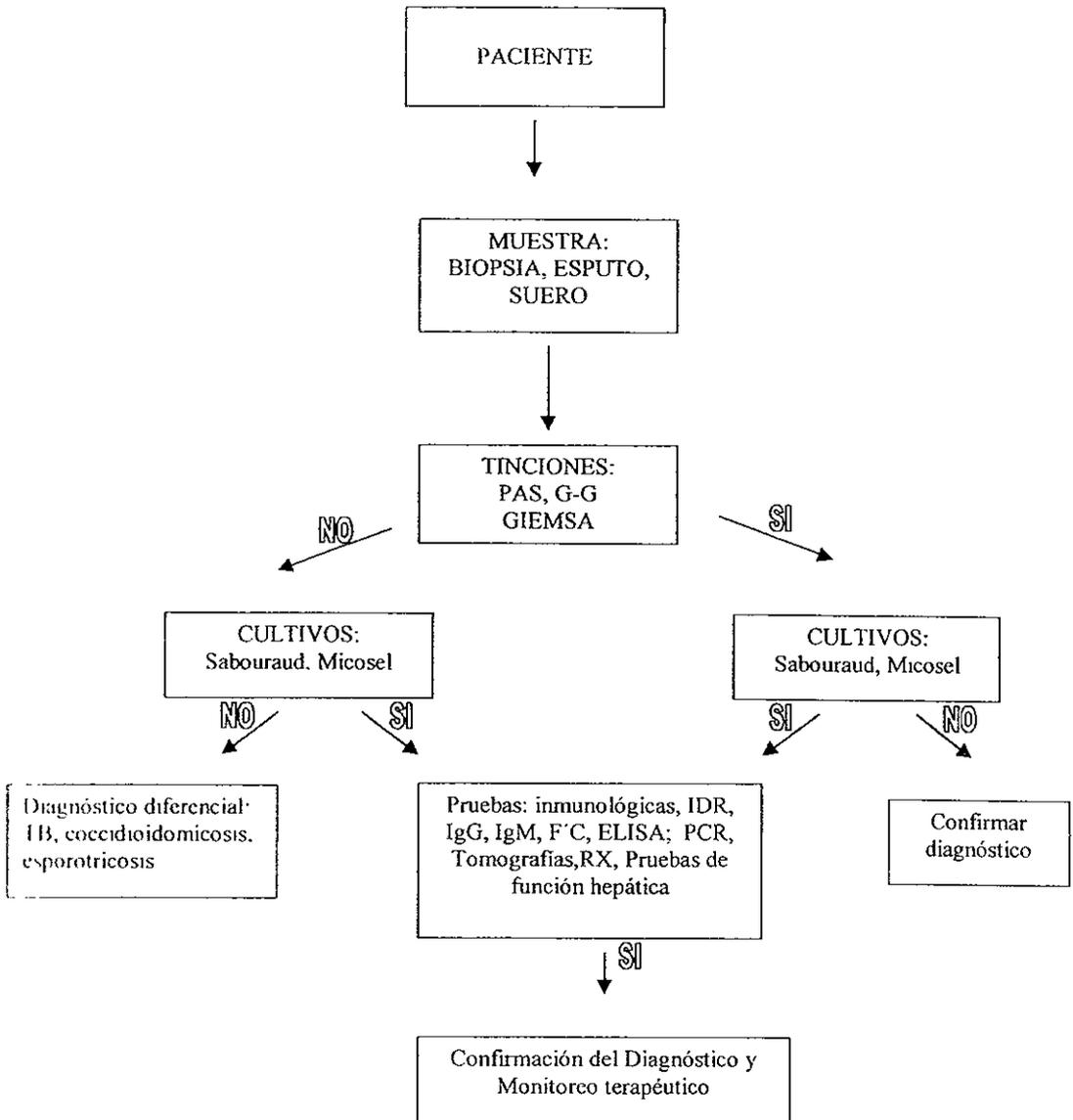
El diagrama de flujo muestra un proceso sencillo para realizar un diagnóstico correcto y diferencial.

Mientras que para pacientes inmunocomprometidos se sugiere la utilización de la siguiente tabla.

**Tabla XV. Métodos de laboratorio y de gabinete recomendados para la confirmación de la histoplasmosis diseminada. Ref. 128**

1. Biometría hemática: se ha encontrado pancitopenia en 55% y granulocitos inmaduros en 92% de los pacientes diagnosticados
2. Frotis de sangre teñido: *Histoplasma* se demuestra en el 46% de los pacientes diagnosticados.
3. Estudios de médula ósea: presencia de granulomas 15% y la observación microscópica del hongo en el 50% (tinción de Grocott-Gomori)
4. Pruebas de funcionamiento hepático: elevación sérica de los niveles de alanina-amino-transferasa al 84%, fosfatasa alcalina 60%, y deshidrogenasa láctica 100%
5. Cultivos diversos: hemocultivo con técnicas de centrifugación-lisis 91-100%, mielocultivo 70-91% se puede cultivar también el material de lavado bronquial, nodos linfáticos, biopsias de piel y mucosas usando medios selectivos.
6. Pruebas serológicas: titulación de los anticuerpos por medio de la técnica de fijación de complemento o inmunodifusión con una sensibilidad del 73% o la prueba del látex al 97%
7. Inmunodetección del polisacárido específico: en orina 95% y en suero 85%
8. Placa de tórax: anormal en 76% de los casos, con infiltrado micronodular bilateral 64%, derrame peural 10% y lesión cavitaria 5%.

### Diagrama de flujo para el Diagnóstico de Histoplasmosis



➤ EXAMEN DIRECTO.

La demostración de la presencia de la levadura de *H. capsulatum* en esputo, orina, LCR (líquido cefalorraquídeo) o sangre colocándolo en el portaobjetos con unas gotas de "potasa" (KOH), ó con tinción de calcofluor es muy difícil; las levaduras son muy pequeñas y pasan inadvertidas, ocasionalmente, se pueden observar en los sedimentos de centrifugados de esputo o broncoscopias de pacientes con la enfermedad pulmonar cavitaria. Sólo en los pacientes con SIDA el microorganismo se encuentra en abundancia en líquido de lavados cefalorraquídeos, aspirados de médula espinal y algunas veces es visible incluso en sangre periférica. El esputo viscoso puede ser digerido con tripsina antes de centrifugar. El espécimen debe ser extendido en una capa sobre el portaobjetos, fijado con metanol por 10 minutos y después teñido con la técnica de Giemsa o Wrigth<sup>68</sup>. (para mayor detalle consultar el apéndice A)

➤ TINCIONES:

Para resaltar las estructuras fúngicas se recomienda realizar tinciones de Giemsa, ácido peryódico de Schiff (PAS) y Gomori-Grocott (G-G), las cuales resultan ser más efectivas que el examen directo, éstas se pueden realizar de muestras clínicas como: esputo, secreciones o fragmentos de biopsia. Al microscopio se pueden observar levaduras, las cuales llegan a ser más conspicuas en preparados sobreteñidos, miden de 2 a 3X3 ó 4 µm. (y algunas veces más grandes), con una gran vacuola, presentan núcleo teñido de rojo a violeta, citoplasma en azul pálido y un halo refringente que simula una cápsula; usualmente se observan dentro de los monocitos o macrófagos, pero algunas células de *H capsulatum* son encontradas extracelularmente debido a la ruptura de los fagocitos.

En algunos casos, es difícil diferenciar en el tejido las células de *H. capsulatum* entre las de *Leshmania sp.*, *Penicillium marneffeï* y la forma pequeña de *Blastomyces dermatitidis* por lo que el cultivo es necesario para un diagnóstico definitivo.

En cortes histológicos algunos otros organismos también semejan superficialmente a *H. capsulatum*, como son los amastigotes de *Leishmania* spp. y las células de *Toxoplasma gondii* empacadas en los histiocitos con la tinción hematoxilina y eosina (H&E). sin embargo, ambos no se tiñen con las tinciones especiales para hongos. *Pneumocystis carinii* teñido con la técnica de G-G, puede simular a *Histoplasma*, sin embargo, se diferencia por no ser levaduriforme y ser un microorganismo extracelular<sup>68</sup>.

## ➤ CULTIVOS:

Los medios de cultivo más utilizado para el aislamiento y desarrollo de *H. capsulatum*, tanto para la fase micelial como la levaduriforme son: Sabouraud-glucosa, Micosel, agar extracto de levadura fosfatado, este último induce esporulación de la fase micelial; o el agar BHI (infusión cerebro corazón) ó BCG (glucosa-cisteína-sangre) que al agregarle extracto de levadura al 1% previene la deshidratación y eleva la conversión de la fase de micelio a levadura<sup>170</sup>.

Para realizar un cultivo de sangre, piel, médula ósea, lavados broncopulmonares, esputo; se concentra *H. capsulatum* por la técnica de lisis por centrifugación para después esparcir la muestra en la superficie del medio de cultivo seleccionado.

- Smith y Goodman<sup>170</sup> sugieren agar extracto de levadura adicionado con hidróxido de amonio, para evitar el crecimiento de otros contaminantes, como es el caso de *Candida albicans* presente en esputo y otras secreciones.
- También se encuentra el medio SABHI<sup>68</sup>, con antibióticos, recomendado para aislar *Histoplasma* de esputo, pus y orina
- Medios bifásicos, que al igual que los agares sin antibióticos son útiles para el cultivo de los aspirados medulares y sangre.

La temperatura de incubación de los cultivos es a 30°C por lo menos 2 a 3 semanas, sin embargo en primocultivos puede ser de 4 a 6 semanas<sup>68</sup> y llega a ser hasta de 12 semanas<sup>3</sup>.

Para prevenir la desecación de los agares, estos deben ser incubados en bolsas de plástico, por otro lado, las colonias de hifas deben ser subcultivadas, para evitar crecimiento de otros contaminantes.

- **BIOPSIAS:** La biopsia es crucial para apoyar el diagnóstico de la histoplasmosis.
  
- **AUTOPSIA:** La autopsia fue al inicio la única forma de diagnóstico de histoplasmosis, ahora, gracias a las manifestaciones clínicas, antecedentes epidemiológicos y técnicas de detección, ésta se puede diagnosticar tempranamente y ser combatida. Sin embargo la autopsia se utiliza como marcador epidemiológico en la población y en las manifestaciones clínicas.
  
- **RAYOS X:** El uso de radiografías pulmonares es de importancia para el apoyo de un diagnóstico diferencial, así como para la detección temprana de la histoplasmosis pulmonar primaria leve, casos agudos, lesiones crónicas y otras. Su utilización en el transcurso y evolución del padecimiento permite un control mayor de la infección.
  
- **TOMOGRAFÍAS:** Las tomografías al igual que las radiografías son de apoyo en el diagnóstico, transcurso y evolución del padecimiento, dan al médico la perspectiva de la invasión, del grosor, y densidad de las lesiones; son útiles en los casos meníngeos y óseos.

➤ **PRUEBAS INMUNOLÓGICAS:**

• **INTRADERMORREACCIÓN (IDR) CON HISTOPLASMINA:**

Durante la infección primaria, la piel del enfermo se hace sensible a la aplicación de histoplasmina y se producen anticuerpos fijadores del complemento y precipitinas.

Histoplasmina: es el filtrado estéril del cultivo de la fase micelial de *H. capsulatum* en un caldo de asparagina y glucosa, donde el hongo ha crecido por 2 ó 3 meses<sup>68</sup>. Las diluciones se hacen dependiendo de la potencia que se requiera.

Se aplica intraedérmicamente 0.1 ml de una dilución de antígeno.

La prueba es leída a partir de las 48 horas y hasta 96 horas, y se considera positiva cuando hay más de 5 mm de induración además de eritema. Tiene algunas limitaciones, ya que puede ser positiva de 4 a 8 semanas después de la infección, y ocasionalmente es negativa durante la enfermedad activa, además de cruzar con antígenos que causan otras micosis como la blastomicosis, la esporotricosis y la coccidioidomicosis.

En infecciones experimentales en animales de laboratorio, el cruce más importante ocurre con *C. immitis* y *P. brasiliensis*, y en menor grado con *B. dermatitidis*.<sup>171</sup> El problema principal de las reacciones cruzadas ocurre en zonas endémicas compartidas con otras micosis como: coccidioidomicosis, paracoccidioidomicosis y blastomicosis. En México, la blastomicosis es excepcional, la paracoccidioidomicosis exhibe baja frecuencia, y la coccidioidomicosis abarca un área extensa al noroeste del país, donde casualmente la histoplasmosis no es endémica.

Se ha observado en pacientes estudiados en el INDRE la coexistencia de intradermorreacciones positivas a *H. capsulatum*, *M. tuberculosis* y *P. brasiliensis*, en epidemias de HPP.

- PRUEBAS HUMORALES, PT, FC, AL, CIE, ELISA Y CITOMETRÍA DE FLUJO

Las reacciones serológicas de fijación de complemento y precipitación son de gran valor pronóstico y diagnóstico<sup>105</sup>. Los anticuerpos fijadores de complemento demostrados con antígenos de la fase micelial o de la fase levaduriforme se manifiestan a las cuatro semanas posteriores a la exposición y desaparecen cuando ha cursado ya la infección (de ocho a doce meses).

Las precipitinas aparecen tres semanas después de la exposición y persisten durante dos o tres meses. Los títulos de fijación de complemento y de precipitación de 1:8 son significativos; cuando los títulos se mantienen elevados o aumentan, indican diseminación; por el contrario, si descienden, indican pronto reestablecimiento<sup>173</sup>.

La precipitación en tubo (PT) y la fijación de complemento (FC) son procedimientos rutinarios en el INDRE<sup>156</sup>, estandarizados con cerca de 10,000 muestras, procedentes de epidemias y casos aislados, además de sueros normales y de pacientes con problemas de infecciones por otros hongos. Aunque la PT y la FC son las pruebas usuales, se practica también contra inmunoelectroforesis (CIE), la cual es considerada una prueba tamiz.

En CIE no se observa cruce con *Candida albicans*, *Sporothrix schenckii* ni *M. tuberculosis*. Sin embargo en algunos casos se han encontrado reacciones positivas con *C. immitis* y *A. fumigatus*.

En la FC existen reacciones cruzadas con antígenos de la pared celular de *M tuberculosis*, la frecuencia de reacciones tiende a ser alta, por lo que es necesario descartar probables reactivaciones de focos latentes de tuberculosis.

La sensibilidad de las pruebas serológicas es muy variable. La PT es positiva entre el 33 y 92% y los títulos más frecuentes se encuentran entre 1:8 y 1:64; cuando se presentan títulos de 1:128 y 1:256 se relacionan con infecciones graves. No obstante que no existen títulos pronósticos seguros, debe tenerse especial cuidado con estos pacientes porque pueden pasar a la forma diseminada aguda. La CIE tiene una sensibilidad del 54 al 70%, en los casos leves las reacciones positivas cambian a negativas alrededor de la cuarta semana, después de iniciado el cuadro clínico. Esta prueba tiene varias ventajas, como son incluir muchas muestras en una placa, la obtención de resultados en 48 h y la aparición de las dos bandas de precipitinas (H y M) más frecuentes y asociadas a la histoplasmosis.

La FC es positiva después de la tercera a cuarta semana de infección en el 75% de los casos, permaneciendo con títulos similares hasta los tres meses o hasta la curación de la infección. Después se inicia el descenso de los títulos de anticuerpos fijadores del complemento hasta alcanzar títulos negativos entre los 8 y 12 meses. En el INDRE se ha observado que el antígeno obtenido de la fase levaduriforme del hongo es más sensible en los cuadros agudos, mientras que el de la fase micelial lo es en las formas crónicas.

Otros procedimientos de laboratorio estudiados en el INDRE son el ensayo inmunoenzimático (ELISA) y la citometría de flujo. En 1993 en una epidemia ocurrida en el municipio del Oro, Estado de México, se empleó el método de ELISA, utilizando como antígeno histoplasmina obtenida de la fase micelial del hongo. La prueba fue positiva en 9 de 10 pacientes (90%), mientras que 17 sueros normales fueron negativos con dos desviaciones estándar del valor promedio de sus densidades ópticas. Sin embargo, 8 de 20 sueros de pacientes con tuberculosis, con serología positiva por ELISA, dieron reacción cruzada con el antígeno histoplasmina. En esta última epidemia se ensayó la citometría de flujo; se utilizó en este caso el antígeno obtenido de la fase levaduriforme del hongo. En esta prueba, las 10 muestras de los pacientes de la epidemia fueron positivas y 25 sueros de pacientes con tuberculosis no dieron reacciones cruzadas con el antígeno levaduriforme; con lo que se demuestra la alta especificidad que se tiene al utilizar la citometría de flujo; sin embargo hay que tomar en cuenta que el costo de la prueba es elevado<sup>156</sup>.

Se cuenta también con los estuches (kits) de aglutinación en látex; pero los altos índices de aglutinación inespecífica (falsos positivos<sup>173</sup>) han limitado su utilización, lo que ha provocado que la técnica sea sustituida; además los títulos de anticuerpos declinan rápidamente al 3° o 4° mes de infección.

- ANTIGENO POLISACÁRIDO DE HISTOPLASMOSIS

La frecuencia global de histoplasmosis ocurre en un 2 a 5% de pacientes con Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida (SIDA); en zonas endémicas de los Estados Unidos y Latinoamérica la frecuencia se eleva. Aunque el tratamiento antifúngico produce una remisión del padecimiento, las recaídas ocurren en ausencia de terapia. Hasta 1987 dichas recaídas eran difíciles de diagnosticar, los médicos consideraban las fiebres como síntoma, sin embargo estos eran inespecíficos.

Las recaídas de histoplasmosis, se diagnosticaban entonces por cultivo del hongo, éste tarda de 4 a 6 semanas, y cuando se tenía la certeza del microorganismo ya era demasiado tarde para iniciar la terapia; así también se diagnosticaba mediante muestras de tejido y tinciones especiales que resultaban ser caras.

En los 80's Wheat y colaboradores<sup>174</sup> inician el diagnóstico de histoplasmosis a partir de la cuantificación del Antígeno Polisacárido de Histoplasmosis (APH) por medio de radioinmunoensayos, en los que se hace una reacción "sandwich", donde se utilizan anticuerpos Anti IgG anti *Histoplasma* extraídos de conejo, así como anticuerpos marcados con I<sub>125</sub>, como revelador. La cuantificación del APH se puede realizar en suero y orina, sin embargo en aquellos pacientes con HPC o histoplasmosis limitada, que no desarrollan antigenuria, puede ser detectado y cuantificado de lavados bronquiales y tejido homogeneizado, así mismo, los pacientes que cursan con afección del Sistema Nervioso Central, el APH se detecta en fluido cerebroespinal en un 42% de los casos y sólo en 25-50% de pacientes con HP localizada<sup>175</sup>.

Una gran ventaja de detectar el APH en lavados bronquiales y tejidos específicos es que se puede cuantificar antes de que ocurra la antigenuria, e iniciar así un tratamiento temprano de la enfermedad.

La interpretación de las pruebas inmunológicas nos informan del avance del padecimiento, de manera que títulos altos de fijación de complemento ( $> 1:32$ ) e IDR negativa o débil indica mal pronóstico.

➤ DETECCIONES MOLECULARES:

En el mercado se encuentra disponible el “kit” comercial de hibridación de ácidos nucleicos para *H. capsulatum*, desarrollado por Genprobe (San Diego, CA) el cual proporciona una identificación definitiva y rápida, ésta puede ser usada incluso cuando la colonia es menor a un centímetro de diámetro. Tienen una sensibilidad y especificidad del 99.3% y 100% respectivamente<sup>176</sup>. Es útil para diferenciar la forma micelial de colonias de *Histoplasma capsulatum* de aquellas de *Blastomyces dermatitidis*, y miembros de *Chyso sporium*, *Sepedonium*, y *Renispora*, que producen macroconidias (pero no microconidias) muy parecidas a las de *H. capsulatum*.

La rapidez, la especificidad y la sensibilidad hacen de esta prueba una herramienta de gran ayuda para el diagnóstico.

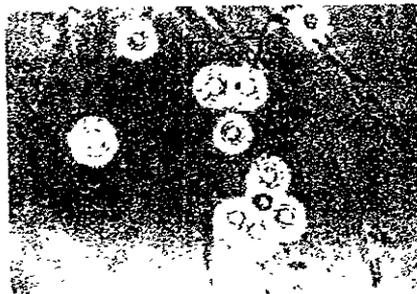


Fig. 10 *Renispora flavissima*, indistinguible de *H. capsulatum* Ref. 3

**DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL:**

En muchas ocasiones la histoplasmosis se ha diagnosticado incorrectamente, confundiéndose con tuberculosis.

La forma pulmonar de la histoplasmosis debe ser diferenciada de la influenza, neumonía por *Pneumocystis carinii* y tuberculosis: los cambios mucocutáneos, adenopatías y hepatoesplenomegalias son determinantes para un diagnóstico correcto.

Las lesiones en mucosas pueden ser mal interpretadas como una sífilis secundaria, leishmaniasis diseminada, y ciertos casos de carcinomas.

Las lesiones en piel pueden ser confundidas con otras micosis como son esporotricosis, coccidioidomicosis, balstomicosis norteamericana, cromomicosis; con tuberculosis pápulo-necrótica, o sífilis pápulo-ulcerativa.

La histoplasmosis en los nódulos linfáticos y glándulas adrenales debe ser distinguida de otros tipos de enfermedades que pueden afectar estos órganos<sup>177</sup>.

**Tabla XVI. Diagnóstico diferencial de la histoplasmosis**

<b>MANIFESTACIÓN CLÍNICA</b>	<b>DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL</b>
HP Grave	Tuberculosis hematógena; si presenta diarrea y alta temperatura se llega a confundir con fiebre tifoidea.
Histoplasmosis mucocutánea	Sífilis secundaria, leishmaniasis diseminada, y ciertos casos de carcinomas.
Histoplasmomas	Neoplasias, coccidioidomas, criptococomas, aspergilomas
HDC	Tuberculosis crónica
Histoplasmosis secundaria	En los niños las imágenes radiológica pueden simular tuberculosis miliar.

En un mismo enfermo pueden coexistir histoplasmosis, enfermedad de Hodgkin, tuberculosis y criptococosis<sup>172</sup>.

## TRATAMIENTO Y PROFILÁXIS.

El tratamiento se selecciona de acuerdo a las manifestaciones clínicas, así como el estado general del paciente. Existen 3 tipos de medicamentos: anfotericina B, azoles y sulfas. Ésta última utilizada por Negroni<sup>178</sup> y colaboradores, quienes comunican éxito terapéutico hasta del 70%, sin embargo, ha sido remplazado por la terapia azólica, debido a su alta efectividad.

Los azoles resultan ser la terapia de primera instancia en casos no graves y en pacientes no inmunocomprometidos con histoplasmosis, la administración de itraconazol (400 mg) diario es suficiente para erradicarla. Otro azol utilizado es el fluconazol<sup>179</sup>, aunque es una terapia moderadamente efectiva para histoplasmosis, es el fármaco de elección en pacientes no inmunocomprometidos, que no toleran el itraconazol o cuando éste interacciona con otros fármacos; dentro de las ventajas potenciales que el fluconazol ofrece destacan: absorción independiente del pH del tracto gastrointestinal, alcanza altos niveles de concentración en el tracto genitourinario y SNC, además de una menor interacción con otros fármacos.

El ketoconazol fue el primer azol utilizado para el tratamiento de la histoplasmosis en pacientes, sin embargo la utilización de altas dosis y su toxicidad (muchas veces comparada a la provocada por la anfotericina B), limita su uso.

En casos graves, se utiliza la anfotericina B por vía intravenosa, la dosis se selecciona dependiendo del paciente, pero generalmente se administran 0.1 a 0.5 mg/Kg/diarios o doble dosis cada tercer día, incluso se puede administrar 3 veces a la semana en dosis de 50 mg, durante 10 semanas. Es importante vigilar los efectos colaterales al momento de la aplicación y la aparición de nefrotoxicidad.

El esquema de aplicación de la anfotericina B utilizado en el Servicio de Dermatología y Micología Médica del Hospital General del Centro Médico Nacional desde la década de los 70's y hasta la fecha<sup>180</sup> es:

Dosis inicial: 0.1 mg/Kg/día aumentando diariamente 0.1 mg/kg hasta llegar a 1 mg/Kg/día sin pasar de 50 mg diarios por aplicación.

Es importante recordar que la droga posee acción tóxica, principalmente a nivel renal, que se manifiesta por elevaciones de las cifras de urea y creatinina en sangre. Algunos autores han reportado también disminución de las cifras de hemoglobina y aumento de la excreción renal de potasio, así como signos miocárdicos de hipokalemia. También son frecuentes los síntomas de intolerancia en el momento de la aplicación, fiebre, calosfríos, dolor abdominal, cefalea, náusea y vómito. La flebitis cuando aparece es debida a la irritación local producida por el medicamento sobre el endotelio vascular. Por lo anterior es importante tomar ciertas precauciones en la administración y se sugiere el siguiente esquema:

Solución glucosada al 5%	500 ml
Heparina	1000 U
Hidrocortisona	100 mg
Anfotericina B	Según dosis
Aplicar por vía intravenosa en 6 a 8 horas.	

Es recomendable cubrir el frasco con papel obscuro para proteger la solución de la luz y de esta forma conservar la actividad farmacológica de la droga.

Veinte minutos antes de la administración se aplica por vía intramuscular un antihistamínico del tipo de la alfa amino piridina. Es importante señalar que la

administración intravenosa de este antibiótico debe reservarse para uso hospitalario. De esta forma se reducen al mínimo las reacciones de intolerancia.

Por otro lado, en la histoplasmosis anérgica es posible que el suministro de factor de transferencia específico aunado a la anfotericina B pueda salvar la vida de los enfermos<sup>172</sup>.

En pacientes con SIDA los tratamientos utilizados para controlar la infección deben inducir una remisión de la enfermedad, así como evitar recaídas.

La cuantificación periódica de los niveles de APH ha sido un método para monitorear la respuesta a la terapia y comparar nuevos tratamientos para histoplasmosis<sup>181</sup>. La anfotericina B resulta ser una opción en el tratamiento inicial y de sostén en pacientes con SIDA y con manifestaciones de histoplasmosis moderada a severa; provoca una baja de APH en orina y sangre, y las recaídas ocurren hasta en un 80% de los casos entre los 6 y 18 meses después de discontinuar el tratamiento. Su administración 1 o 2 veces por semana ha sido un régimen terapéutico de mantenimiento y las recaídas ocurren en un 7 a 19% de los pacientes. La dosis individual diaria, la frecuencia de administración, así como la duración del tratamiento de inducción depende de cada paciente.<sup>181</sup>

Aunque la anfotericina B tiene alta eficiencia en la terapia de mantenimiento, la inconveniencia en la administración y su toxicidad pueden limitar su empleo. La bacteremia, infecciones por catéter, y tromboflebitis ocurre en cerca de 2/3 partes de pacientes que reciben dicha terapia<sup>182</sup>. La variabilidad de absorción resulta una limitante en el tratamiento de infecciones serias por lo que la anfotericina B liposomal resulta ser una mejor opción, al ser mejor absorbida y disminuir los efectos colaterales.

Por otro lado el itraconazol es mejor tolerado que la anfotericina B, cuando se emplea para prevenir las recaídas de histoplasmosis en pacientes con SIDA, la respuesta favorable depende de la temprana detección de la micosis, el uso conveniente y la tolerancia del medicamento, así como la efectividad del tratamiento de soporte. Su uso resulta ser más efectivo que el ketoconazol, ya que se ha observado que se puede desarrollar histoplasmosis durante el tratamiento con este último.

La eficacia del itraconazol en pacientes con padecimientos en el SNC no es conocida, pero se sabe que escasamente atraviesa la barrera hemato-encefálica, estudios de pacientes con meningitis criptococal sugiere que puede prevenir también la recurrencia de histoplasmosis en meninges.<sup>183,184</sup>

**Tabla XVII. TRATAMIENTO DE LA HISTOPLASMOSIS. Ref. 181**

Manifestación clínica	Anfotericina B	Azoles	Otros
Histoplasmosis Pulmonar Primaria Aguda		Itraconazol ó Fluconazol 400 mg Ketoconazol 400 hasta 800 mg diarios.	Para el tratamiento de la Histoplasmosis leve y moderada son suficientes el reposo y la alimentación adecuada
Histoplasmosis Aguda Diseminada	En casos graves usar Anfotericina B 0.5-0.7mg/kg/día por 2 ó 3 semanas	Si no hay inmunosupresión: Ketoconazol, itraconazol, o fluconazol 400 mg/día por 6-12 meses	Sulfametoxipiridazina y sulfametoxidiazina, a dosis de 20 mg/Kg/día, ó de sulfametoxasol-trimetoprim a dosis de 400/80 mg.
Histoplasmosis Crónica	Terapia inicial: Anfotericina B 0.7mg/kg/día	0.5-	
Histoplasmosis Cavitaria	Intervención quirúrgica, y terapia postoperatoria para prevenir recurrencia: 1 mg/Kg/ 1 vez a la semana	Itraconazol, fluconazol 200mg diarios	
Histoplasmosis y SIDA	Terapia inicial: Anfotericina B 0.7mg/Kg/día. Terapia de mantenimiento: 1 mg/Kg/ 1 vez a la semana.	0.5- Terapia de mantenimiento (SIDA): Itraconazol, fluconazol 200mg diarios	

Por otro lado la terapia con itraconazol resulta ser menos costosa que la de anfotericina B; ya que en EUA un curso de 3 meses de tratamiento con itraconazol 400 mg/día cuesta aproximadamente \$2,100 dls, mientras que 5 días de hospitalización y supervisión con anfotericina B cuesta cerca de \$20,000 dls. (Wheat <sup>183</sup>) además de que la interacción con otros fármacos debe ser considerada.

El fluconazol no suele ser una terapia de prevención tan efectiva como el itraconazol, sin embargo se recomienda cuando éste tiene una pobre absorción o por sus interacciones con otros fármacos, o bien en casos de histoplasmosis meníngea. Las recaídas con fluconazol van del 12 al 18%, con respecto a un 5% con itraconazol y un 3 a 19% con anfotericina B<sup>185</sup>. La dosis administrada diaria de fluconazol es de 200 mg, un tratamiento largo puede provocar alopecia reversible.

Los efectos colaterales de los fármacos antes citados se pueden consultar en el apéndice C

## PROFILAXIS

Como medida de prevención de la histoplasmosis se recomienda no exponerse a ambientes contaminados si la IDR a la histoplasmina es negativa. El uso de máscarillas no protege. Si se localiza la fuente de infección y es un foco abierto deberá tratarse con formalina al 3%<sup>186</sup>

## CONCLUSIONES:

El estudio de la histoplasmosis en nuestro país es importante, debido a que en los últimos años se ha registrado mayor frecuencia de brotes epidémicos localizados; además la enfermedad ha sido referida en todos los estados de la República, y se ha determinado un aumento en los casos asociados con SIDA, hechos que convierten a esta micosis en un problema de salud pública.

Los síntomas y signos clínicos dependen del inóculo y de la respuesta inmune del huésped; el 95% de los casos de pacientes infectados cursa asintomático y cura con reposo y alimentación adecuada. No obstante en las formas epidémicas el índice de morbilidad y mortandad es muy elevado.

Es muy importante realizar un diagnóstico rápido y diferencial, ya que muchos casos son confundidos principalmente con padecimientos producidos por *Mycobacterium tuberculosis*.

La terapia ha cambiado mucho, se ha descontinuado el uso de sulfas, debido al surgimiento de los triazoles como el itraconazol o fluconazol, los cuales tienen éxito en el control de la enfermedad; el ketoconazol utilizado anteriormente se ha suspendido debido a efectos colaterales adversos; por otro lado la anfotericina B se utiliza en casos graves, y en pacientes inmunodeprimidos, generalmente con SIDA. Actualmente la anfotericina B ha sido encapsulada en liposomas, lo que disminuye los efectos tóxicos. además de un aumento en la absorción.

Como medida de prevención se recomienda no exponerse a sitios donde habita *H. capsulatum* como cavernas y minas si la IDR es negativa. El uso de mascarillas no protege, y las fuentes de infección deberán tratarse con formalina al 3%.

## APENDICE A

### TECNICAS DE TINCIÓN:

#### ❖ SOLUCIÓN DE HIDRÓXIDO DE POTASIO AL 15%

Hidróxido de potasio	15g
Agua destilada	100ml

El porcentaje de esta solución puede variar dependiendo de las necesidades del personal.

#### ❖ EXAMEN DIRECTO DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS CON LUGOL:

Usar una gota de lugol con la muestra biológica para resaltar las estructuras parasitarias.

#### ❖ TINCIÓN DE ÁCIDO PERYÓDICO – SCHIFF (PAS):

Reactivos:

##### 1. Etanol - Formol

Formaldehído al 40%	10 ml
Etanol absoluto	90 ml

##### 2. Ácido peryódico al 1%

Ácido peryódico	1 g
Agua destilada	100ml .

##### 3. Reactivo de Schiff

Agua destilada	200 ml
Fucsina básica	1 g
HCl 1N (83ml de HCl concentrado en 1000 ml de agua destilada)	
Bisulfito de sodio	1 g
Carbón activado	0.5 g

- ❖ Hervir el agua destilada y agregar la fucsina agitando, enfriar hasta 50°C y filtrar
- ❖ Agregar el ácido clorhídrico y dejar enfriar hasta 25°C
- ❖ Agregar el bisulfito de sodio y verterlo en un frasco ámbar de tapón de rosca que no deje espacio para aire
- ❖ Agitar periódicamente por dos horas y dejar reposar toda la noche en oscuridad.
- ❖ Agregar 0.5 g de carbón activado y agitar intermitentemente por una hora
- ❖ Filtrar hasta que la solución quede blanca
- ❖ Guardar en refrigeración en un frasco ámbar hermético

4. Verde brillante

Se prepara en dos partes:

- |    |                       |        |
|----|-----------------------|--------|
| a) | Verde brillante SF    | 0.2 g  |
|    | Agua destilada        | 100 ml |
|    | Ácido acético glacial | 0.2 ml |
| b) | Agua destilada        | 50 ml  |

Tomar 10 ml de a y aregarlos en b

5. Etanol al 70%
6. Etanol al 95%
7. Etanol absoluto
8. Xilol
9. Resina o bálsamo de Canadá
10. Agua corriente

Procedimiento para la tinción:

- ❖ preparar el corte o el frotis
- ❖ Fijar con la mezcla de formol-etanol 10 minutos
- ❖ Escurrir y cubrir con agua corriente de 5 a 10 minutos
- ❖ Escurrir y cubrir con ácido peryódico 20 minutos
- ❖ Escurrir y cubrir con agua corriente de 10 a 15 minutos
- ❖ Escurrir y cubrir con reactivo de Schiff 20 minutos
- ❖ Escurrir y cubrir con agua corriente de 10 a 15 minutos
- ❖ Escurrir y cubrir con verde brillante 12 minutos
- ❖ Escurrir y cubrir con etanol al 70% e inmediatamente escurrir y cubrir con etanol al 95% y después con etanol absoluto
- ❖ Repetir el lavado anterior, sin permitir que se seque la preparación
- ❖ Inmediatamente cubrir con xilol

Si al contacto con el xilol la preparación se torna blanca, se debe repetir los lavados con etanol en el siguiente orden: etanol absoluto, etanol al 95% y etanol al 70%, e inmediatamente en el orden 70%, 95%, y absoluto. Escurrirla y nuevamente cubrirla con xilol; mientras se prepara el medio de montaje. Colocar una gota de resina en un cubreobjetos y colocarlo suavemente sobre la preparación.

Los filamentos fúngicos, conidios y esporas aparecen rojos o rosa intenso y los núcleos celulares verdes.

❖ TINCIÓN CON METAMINA Y NITRATO DE PLATA (GOMORI-GROCOTT)

Reactivos:

1. Ácido crómico al 10% (trióxido crómico)
 

Ácido crómico	10g
Agua destilada	100 ml
2. Bisulfito de sodio al 1%
 

Bisulfito de sodio	1g
Agua destilada	100 ml
3. Nitrato de plata al 5%
 

Nitrato de plata	5 g
Agua destilada	100 ml

Conservar en frasco ambar a 4°C

4. Metamina (Hexametenetetramina) en solución acuosa al 3%
 

Metamina	3 g
Agua destilada	100 ml
5. Borax en solución acuosa al 5%
 

Borax (borato de sodio)	5 g
Agua destilada	100 ml
6. Cloruro de oro en solución acuosa al 1%
 

Cloruro de oro	1 g
Agua destilada	100 ml
7. Solución de tiosulfato de sodio al 5%
 

Tiosulfato de sodio	5 g
Agua destilada	100 ml
8. Solución de verde brillante
  - a) Verde brillante SF
 

Verde brillante SF	0.2 g
Agua destilada	100 ml
  - b) Agua destilada
 

Ácido acético glacial	0.2 ml
Agua destilada	50 ml

Tomar 10 ml de a y agregarlos a b

9. Etanol al 70%
10. Etanol al 90%
11. Etanol absoluto

12. Xilol

13. Resina sintética o bálsamo de Canadá

➤ El día en que se va a realizar la tinción preparar:

Solución de metamina-nitrato de plata:

Metamina en solución acuosa al 3%	40 ml
Nitrato de plata al 5%	2 ml
Borax en solución acuosa al 5%	3 ml
Agua destilada	35 ml

Se prepara en 3 partes:

- A la solución de metamina agregar la de nitrato; si se forma un precipitado blanco, agitar suavemente
- Agregar la solución de borax al agua destilada
- Verter lentamente la solución b en a. Esta mezcla debe de estar en un vaso de Coplin con tapa (vidrio de reloj) y mantenerse en estufa a 60°C hasta terminar la tinción.

➤ Las siguientes soluciones deben estar en vasos de Coplin:

- ❖ Ácido crómico al 10% (trioxido crómico)
- ❖ Bisulfito de sodio al 1%
- ❖ Cloruro de oro en solución al 1%
- ❖ Solución de tiosulfato de sodio al 5%
- ❖ Solución de Verde brillante
- ❖ Agua destilada

#### Procedimiento:

- ❖ Fijar la preparación por calentamiento o con metanol
- ❖ Humedecer con agua destilada
- ❖ Con las pinzas manipular la preparación en la siguiente frecuencia:
  - Colocarla en el ácido crómico 10 minutos
  - Cubrir con agua corriente 5 segundos
  - Agregar bisulfito de sodio 1 minuto
  - Colocarla en agua destilada un minuto
- ❖ Pasarla a la mezcla de metamina-nitrato de plata durante 5-10 minutos hasta tener una tonalidad marrón claro
- ❖ Humedecer la preparación con agua destilada y observarla en el microscopio; cuando existen elementos fúngicos estos se resaltan. Si las estructuras fúngicas no son evidentes, colocar nuevamente la preparación en la solución de metamina-nitrato de plata durante 30 a 60 minutos.
- ❖ Lavar con agua caliente, posteriormente con agua tibia y finalmente con agua fría
- ❖ Lavar con agua destilada

- ❖ Colocarla en el cloruro de oro por 10 segundos
- ❖ Lavar con agua destilada
- ❖ Pasarla al tiosulfato de sodio por tres minutos
- ❖ Cubrir con agua corriente por 30 segundos
- ❖ Cubrir con verde brillante por 30 segundos
- ❖ Lavar dos veces con etanol en el orden 70%, 95% y absoluto
- ❖ Lavar dos veces con xilol
- ❖ Montar con resina o bálsamo.

#### ❖ TINCIÓN DE GIEMSA:

Reactivos:

- |                           |       |
|---------------------------|-------|
| ❖ Giemsa (solución madre) | 1 g   |
| ❖ Alcohol metílico        | 66 ml |
| ❖ Glicerina               | 66 ml |

Preparación de la solución de Giemsa:

- ❖ Calentar la glicerina a 50°C, en un frasco ámbar
- ❖ Agregar el colorante hasta disolverlo completamente
- ❖ Dejar enfriar a temperatura ambiente
- ❖ Agregar gradualmente el alcohol
- ❖ Dejar reposar la solución en la obscuridad durante una semana

\*\* De la solución anterior hacer una dilución 1:10 (1 ml de colorante y 9 ml de agua destilada).

\*\* Filtrar esta dilución y colocarla en un frasco ámbar.

Procedimiento:

- ❖ Hacer un frotis
- ❖ Cubrir con etanol al 100%
- ❖ Dejar secar al aire
- ❖ Cubrir con colorante de Giemsa 5 minutos
- ❖ Lavar con agua corriente
- ❖ Dejar secar

Interpretación de resultados:

En el caso de histoplasmosis, las levaduras se observan de color rosa o rojo, rodeadas de una zona sin teñir en el interior de las células fagocitadas; se observa un fondo azul.

❖ TINCIÓN DE ÁCIDO PERYÓDICO – SCHIFF:  
(Hotchkiss-Mac Manus modificado)

Es útil para hacer el estudio de especímenes, sobre todo en aquellos casos en donde el examen con KOH ha resultado negativo.

Técnica:

- ❖ Desparafinar los cortes en xileno y alcohol al 95%. Si se trata de escamas, hay que amontonarlas en albúmina de Meyer.
- ❖ Oxidar en la solución de ácido peryódico durante 5 minutos a 37°C
- ❖ Lavar con agua corriente por 15 minutos
- ❖ Sumergir las preparaciones en reactivo de Schiff durante 30 minutos
- ❖ Lavar con agua corriente de 4 a 10 minutos
- ❖ Cubrir con verde brillante por 1 ó 2 minutos
- ❖ Lavar con agua durante 10 minutos
- ❖ Decolorar y deshidratar en baños de alcohol al 70, 80, y 95% (dos minutos por baño)
- ❖ Pasar por dos baños de xileno (2 minutos por baño)
- ❖ Montar en resina sintética

Preparación de reactivos:

Albúmina de Meyer:

- ❖ Batir una clara de huevo a punto de turrón
- ❖ Agregar un volumen de glicerina igual a la clara prebatida
- ❖ Mezclar lentamente hasta homogeneizar
- ❖ Agregar un cristal de timol como conservador y filtrar
- ❖ Mantener en reposo a 4°C durante 24 horas

Agua sulfurosa :

- |                          |         |
|--------------------------|---------|
| ❖ HCl                    | 10 ml   |
| ❖ Metabisulfito de sodio | 4 g     |
| ❖ Agua destilada         | 1000 ml |

Ácido peryódico:

- ❖ Solución al 1% en agua destilada

Reactivo de Schiff:

- ❖ Disolver 2 g de fucsina básica en 400 ml de agua destilada en ebullición
- ❖ Enfriar el colorante a 30°C en un matraz balón
- ❖ Agregar 10 ml de HCl 2N

- ❖ Agregar 4 g de metabisulfito de sodio
- ❖ Mezclar bien y dejar reposar en la oscuridad por 24 h
- ❖ Agregar 2 g de carbón animal en polvo, mezclar y filtrar rápidamente
- ❖ Agregar de 8 a 10 ml de HCl en pequeñas dosis hasta que el líquido se seque rápidamente sin que adquiera un tinte rosado.
- ❖ Guardar a 4°C en la oscuridad

**Interpretación de resultados:**

Los filamentos fúngicos, conidios y esporas aparecen rojos o rosa intenso y los núcleos celulares verdes.

## APENDICE B

### MEDIOS DE CULTIVO

#### AGAR INFUSIÓN DE CEREBRO CORAZÓN

Infusión de cerebro de ternero	200 g
Infusión de corazón de res	250 g
Peptona	10 g
Dextrosa	2 g
Cloruro de sodio	5 g
Fosfato de disódio	2.5 g
Agar bacteriológico	20 g
Agua	1000 ml

pH: 7.4

Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

#### AGAR HARINA DE MAÍZ (CORN MEAL AGAR)

Harina de maíz	40 g
Agar bacteriológico	20 g
Agua destilada	1000 ml

Esterilizar en autoclave a 121°C durante 10 a 15 minutos.

#### AGAR EXTRACTO DE LEVADURA:

Extracto de levadura	1 g
Agar bacteriológico	20 g
Agua destilada	1000 ml

pH: 6

Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

### AGAR SABOURAUD DEXTROSA

Dextrosa	20 g
Peptona	10 g
Agar bacteriológico	20 g
Agua destilada	1000 ml
pH: 6.5	

Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

### AGAR AGAR SABOURAUD DEXTROSA+ ANTIBIÓTICOS (MICOSEL O MICOBIOTIC)

Medio Sabouraud	1 000 ml
Actidione (ciclohexamida)	400 mg
Cloramfenicol	500mg
pH: 6.5	

#### Preparación:

Los antibióticos se adicionan de la siguiente manera: el actidione en 1 ml de acetona y el cloramfenicol en 1 ml de alcohol etílico; ambos se agregan cuando el medio ya ha sido esterilizado en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

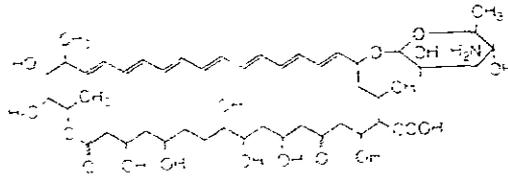
**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA  
BIBLIOTECA**

## APENDICE C

Los Fármacos usados en el tratamiento de las infecciones micóticas sistémicas.

Polienos<sup>187-188</sup>:

Los polienos son metabolitos secundarios producidos por varias especies de *Streptomyces*. Son lactonas macrólidas cíclicas que contienen un número variable de hidróxilos y entre 2 y 7 enlaces dobles conjugados. Se clasifican de acuerdo al grado de insaturación del anillo como dienos, trienos etc. Su mecanismo de acción es complejo, pero se basa en la capacidad para unirse a los esteroides presentes en las membranas citosólicas de las células susceptibles. Puesto que las membranas de los hongos tienen ergosterol, la de los mamíferos colesterol, la de los vegetales sitosterol, y ciertos protozoos ergosterol, todas ellas son susceptibles a la acción de los polienos. Lo cual explica la toxicidad de tales fármacos en el tratamiento de micosis sistémicas.



Amphotericin B

Ref. 189

La anfotericina B, es un macrólido heptaeno sintetizado por *Streptomyces nodosus*, (actinomiceto del suelo), no es soluble en agua (pH 6-7.5), por lo que se emplea en clínica como una mezcla de anfotericina B, desoxicolato y tampón fosfato<sup>187</sup>. En soluciones acuosas la anfotericina B se separa del desoxicolato y dependiendo de su concentración forma especies autoasociadas o monoméricas. Cuando se inyecta por vía intravenosa la anfotericina B interactúa con las proteínas plasmáticas y se une al colesterol de las lipoproteínas con lo que alcanza principalmente los tejidos del hígado, el bazo el pulmón y los riñones.

La anfotericina B es el único polieno con utilidad clínica ya que posee mayor efecto nocivo para las células micóticas que para las de mamífero, la razón de la selectividad radica en la mayor afinidad por las membranas que contienen ergosterol. Aunque no están claros los aspectos estructurales de la unión polieno-esterol, datos experimentales indican que la molécula de anfotericina B se inserta en la membrana citoplasmática de las células susceptibles. Varias moléculas del fármaco se orientan paralelas a las cadenas laterales acil de los fosfolípidos de la membrana, para formar un canal cilíndrico. Los poros originados por la anfotericina B aumentan la permeabilidad de las membranas en forma dependiente de la dosis, y conducen a fuga de iones esenciales desde el citosol si las concentraciones son bajas, y la destrucción de la célula con dosis altas.

La anfotericina B se degrada lentamente en el cuerpo, y sólo pequeñas cantidades aparecen en orina o bilis. Tiene un tiempo de vida media de eliminación plasmática de 24 horas y completamente de 15 días.

Dentro de los efectos adversos de la anfotericina B se encuentra principalmente la nefrotoxicidad, seguido de elevación de creatinina sérica (2-3 mg/dL), azotemia, oliguria

### **ANFOTERICINA B LIPOSOMAL:**

La toxicidad de la anfotericina B limita la administración de una dosis efectiva máxima. La encapsulación de la anfotericina B en liposomas con diferentes ácidos grasos incrementa el índice terapéutico, además de tener alta afinidad por las células reticuloendoteliales (hígado, bazo, pulmón, riñón, médula espinal). La combinación de una baja toxicidad y una alta especificidad, permite la administración de dosis altas sin fuertes efectos colaterales. Sin embargo son necesarios más estudios para determinar dosis óptimas, así como comprobar la eficacia y la seguridad.<sup>181</sup>

**Tabla XVIII. Efectos adversos de la Anfotericina B. Ref. 181**

Efectos adversos	Comentarios
<b>Reacciones de idiosincrasia:</b>	Raramente fatal
Shock anafiláctico, falla renal aguda, trombocitopenia, vértigo, dolor generalizado, fibrilación ventricular, infarto de miocardio, prurito, pérdida de audición.	
<b>Reacciones agudas dependientes de la dosis:</b>	A partir de 30-90 minutos después de la administración, y durante 4 horas, la tolerancia se desarrolla con la terapia continua.
Fiebre, escalofríos, náusea, vómito, diarrea, cefalea, diaforesis, malestar general.	
Hipotensión	
Tromboflebitis	Administrar 1000 U de heparina, administrar en venas largas y alternando los lugares
<b>Reacciones Crónicas:</b>	
Anemia normocítica normocrómica	Reversible cuando se discontinúa el tratamiento, las transfusiones son raras.
Nefrotoxicidad	Monitorear la creatinina, evitar otros nefrotóxicos.
Hipocalcemia e hipomagnesemia.	Monitorear y reemplazar el $K^+$ y $Mg^{++}$

## DERIVADOS AZÓLICOS

Los derivados azólicos constituyen el mayor grupo de antimicóticos comerciales disponibles contra los hongos y hasta cierto tipo de bacterias gram positivas. Son fungistáticos y actúan mediante inhibición de la 14  $\alpha$ -desmetilación del 24 metilenedihidrolanosterol, un precursor del ergosterol. La  $\alpha$ -desmetilación durante la biosíntesis del ergosterol es un proceso dependiente del citocromo P 450. Los azoles son altamente selectivos y actúan mediante la unión a la mitad del heme del citocromo P 450, lo que conduce a interferencia con ciertas reacciones de oxidasas mixtas. En consecuencia se bloquea la síntesis de ergosterol y se acumulan 14  $\alpha$ -metilesteroles.

Estos fármacos se dividen en dos grupos principales, caracterizados ambos por anillos azol de cinco componentes, con unión de un grupo N-metil derivado de la adición de diversos fenilos halogenados, u otros grupos químicos. Los imidazoles como clotrimazol, miconazol, econazol y ketoconazol, tienen dos nitrógenos en el anillo, y los triazoles como fluconazol, itraconazol y terconazol, poseen tres nitrógenos en el anillo<sup>188</sup>.

**Tabla XIX. Efectos adversos del Itraconazol. Ref. 181**

Efectos adversos	Comentarios
Náusea, con dolor abdominal	Administrar con alimentos
Anorexia, fatiga, fiebre, edema	Limitado
Cefalea, malestar general	Limitado
Prurito o rash cutáneo	Ocurre en pacientes inmunosuprimidos
Hipocalemia, hipertensión	Limita la terapia con dosis □ 600 mg diarios
Aumento de las transaminasas hepáticas	Monitor de hepatitis

**Tabla XX. Efectos adversos del Ketoconazol. Ref. 181**

Efectos adversos	Comentarios
Náusea, vómito,	Administrar con alimentos
Dolor abdominal, diarrea	Limitado
Cefalea y somnolencia	Ocurre en 1% de los pacientes
Prurito o rash cutáneo	Ocurre en 10% de los pacientes
Anafilaxis	Raro, fatal, discontinuar de inmediato
Baja de testosterona	Considerar bajas dosis
Baja cortisol	Usado terapéuticamente para Síndrome de Cushing, Próstata, cancer, pubertad precoz.
Aumento de las transaminasas hepáticas	Reversible, asintomático

**Tabla XXI. Efectos adversos del Fluconazol Ref. 181**

Efectos adversos	Comentarios
Náusea, vómito,	Limitado
Dolor abdominal, diarrea	Limitado
Cefalea	Limitado
Prurito	Suspender terapia si progresa
Aumento de las transaminasas hepáticas	Monitor de hepatitis

BIBLIOGRAFIA:

1. Bonifaz A. Histoplasmosis En: Micología Médica Básica. Méndez editores 1990 México, pp: 235-276
2. Darling S.T.A. A protozoan general infection producing pseudotubercles in the lungs and focal necrosis in the liver, spleen and lymph nodes. JAMA 1906;46: 1283-1285
3. Rippon J.W. Histoplasmosis and Histoplasmosis *duboisii*. In : Medical Mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic Actinomycetes. Philadelphia 1988 3ª ed. Edit. W.B. Saunders C., pp: 381-432
4. Strong, R.P. Study of some tropical ulcerations of skin with particular reference to their etiology. Philippine J Sci 1906; 7: 91-116
5. Da Rocha Lima, V.H. Beitrag zur Kenntnis der Blastomykosen. Lymphagitis Epizootica und Histoplasmosis. Zentralbl f Bakt 1912; 67: 233
6. Riley, W.A. and Watson C. J. Histoplasmosis of Darling with report of a case originating in Minnesota. Am J trop Med 1926; 6: 271
7. Dodd K., and Tompkins E.H. Case of Histoplasmosis of Darling in an infant. Am J Trop Med, 1934; 14: 127
8. DeMonbreum, W. A. The cultivation and cultural characteristics of Darling's *Histoplasma capsulatum* Am J Trop Med. 1934; 14: 93
9. Hansmann. G. H. and J. R. Schenken. A unique infection in man caused by a new yeast-like organism, a pathogenic member of the genus *Sepedonium*. Am J Pathol 1934; 10: 731-738
10. Negroni R. Estudio micológico del primer caso Argentino de histoplasmosis. Rev Inst Bact Malbran. 1940; 9: 239-294
11. Meleney H. E. Pulmonary histoplasmosis report of 2 cases. Am Rev of Tuberc. 1941; 44: 203
12. Johnson H. E. and Baston R. Benign pulmonary histoplasmosis; case report with brief review of literature. Dis Chest. 1948; 14: 517
13. Bunnell. I. L. and Furcolow M.L. A report of 10 proved cases of histoplasmosis. Pub Health Rep. 1948; 63: 299
14. Perrín T.G., Martínez-Báez M. Nota sobre el primer caso de histoplasmosis en México. Rev Inst Salubr Enferm Trop. 1943; 4: 79-80

15. Christie A. and J. C. Peterson. Pulmonary calcification in negative reactors to tuberculin. *Am J Public Health*. 1945; 35: 1131-1147
16. Palmer C. E. Nontuberculous pulmonary calcification and sensitivity to histoplasmin. *Public Health Rep*. 1945; 60: 513-520
17. Palmer C. E. Geographic differences in sensitivity to histoplasmin among student nurses. *Public Health Rep*. 1946; 61: 475-487
18. Tenenberg, D.J. and Howell A. Complement fixation test for histoplasmosis. I. Technic and preliminary results on animal sera. *Public Health Rep*. 1948; 63: 163-168.
19. Emmons C. W. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil. *Public Health Rep*. 1949; 64: 892-896
20. Zeidberg L. D., L. Ajello, et al. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil. *Am J Public Health*. 1952; 42: 930-935
21. Grayston, J. T. and Furcolow M.L. The experience of histoplasmosis in epidemics-epidemiological studies. *Am J Pub Health*. 1953; 43;
22. Brodsky A. L., Gregg M. B., et al. Outbreak of histoplasmosis associated with the 1970 Earth Day activities. *Am J Med*. 1973; 54: 333
23. Kligman A. M. The Hotchkiss-Mc Manus stain for the histopathologic diagnosis of fungus disease. *Am J Clin Pathol*. 1951; 21: 86-91
24. Schwarz J., F. N. Silverman, et al. The relation of splenic calcification to histoplasmosis. *New Engl J Med*. 1955; 252: 887-891
25. Schwarz J., G. L. Baum et. Al. Successful infection of pigeons and chickens with *Histoplasma capsulatum*. *Mycopathologia*. 1957; 8: 189-193
26. Baum G. L., Green, R. A. and Schwarz J. Enlarging pulmonary histoplasma. *Am Rev Respir Dis*. 1960; 82: 721
27. Kwon-Chung K. J. Sexual stage of *Histoplasma capsulatum*. *Science*. 1972; 175:326
28. Kwon-Chung K. J. Studies on *Emmonsia capsulata*. Heterothallism and development of the ascocarp. *Mycologia*. 1973; 65:109-121.
29. Mc Ginnis, MR and Katz B. *Ajellomyces* and its synonym *Emmonsia*. *Mycotaxon*. 1979; 8: 157-164

30. Vaca Marín M.A., Martínez Rivera M.A. y Flores Estrada J.J. Histoplasmosis en México. aspectos históricos y epidemiológicos. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex.* 1998; 11(3): 208-15
31. Arenas R. Histoplasmosis en: *Micología Médica Ilustrada*. Editorial Interamericana. Mc Graw-Hill 1ª edición, México 1993: 201-208
32. Dixon J.M.S. Impact of the mycosis in Canada and Strategies for their control. In: Panamerican Health Organization. Proceed VI internal Conference on the Mycoses. Washington DC: PAHO/OMS N° 479, 1986: 28-33
33. Wilson J.A.S., Munro D.D. Surgical Treatment of Mycotic Infections of the lungs. *Can Med Assoc* 1967; 97: 166-173
34. Edwards LB, Acquaviva FA, Livesay VT. An Atlas of Sensitivity to tuberculin, PPD-Band *Histoplasmin* in the United States. *Am Rev Respir Dis* 1969; 99 (suppl 1): 132S
35. Chick W, Flanigan C, et al. Hitchcock's Birds, or the Increased Rate of Exposure to *Histoplasma* from Blackbirds Roost Sites. *Chest* 1981; 80: 4334-438.
36. Furculow ML. Epidemiology of Histoplasmosis. In Sweany HC, editor. *Histoplasmosis* Springfield: Charles C. Thomas, 1960; 28-33.
37. Conant, Smith, Baker, et al. Histoplasmosis. En: *Micología* 3º ed. México, D.F. Editorial Interamericana 1972: 170-212
38. Goodwin RA, Nickell JA, des Prez RM. Mediastinal Histoplasmosis in Normal Hosts. *Medicine* 1981; 60: 231-266.
39. Taylor, M.L., Granados J. y C. Toriello. "Biological and Sociocultural Approaches of Histoplasmosis en the State of Guerrero, México" *Mycoses* 1996; 39: 375-379
40. Taylor, M.L., Reyes M.M.R., Martínez R.M.A, et al. Histoplasmosis en México, Aportaciones inmunológicas y moleculares sobre su epidemiología. *Ciencia y Desarrollo* 1997; 23 (136): 68-63.
41. Información Epidemiológica de Morbilidad. Reporte anual. Dirección General de Epidemiología. Secretaría de Salud. 1993.
42. Taylor M.L., Pérez MA, Yamamoto F.J.K., et al. Immunologic, genetic and social human risk factors associated to histoplasmosis: Studies in the State of Guerrero, México. *Mycopathologia* 1997; 138: 1337-141.
43. Pedroza-Serés M, Quiroz-Mercado H, Ganados J. et al. The syndrome of presumed ocular histoplasmosis in México: A preliminary study. *J med Vet Mycol* 1994; 32: 83-92.

44. Quiñones F, Kaplan J.P, Pike L, et al. Histoplasmosis in Belize. Central America. Am J Trop Med Hyg 1978; 27: 558-561.
45. Fava-Netto C, De Andrade e Silva de U, Chammas F, et al. Histoplasmosis epidémica. Estudio Clínico, radiológico, micológico de surto ocurrido no Estado de Sao Paulo. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1967; 9: 222-232.
46. De Albornoz M.B. Aspectos epidemiológicos y formas clínicas de la paracoccidiodomicosis e histoplasmosis. 1984-1987. Bol Infor Micosis Venezuela 1988; 4: 7-11.
47. De Albornoz M.B, Villanueva E. Hiperactive T-cell Incriminated in Meningeal Histoplasmosis. Mycology Observer 1988; 8: 2.
48. Hay R.J, White H.S, Fielda P.E, et al. Histoplasmosis in the Eastern Caribbean: a Preliminary Survey of the incidence of the infection, J. Trop Med Hyg 1981; 84: 9-12
49. Will F, Pradinaud R, Assens J, et al. Histoplasmosis Cutanéé Diffuse Aigüeau Cour d'une Infection par le VIH au Stade Terminal du SIDA. Nouv Dermatol 1991; 10: 494-495.
50. Silva D, Carvalho T, de Brito A. Histoplasmosis relato de un caso. An Bras Dermatol 1981; 56: 287-288.
51. Borelli D. Prevalence of Systemic Mycoses in Latin America. In: Proceed International Symposium on Mycoses. New York: Pub Scient PAHO/OMS Nº 205. 1970:28-38
52. Lopez J.O, Streher L.A, Schopf L.F, et al. Lesoes cutáneas na Histoplasmosis disseminada Progressiva asociada com SIDA. Rev Soc Bras Méd Trop 1994; 27: 171-174
53. Van Gelderen de K.A, Duran E.L, Madero A.M, et al. Histoplasmosis in Northwestern Argentina. Epidemiological Survey of Chusca and Higuera in the Province of Tucuman. Eur J Epidemiol 1992; 8:206-210.
54. Negroni R. Micosis profundas. Histoplasmosis. Comisión de Investigaciones Científicas. Las Platas, Buenos Aires. Pub Especial I, 1960: 1-85.
55. Negroni R. Las micosis Broncopulmonares en la República Argentina. El Tórax 1970; 19: 67-75
56. Negroni R. Histoplasmosis en Argentina. Mykosen 1978; (1 Suppl): 202S-206S.
57. Rubinstein P, Negroni R. Micosis Broncopulmonares del niño y el adulto. 2th ed. Buenos Aires: Beta, 1981: 1-44

58. Negroni R, de Elias Costa M.R, Golfera H, et al. Estudio de dos antígenos de la fase levaduriforme del *Histoplasma capsulatum* para pruebas cutáneas. *Sabouraudia* 1979; 17: 155-161
59. Negroni R, Taborda A, Benetucci J, et al. Manifestaciones cutáneo-mucosas de la histoplasmosis en pacientes con SIDA. *Rev Argentina Dermatol* 1990; 71:71-78
60. Edwards P.Q, Billings E. Worldwide Patterns of Skin Sensitivity to Histoplasmin. *Am J Trop Med Hyg* 1971; 20: 288-319
61. De Coronel V. Ecología de las micosis profundas en el Ecuador. *Rev Ecuat Hig Méd Trop* 1967; 24: 150-153
62. Manfredi R, Mazzoni A. Histoplasmosis *capsulati* and *duboisii* in Europe: The impact of the HIV pandemic, travel and immigration. *Eur J Epidemiol.* 1994; 10: 675-681.
63. Sotgiu G, Mantovani A, Mazzoni A. Histoplasmosis in Europe, *Mycopathologia Mycol Appl* 1970; 40:53-74.
64. Diamond R.D. The growing problem of mycoses in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Rev Infect Dis* 1991; 13:480-6.
65. Ankobiah W.A, Vaidya K, Powell S, Carrasco M. Disseminated histoplasmosis in AIDS. Clinicopathologic features in seven patients from a non-endemic area. *NY State J Med* 1990; 90: 234-238.
66. Rinaldi M.G. Histoplasmosis in AIDS patients. In: Vander Bossche H, Mackenzie DWR, Eds. *Mycoses in AIDS patients.* New York-London: Plenum Press. 1990:163-170.
67. De Closets F, Rossazza C, Bella L, et al. A propos de lesions ophthalmologiques de type histoplasmique observées a Tours. *Bull Soc Fr Mycol Méd.* 1990; 19: 91-94
68. Kwon-Chung K.J, Bennett J.E. Histoplasmosis In: *Medical Mycology.* Philadelphia: Lea y Febiger, 1992: 464-513
69. Ajello L. The Mycoses of Oceania. *Mycopathol Mycol Appl* 1972; 46: 87-95
70. Apperloo A J, Neils G.F. Asian form of Disseminated Histoplasmosis Diagnosed by CT-guided Biopsy of the Adrenals Treated with Ketoconazole. *Neth J Med* 1988; 33: 225-231.
71. Navarro E.E, Tupasi T.E, Verallo V.M, et al. Disseminated Histoplasmosis with Unusual Cutaneous Lesions in a Patient from the Phillipines. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 46: 141-145.

72. Randahawa H.S. Ocurrence of Histoplasmosis in Asia. *Mycopathl Mycol Appl* 1970; 41; 75-89.
73. Anandi V, Walter A, Jacob M, et al. Histoplasmosis Simulating Cutaneuos Carcinoma. *Indian J Phathol Microbiolll* 1991; 34: 149-151.
74. Huerre M, Ravisse P, Dubordieu D, et al. Les Mycoses Profundes Observees en Nouvelle Caledonie. *Bull Soc Pathol Exot* 1991; 84: 247-256.
75. Drohuet E. Histoplasmosis. In: Mahgoub ES, editor. *Tropical Mycosis* Beerse. Bélgica: Janssen Research Council. 1989: 113-147.
76. Houston S. Histoplasmosis and Pulmonary Involvement in the Tropics. *Thorax* 1994; 49: 598-601.
77. Stott H. Histoplasmin Sensitivity and Pulmonary Calcification in Kenya. *Br Med J*. 1954; 1: 22-25.
78. Doy RW. Acute Pulmonar Histoplasmosis. *Cent Afr J Med*. 1974; 20: 119-123.
79. Ajello L, Manson Bahr PEC, Moore JC. Amboni Caves Tanganyika. A New Endemic Area for *Histoplasma capsulatum*. *Am J Trop Med Hyg* 1960; 9: 633-638.
80. Destombes P, Ravisse P, Naziinoff O. Bilan des Mycoses Profundes Étabil en Vingt Années d' HistopathologieáInstitut Pasteur de Brazzaville. *Bull Soc Pathol Exot*. 1970; 63: 315-322.
81. Surmont I, Vandepitte J. Mycoses in Africa. In: Gatti F, de Vroey C, Persi A, editors. *Human Mycoses in Tropical Counties*. Bolonga: Quaderni di Cooperazione Sanitaria, 1991: 43-52.
82. Leppe P., Ulloa M. Aguilar S., et al. Levaduras asociadas con el hábitat natural de *Histoplasma capsulatum* en Guerrero, México. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* . 1988; 11 (3): 162-172
83. Goodman N.L, Larsh H.W, Environmental factors and growth of *Histoplasma capsulatum* in soil. *Mycopath Mycol Appl*.1967; 33: 145-156
84. Batanghari W.J, Goldman E.W, Calcium dependence and binding in cultures of *Histoplasma capsulatum*. *Infect Immun*. 1997;65: 5257-5261.
85. Koopman K.F. The distributional patterns of new world nectar-feeding bats. *Ann Missouri Bot Garden* 1981; 68: 352-369
86. Humphrey S.R., Bonaccorso F. Population and community ecology. In Baker R.J, Jones J.K., Carter D. C., editors. *Biology of bats of the new world family Phyllostomatidae*. Part 3 Texas: Texas Tecnological University. 1979: 409-441

87. González-Ochoa A. Relaciones entre el hábitat del murciélago y el *Histoplasma capsulatum*. Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop. 1963; 23: 81-86
88. McCracken G.F., McCracken M.K., Vawter A.T. Genetic structure in migratory population *Tadarida brasiliensis* mexicana. J Mammal. 1994; 75: 500-514.
89. Kunz, T. H: Ecological and Behaviour Methods for the Study of Bats, London 1988, Smithsonian Institution Press.
90. Taylor, M.L , Toriello C., Pérez Mejía A, et al. Histoplasmosis in the state of Guerrero, México: A biological Approach. Rev. Mex. Mic. 1994; 10: 49-62
91. Guidry D.J and Spence H. A. Deposition of *Histoplasma capsulatum* in the subcutaneous tissues and features of inoculated chick embryos. Sabouraudia.1967; 5: 278.
92. Tewari, R. P. and Campbell C. C. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from feathers of chickens inoculated intravenously and subcutaneously with the yeast phase of the organisms. Sabouraudia, 1965; 4: 17.
93. Vargas-Yañez R., Peña S.G.R., Chávez-Tapia C.B. et al. Infección natural por *Histoplasma capsulatum* en animales silvestres. Rev Inst Nal Enf Resp Mex. 1988; 11(3): 192-194.
94. Flores Estrada J.J. Estudio del desplazamiento de cepas mexicanas de *Histoplasma capsulatum* en la naturaleza por identificación del polimorfismo genético del DNA genómico. (Tesis de Maestro en ciencias Biomédicas (Microbiología)). México, D.F.: División de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Medicina, UNAM. 1998.
95. Fernández-Andreu C.M. Aislamiento de *Histoplasma capsulatum* en murciélagos en Cuba. Rev Cubana Med Trop 1988; 40: 36-43
96. Chávez tapia, Vargas Yañez, Rodríguez Arellanes et. al. El murciélago como reservorio y responsable de la dispersión de *Histoplasma capsulatum* en la naturaleza. Papel de los marcadores moleculares del hongo aislado de murciélagos infectados. Rev Inst Nal Enf Resp Mex. 1988; 11(3): 187-197
97. Arias J.R, Naiff R.D, Naiff M.F, et al. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from and armadillo (*asypus novemcinctus*) in the eastern Amazon of Brazil. Trans Royal Soc Trop Med Hyg 1982; 76:705-706.
98. Naiff R.D, Barrett T.V, Naiff M.F, et al. New records of *Histoplasma capsulatum* from wild animals in the Brazilian Amazon. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1996: 38: 273-277
99. Weller R.F. Dagle G.E, Malaga C.A. et al. Hypercalcemia and disseminated histoplasmosis in an owl monkey. J Med Primatol. 1990; 19(7): 675-680

100. VanSteenhouse J.L, DeNovo R.C Jr. A typical *Histoplasma capsulatum* infection in a dog. J Am Vet Med Assoc. 1986; 188(5): 527-528.
101. Wolf M.M. *Histoplasma capsulatum* osteomyelitis in the cat. J. Vet Intern Med. 1987; 1 (4): 158-162
102. Frame S.R, Mehdi N.A, Turek J.J. Naturally occurring mucocutaneous histoplasmosis in a rabbit. J Comp Pathol 1989; 101(3): 351-354
103. Ezabek G.B, Donahue J.M, Giles R.C, et al. Histoplasmosis in horses. J Comp Pathol 1993; 109 (1): 47-55.
104. Chandel B.S, Kher H.N. Occurrence of histoplasmosis like disease in camel (*Camelus dromedarius*). Indian Vet J. 1994; 71: 521-523.
105. González Ochoa A. Epidemiología de la histoplasmosis primaria en México. Rev Inst Enf Trop (Mex). 1963; 23: 65-80
106. Studdard J, Sneed W.F, Taylor M.L. et al. Cutaneous histoplasmosis. Am Rev Respir Dis. 1976; 113: 689-693
107. Tesh R.B. Schneidau J.D, Primary cutaneous histoplasmosis. N Engl J Med. 1966; 275: 597-599.
108. Sills M, Schwartz A, Weg J.G. Conjugal histoplasmosis: a consequence of progressive dissemination in the index case after steroid therapy. Ann Intern Med. 1973; 79: 221-224.
109. Philipn R, Cohen, Jonathan L. et al. Disseminated Histoplasmosis Presenting an Ulcerated Verrucous Plaque in Human Immunodeficiency Virus-Infected Man. Report of a Case Possibly Involving Human-to-Human Transmission of Histoplasmosis. Int J Dermatol. 1991; 30(2): 104-108
110. González Ochoa A. Peculiaridades de la Histoplasmosis en México. En: Desarrollo y Estado Actual de la Micología en México. Simposio Syntex. Ediciones del Instituto Syntex. Diciembre de 1979; 139-149.
111. Climent-Beltran, J.B. Ley Federal Del Trabajo, Comentarios y Jurisprudencia. 4º ed. México, D.F. 1990: Editorial Esfinge.
112. Taylor M.L., Reyes M.N.R., González G.R., et al. Immune response changes with age and sex as factors of variation in resistance to *Histoplasma* infection. In: Michael Baxter. editor. Proceedings VIIIth. Congress International Society for Human And Animal Mycology. Palmerston North: mássey University. 1982; 262-264

113. Reyes M. M. R., Casasola J., Elizondo E. N., et al. Relationship between age and cellular suppressive activity in resistance to *Histoplasma capsulatum* infection. Sabouraudia. J Med Vet Mycol 1985; 23: 351-360
114. Taylor M. L., Díaz S. et al. Relationship Between Pathogenesis and Immune Regulation Mechanisms in Histoplasmosis: A Hypothetical Approach. Rev Infect Dis 1984 Vol. 6 No. 6 775-821
115. Ruiz P.G.M., Ponce de León R.S., et al. Características del síndrome de inmunodeficiencia adquirida en 93 pacientes del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán". Rev Invest Clín (Méx.) 1987; 39: 7-12
116. McKinsey D, Spiegel R, et al. Prospective Study of Histoplasmosis in Patients Infected with Human Immunodeficiency Virus: Incidence, Risk Factors, and Pathophysiology. Clin Infect Dis 1997; 24: 1195-1203
117. Kirchner J. T. Opportunistic fungal infections in patients with HIV disease: combating cryptococcosis and histoplasmosis. Postgrad-Med 1996; 99(6): 209-216
118. Zúñiga Ramos J, Hernández Martínez B, Radríguez Reyna T, et al. Inmunogenética de la histoplasmosis. Rev Inst Nal Enf Resp Mex. 1998; 11(3): 226-228
119. Reyes-Montes et al. Tipificación de aislados clínicos de *Histoplasma capsulatum* por métodos fenotípicos y genotípicos. Rev Inst Nal Enf Resp Mex. 1988;11(3):195-201
120. Vincent R.D, Goewert R, Kobayashi G.S et al. Classification of *Histoplasma capsulatum* isolates by restriction fragment polymorphisms. J. Bacteriol 1986; 165: 813-818
121. Spitzer D.E, Lasker B.A, Kobayashi G.S et al. Use of mitochondrial and ribosomal DNA polymorphisms to classify clinical and soil isolates of *Histoplasma capsulatum*. Infect Immun. 1989; 57: 1409-1412
122. Keath E.J, Kobayashi G.S. Medoff G. Typing of *Histoplasma capsulatum* by restriction fragment length polymorphisms in a nuclear gene. J Clin Microbiol 1992; 30: 2104-2107
123. Salas Ríos M. A., Reyes Montes M., Martínez Rivera M.A, et al. Genotipificación de cepas de *Histoplasma capsulatum* aisladas de pacientes con histoplasmosis asociada al SIDA, mediante el polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción. Rev Inst Nal Enf Resp Mex. 1988; 11(3): 202-207
124. Taylor M. L., Duarte E. Estrategias del *Histoplasma capsulatum* para evadir los mecanismos citocidas de los fagocitos. Rev Invest Clin. 1995 47(6): 499-506

125. López Martínez R. Los mecanismos patogénicos y de protección en las micosis. *Gac Méd Méx.* 1995 132(1): 47-61
126. Taylor M.L, Duarte E. Fagocitosis opsónica de *Histoplasma capsulatum*. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex.* 1998;11(3):229-231
127. Gorocica P., Duarte Escalante E., et al. Fagocitosis no opsónica, lectinofagocitosis de *Histoplasma capsulatum*. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex.* 1988;11(3):232-236.
128. Carrada Bravo T., Rocha Galindo A, et al. El espectro clínico-epidemiológico de la histoplasmosis pulmonar: Avances recientes y perspectivas futuras. *Rev Nal Enf Resp Méx.* 1996; 9(3):206-336.
129. Berliner M. Primary Subcultures of *Histoplasma capsulatum* Macro and Micromorphology of the Mycelial Phase. *Sabouraudia.* 1968; 6:111-118.
130. Deniels L.S. Berliner M.D, Campbell C.C. Varying Virulence in Rabbits Infected eigh Different Filamentous Types of *Histoplasma capsulatum*. *J Bacteriol* 1968; 96: 1535-1539
131. Teware R.P, Berkhout F.J. Comparative Phatogenicity of Alvino and Brown Types of *Histoplasma capsulatum* for Mice. *J Infect Dis.* 1972; 125: 504-508
132. Morris P.R, Terreni A.A and DiSalvo A.F. Red-pigmented *Histoplasma capsuatum*: an Unusual Variant. *J Med Vet Mycol* 1986; 24: 231-233
133. Kurung J.M, Yegian D. Medium for Manteintenance and conversion of *Histoplasma capsulatum* to Yeast-Like Phase. *Am J Clin Pathol.* 1954; 24: 505-508
134. Hutton J.P, Durha J.B. Hyphal forms of *Histoplasma capsulatum*. *Arch Pathol Lab Med.* 1985; 109: 330-332
135. Ajello L and Cheng S.L. Sexual reproduction in *Histoplasma capsulatum*. *Mycología.* 1967; 59: 689-697.
136. Glick A.D, Kwon-Chung K.J. Ultrastructural comparision of coils and ascospores of *Emmonsiiella capsulata* and *Ajellomyces dermatitidis*. *Mycologia.* 1973; 65: 216-220
137. Scherr, G.H. Studies on the dimorphism of *Histoplasma capsulatum*. *Exp Cell Res.* 1957; 12: 92-107
138. Maresca B, Medoff G, Kobayashi G.S. Regulation of dimorphism in the pathogenic fungus *Histoplasma capsulatum*. *Nature.* 1977; 266: 447-448

139. Medoff G, Maresca B, et al. Correlation between Pathogenicity and Temperature Sensitivity in Different Strains of *Histoplasma capsulatum*. J Clin Invest. 1986; 78: 1638-1647
140. Gilbert B.E. and Howard D.H. Incorporation of cysteine by yeast cells of *Histoplasma capsulatum*. Infect Immun. 1970; 2: 169-170
141. Maresca B, Kobayashi G.S. Dimorphism in *Histoplasma capsulatum*: a Model for Study of cell Differentiation in Pathogenic Fungi. Microbiol Rev. 1989; 53: 186-195
142. Boguslawski G, Akagi J.M, Ward L.G. Possible role for cysteine biosynthesis in conversion from mycelial to yeast from *Histoplasma capsulatum*. Nature. 1976; 261: 336-338
143. Maresca B, Lambowitz A.M, et al. Role of cysteine in regulating morphogenesis and mitochondrial activity in the dimorphic fungus *Histoplasma capsulatum*. Proc Natl Acad Sci. 1981; 78 (7): 4596-4600
144. Maresca B, Lambowitz A.M, et al. Respiration in the Yeast and Mycelial Phases of *Histoplasma capsulatum*. J Bacteriol. 1979; 138 (2): 647-649
145. Domer J.E. Monosaccharide and Chitin Content of Cell Walls of *Histoplasma capsulatum* and *Blastomyces dermatitidis*. J Bacteriol. 1971; 107: 870-877
146. Domer J.E. et al. Comparative study of the cell of the yeastlike and mycelial phase of *Histoplasma capsulatum*. J Bacteriol. 1967; 94: 466-474.
147. Pine L, Bonne C. Cell wall composition and serologic reactivity of *Histoplasma* serotypes and related species. J Bacteriol. 1968; 96: 789-798.
148. Howard D.H. Studies of the catalasa of *Histoplasma capsulatum*. Infect Immun. 1983; 39: 1161-1166
149. Burt W.R., Underwood A.L. Hydroxamic acid from *Histoplasma capsulatum* that displays growth factor activity. Appl Environ Microbiol. 1981; 42: 560-563.
150. Worsham P.L and Goldman W.E. Quantitative planting of *Histoplasma capsulatum* without addition of conditioned medium or siderophores. J Med Vet Mycol. 1988; 26: 137-143.
151. McVeigh I. And Morton K. Nutritional studies of *H. capsulatum*. Mycopathol Mycol Appl. 1965; 25: 294-308
152. Kwong-Chung K.J and Tewari R.P. Determination of viability of *Histoplasma capsulatum* yeast cells grown *in vitro*: comparasion between dye and colony count methods. J Med Vet Mycol. 1987; 25: 107-114

153. Goodwin R and M. Dez Prez R. Histoplasmosis. *Am Rev Respir Dis.* 1978; 117:929-956
154. Velasco Castrejón O. La histoplasmosis pulmonar primaria en México. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex.* 1988; 11(3): 221-225.
155. Contreras C, Shibayama H, Gutiérrez P. Aportaciones del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos a la Histoplasmosis. *Rev Inst Enf Resp Mex.* 1998; 11 (3): 216-220.
156. Hazen E.L and Tahler E.D. Experimental Histoplasmosis of Skin and Mucous Membranes in Rabbits. *J Invest Dermatol.* 1950; 15: 205-209
157. Cohen P.R, Grossman M.E, Silvers N.D. Disseminated Histoplasmosis and Human Immune Deficiency Virus Infection. *Int J Dermatol.* 1991; 30: 614-622
158. Cohen P.R. Oral Histoplasmosis in VIH-infected Patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994; 78: 277-278
159. Cohen P.R et al. Cutaneous Lesions of Disseminated Histoplasmosis in Human Immuno Deficiency Virus-infected Patients. *J Am Acad Dermatol.* 1990; 23: 422-428
160. Orozco Topete RL, Reyes E. Histoplasmosis cutánea en nueve pacientes con SIDA. *Rev Invest Clin.* 1998; 50(6): 525-528
161. Mc Kinsey D.S. Histoplasmosis Chez les Patients Infectés par le Virus de l'immunodéficience Humaine. *J. Mycol Med.* 1992; 2 Suppl: 23-24
- 161\*. Taylor M.L., Reyes Montes M.R., Bobadilla del Valle M., et al. Relatedness Analyses of *Histoplasma capsulatum* Isolates from Mexican Patients with AIDS-Associated Histoplasmosis by Using Histoplasmin Electrophoretic Profiles and Randomly Amplified Polymorphic DNA Patterns. *J Clin Microbiol.* 1999; 37(5): 1404-1408
162. Driks M.R. et al. Gastrointestinal Histoplasmosis in Patients with AIDS. In: Program and Abstracts of 30<sup>th</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. *J Am Soc Microbiol.* 1994; 298
162. Graham B.D, Mc Kinsey D.S, Driks M.R, et al. Colonic Histoplasmosis in AIDS: Report of Two Cases. *Dis Colon Rectum.* 1991; 34: 185-190
163. Specht C.S, Mitchell K.T, Bauman A.E, et al. Ocular Histoplasmosis with Retinitis in a Patient with AIDS. *Ophthalmology.* 1991; 98: 1356-1359
164. Mc Kinsey D.S, Gupta M.R, Ridler S.A, et al. Long-term Amphotericin B Therapy for Disseminated Histoplasmosis in Patients with AIDS. *Ann Intern Med.* 1989; 11: 655-659

166. Johnson P.C, Khardori N, Najjar A, et al. Progressive Disseminated Histoplasmosis in Patients with AIDS. *Am J Med* 1988; 85: 152-158.
167. Hazelhurst J.A, Vismer H.F. Histoplasmosis Presenting with Unusual Skin Lesions in AIDS. *Br J Dermatol.* 1985; 113: 345-348
168. Flucolow M.L, Tosh F.E, Larsh H.W, et al. The Emerging Pattern of Urban Histoplasmosis: Studies on an Epidemic in México, Missouri. *New Eng J Med.* 1961; 264: 1226
169. López Martínez R, Méndez Tovar L.J., Hernández Hernández F, et al. Histoplasmosis. En *Micología Médica. Procedimientos para el Diagnóstico de Laboratorio.* Editorial Trillas 1995. México pp: 83-91
170. Smith C.D, Goodman N.L. Improved culture method for the isolation of *Histoplasma capsulatum* and *Blastomyces dermatitidis* from contaminated specimens. *Am J Clin Phath.* 1975; 63: 276-280
171. Jiménez P.L, Shibayama H.H et al. Antígenos somáticos de *Paracoccidioides brasiliensis* para reactividad cutánea. *Rev Lat-Amer Microbiol.* 1989; 31:205-213
172. Vargas Ocampo F. Histoplasmosis. *Salud Pública Méx.* 1987; 29(3): 201-205
173. Di Salvo A.F and Corbett D.S. Apparent false positive histoplasmin latex agglutination tests in patients with tuberculosis. *J Clin Microbiol.* 1976; 3: 306-308.
174. Wheat J, Connolly-Stringfield P, Blair R, et al. Histoplasmosis Relapse in Patients with AIDS: Detection Using *Histoplasma capsulatum* variety *capsulatum* Antigen Levels. *Ann Intern Med,* 1991; 115(12): 936-941
175. Wheat J.L, Connolly-Stringfield P, Williams B et al. Diagnosis of Histoplasmosis in Patients with the Acquired Immunodeficiency Syndrome by Detection of *Histoplasma capsulatum* Polysaccharide Antigen in Bronchoalveolar Lavage Fluid. *Am Rev Respir Dis.* 1992; 145: 1421-1424
176. Stockman L, Murphy-Clark K and Roberts G. Evaluation of commercially available nucleic acid probes for the culture identification of *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans* and *Histoplasma capsulatum*. *J Clin Microbiol.* In press.
177. Grigoriu D. Delecrétaz J, Borell. *Histoplasmosis in Medical Mycology.* 1987; Ediciones Roche, Basle, Switzerland.
178. Negroni R. Histoplasmosis. En: *Micosis que afectan piel y mucosas.* Edit. Doyma. 1987. Barcelona, pp: 106-114

179. McKinsey D.S, Kauffman C.A, Pappas G.P, et al. Fluconazole therapy for Histoplasmosis. *Clin Infec Dis*. 1996; 23:996-1001
180. Macoleta E y López Martínez R. Tratamiento de las Micosis Profundas. *Boletín Terapéutico*. 1971; 3(6): 13
181. Andriole T.V, Bodey G.P. *Pocket Guide to Sistemic Antifungal Therapy*. 1994 Scientific Therapeutics Information, Inc
182. Wheat J.L, Connolly-Stringfield P, Robinette B, et al. Effect of Successful Treatment With Amphotericina B on *Histoplasma capsulatum* variety *capsulatum* Polysaccharide Antigen Levels in Patients With AIDS and Histoplasmosis. *Am J Med*. 1992; 92: 153-160
183. Wheat J.L, Hafner R, Wulfsohn M, et al. Prevention of Relapse of Histoplasmosis with Itraconazole in Patients with the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Ann Int Med*. 1993; 118 (8): 610-616.
184. Wheat J.L, Hafner R, Korzun H A. Itraconazole Treatment of Disseminated Histoplasmosis in Patients With the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Am J Med*. 1995, 98: 336-342
185. Norris S, Wheat J, Mckinsey D, et al. Prevention of Relapse of Histoplasmosis With Fluconazole in Patients With the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Am J Med*. 1994; 96: 504-508
186. Morse D.L, Gordon M.A, Matte T, et al. An outbreak of histoplasmosis in a prison. *Am J Epidemiol*. 1985; 122: 253-261
187. Goodman and Gilman. *Agentes antimicrobianos en: Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 6° edición 1982 Editorial Panamericana
188. Murray R.P, Kobayashi G.S, Pfaller A.M et al. *Quimioterapia de las infecciones micóticas*, en: *Microbiología Médica*. 2° edición 1997 ediciones Harcourt Brace. Madrid.
189. Tortora G, Funke B, and Case C. *Histoplasmosis In: Microbiology*. 5°ed 1995 The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.