

870127

4  
2ej

---

# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

---

Incorporada a la Universidad Nacional Autónoma de México

---

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

INCIDENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-COCCIDIODES  
IMMITS EN SUEROS DE PACIENTES CON NEUMOPATIAS.

---

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
IRENE ELIZABETH BAYARDO MARTINEZ

---

ASESOR: DR. J. JAIME MENDIOLA G.  
GUADALAJARA, JALISCO

---

1987

---



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

# I N D I C E

	Pag.
CAPITULO I	INTRODUCCION . . . . . 1
CAPITULO II	GENERALIDADES:
	1.- ANTECEDENTES HISTÓRICOS . . . . . 3
	2.- CICLO DE VIDA Y ESTADOS DE COCCI-- DIOIDES IMMITIS EN EL CICLO DE VI- DA CON LA RESPUESTA DEL HUESPED. . . . . 5
	3.- ECOLOGIA . . . . . 9
	4.- EPIDEMIOLOGIA . . . . . 11
	5.- MANIFESTACIONES CLINICAS . . . . . 15
	6.- DIAGNOSTICO DE LABORATORIO . . . . . 20
	7.- PATOLOGIA . . . . . 27
	8.- DIAGNOSTICO DIFERENCIAL . . . . . 30
	9.- PRONOSTICO . . . . . 31
	10.- TRATAMIENTO . . . . . 32
	11.- PROFILAXIS . . . . . 35
CAPITULO III	MATERIAL Y METODOS:
	1.- SELECCION DE MUESTRA . . . . . 37
	2.- METODOLOGIA . . . . . 38
CAPITULO IV	RESULTADOS . . . . . 43
CAPITULO V	CONCLUSIONES . . . . . 50
CAPITULO VI	BIBLIOGRAFIA . . . . . 52

CAPITULO I  
I N T R O D U C C I O N

El estudio meticuloso de los síntomas y circunstancias epidemiológicas puede permitir un diagnóstico de las enfermedades micóticas y deben ser confirmados por métodos de cultivo histológicos, pero desgraciadamente, el diagnóstico de una infección micótica no puede comprobarse siempre por estos medios, a pesar de los repetidos intentos en el aislamiento del hongo de los pacientes o demostrar su presencia en muestras de biopsia y autopsia. En tales situaciones, las técnicas inmunológicas se pueden usar para obtener una prueba rápida y presuntiva de la infección. Tal evidencia a menudo facilita la primera pista de la existencia de una infección fúngica.

Los resultados serológicos positivos facilitan información sobre los efectos de la quimioterapia, y en muchos casos según los resultados se deben incrementar los esfuerzos para el aislamiento e identificación del agente etiológico.

Además el análisis cualitativo y cuantitativo de diversas características de la respuesta inmunitaria ha conducido a un mejor entendimiento de la patogenia de muchos trastornos clínicos.

A su vez este entendimiento ha estimulado la investigación científica básica en inmunología. De hecho las

observaciones hechas por los investigadores clínicos en inmunología han cambiado frecuentemente, de manera espectacular, el curso de la investigación básica en inmunología y sus campos asociados.

En las últimas dos décadas, los métodos inmunológicos de laboratorio se han vuelto cada vez más refinados y simplificados. Debido a su especificidad y sensibilidad inherentes, estos métodos han alcanzado en la actualidad - un papel central en la ciencia moderna del laboratorio clínico.

En base a lo anterior, con esta tesis se pretende - buscar anticuerpos anti-coccidioidina en los sueros de pacientes con enfermedades neumopáticas, con el fin de evitar una confusión en el diagnóstico médico de una neumopatía de otro origen, con una Coccidioidomycosis para un consecuente tratamiento a tiempo; esto se procurará llevando a cabo las pruebas de Inmunodifusión radial y de Ouchterlony con la ventaja de ser métodos sencillos, rápidos y fáciles de realizar en el laboratorio.

CAPITULO II

GENERALIDADES

## HISTORIA.-

La Coccidioidomycosis, se observó primeramente en Argentina en 1892 por Posada y por Wernicke; dos años más tarde fue descrito independientemente en California por Rixford. Coccidioides immitis se identificó en tejidos obtenidos post mortem y se denominó erróneamente como un protozoo. Aunque este error fue corregido pronto, cuando se cultivó el organismo en medios artificiales, transcurrieron casi 40 años antes que pudiera establecerse que Coccidioides immitis podía causar una enfermedad generalizada crónica, casi siempre mortal cuando no se trataba como una infección respiratoria aguda benigna.

Al microorganismo se le denominó Coccidioides (similar coccidia) porque las formas hísticas (esférulas) semejan coccidia. El nombre de especie, immitis, significa "no leve".

Bastante tempranamente se reconoció que la Coccidioidomycosis está limitada al sudoeste de los Estados Unidos, regiones contiguas del norte de México y áreas específicas de América Central y del Sur.

A esta enfermedad ( Coccidioidomycosis ) también se le denominó: "Granuloma Coccidioidal", "Fiebre del Valle" , "Reumatismo del Desierto", "Fiebre de San Joaquín", "Enfer



medad de Posada Wernicke".

Muchos de los conocimientos relacionados con la - - Coccidioidomycosis se obtuvieron gracias al Dr. Charles E. Smith y sus estudiantes en Stanford. La ecología en Coccid ioides immitis y la epidemiología de Coccidioidomycosis - fueron dilucidadas por Smith en una serie de investigaciones que comenzaron en la década de 1930 y desde entonces - han inspirado muchos otros estudios micológicos.

El Dr. Smith descubrió el reservorio natural de - - Coccidioides immitis aislando de muestras del suelo reco gidas en todo el sudoeste de los EEUU y determinó las condiciones ambientales que permiten la propagación del hombre. Desarrolló la coccidioidina, el antígeno para la - - prueba cutánea que se emplea para detectar exposición a -- Coccidioides immitis y llevó a cabo estudios de reactividad cutánea en poblaciones.

Sus contribuciones han llegado más allá de la acumulación de información sobre la coccidioidomycosis al establecimiento de los conceptos fundamentales de la infección micó tica.

## CICLO DE VIDA.-

Coccidioides immitis es un hongo dimórfico, posee un ciclo morfológico natural y otro infectando al tejido huésped.

Difiere de otros hongos en que el ciclo del parásito tiene un desarrollo morfogenético complejo.

Ciclo (saprófito) en el suelo.- Crece como moho, produce hifas tabicadas ramificadas y a medida que el cultivo envejece, se producen artrosporas características; con el tiempo la hifa formadora de las artrosporas se fragmenta fácilmente liberando artrosporas unicelulares, con forma de tonel, que a menudo presentan en sus extremos, apéndices de material de la pared de células adyacentes.

Las artrosporas tienen aproximadamente un tamaño de  $3 \times 6 \mu$  m, son fácilmente transportadas por aire y son suficientemente pequeñas como para ser inhaladas hasta los alveolos.

Son altamente resistentes a la desecación, temperaturas extremas y privación de nutrientes, pudiendo ser viables durante años.

El suelo que tiene una baja actividad de cultivo e irrigación es probablemente menor el albergamiento del hongo, que el suelo en reposo.

Ciclo del huésped (Parásito). Cuando la artroconidia coccidoidal es inhalada, se desarrolla un ciclo morfo genético totalmente diferente en el huésped.

Este ciclo es absolutamente único entre las micosis.

En el ciclo del parásito la artrospora infectante (espora asexual) experimenta un crecimiento progresivo acompañado por una rápida y sincronizada división nuclear del hongo - para formar una esférula, la cual es una estructura esférica de paredes gruesas, adelgazando a medida que aumenta el diámetro de 15 a 75  $\mu$ m conteniendo en su interior de unas pocas a varios cientos de endosporas con un tamaño de 2 a 5  $\mu$ m.

Una vez que la esférula ha madurado responde al disparador mecánico, rompiendo y liberando endosporas, y a su vez éstas crecen hasta convertirse en esférulas maduras. La duración del ciclo parasítico celular es aproximadamente de 4 a 6 días. Este ciclo parasítico entero puede ser reproducido in vitro, por el uso de un medio líquido de -- conversión.

## ESTADOS DE COCCIDIOIDES IMMITIS EN EL CICLO DE VIDA CON LA RESPUESTA DEL HUESPED.

Las endosporas son liberadas en paquetes juntamente por material fibrilar derivado de la pared celular esférica. Un problema potencial para la fagocitosis es que las endosporas no son liberadas en forma aislada fácilmente. Los paquetes miden aproximadamente  $10\frac{1}{2}$   $\mu$ m de diámetro; dentro de unas horas las endosporas comienzan a alargarse y a separarse unas de otras y la presencia del material fibrilar adherente que los atan juntamente es aparente; con el tiempo este material comienza a diseminarse.

Las esférulas y endosporas separadas son atacadas por polimorfonucleares (PMNs) pero la significancia cuantitativa de esta defensa del huésped es cuestionable. Estudios preliminares in vitro con PMNs humanos revelan -- que solamente 10 al 20% de las endosporas ingeridas son -- atacadas o destruidas.

Las endosporas son atacadas por macrófagos, pero so lamente en la presencia de linfocitos inmunes, porque la -- función fagolisosomal es potenciada. En la ausencia de linfocitos inmunes el hongo continúa desarrollando dentro de la esférula madura.

La parte externa de la pared hifal (HOWL) de la artroconidia es antifagocítica; el ataque intracelular de la artroconidia es ineficiente, porque está formada por una porción continua de HOWL.

El HOWL es fácilmente amovible en el fraccionador de células. Los estudios enfatizan que la artroconidia atacada es relativamente limitada (20 al 30%) cuando la HOWL tuvo que ser desnudada y el suero inmune tuvo que ser usado como el sistema opsonico.

No solamente las artroconidias son atacadas ineficientemente por PMNs. Los macrófagos alveolares son probablemente participantes en la respuesta más temprana al inhalar la artroconidia.

Hasta ahora la conidia de *Coccidioides immitis* posee mucho más desafío para la defensa del huésped que *B. dermatitidis*. Esto puede ayudar a explicar porque *Coccidioidomycosis* es un problema clínico más común que *Blastomycosis*.

## ECOLOGIA.-

La zona endémica de coccidioidomycosis se extiende aproximadamente 40 grados norte, 120 grados W en el norte de California, hasta 40 grados sur, 65 grados W en Argentina, y es mayor su endemidad en el suroeste de Estados Unidos y en las regiones fronterizas del norte de México.

Es netamente endémica en el sur del Valle de San Joaquín en California.

Entre otras zonas afectadas cabe mencionar la existente a lo largo de la frontera de México en la parte occidental de Texas; central y meridional de Arizona; sur de Nuevo México, sudoeste de Utah y Meridional de Nevada.

Los estudios de intradermorreacción con coccidioidomycosis muestran cifras elevadas en los estados del norte de la República: Sonora, el estado de mayor endemidad; Baja California Norte, Chihuahua y Sinaloa. Hay otras dos regiones endémicas, una que corresponde a la costa del Pacífico que disminuye de norte a sur y la otra central, hasta San Luis Potosí.

Hay una excelente evidencia por endemidad de coccidioidomycosis en Guatemala y Honduras. En El Salvador se han reportado muy pocos casos.

Al sur de América: Venezuela (tiene la más alta incidencia); Paraguay, Argentina, Colombia y Bolivia han reportado esta enfermedad.

Los casos registrados fuera del continente americano incluyen tres en Italia y uno en las Islas Hawaii.

## EPIDEMIOLOGIA.-

Estudios epidemiológicos han demostrado que el hombre adquiere la infección de una fuente exógena de la naturaleza; esto es, contacto con el suelo contaminado por el hongo. Las artrosporas infecciosas del hongo llegan al pulmón por aspiración con el polvo, o penetran en la piel a través de una lesión de la misma. Se ha observado que *Coccidioides immitis* crece en el laboratorio con un amplio espectro de temperatura, pH, y concentración de sales y requiere sólo glucosa y sales de amonio para crecer; nunca se ha establecido en suelos fuera de área endémica, a pesar de la transmisión a otras regiones por animales y fomites infectados.

El hongo desarrolla mejor en suelo rico estéril que en pobre; no pueden aislarse de suelos ricos cultivados e irrigados en zonas endémicas, (es decir es menos probable ser infectado en una granja productiva que en una zona semiárida desértica). Esto sugiere que *Coccidioides immitis* compete pobremente con otros microorganismos en el suelo fértil, como son *Penicillium janthinellum* y *Bacillus subtilis*.

Estos microorganismos crecen bien en temporada de lluvias y con temperaturas moderadas.



Después de las lluvias los suelos de arena fina evaporan agua y se tornan más salinos, inhibiéndose el crecimiento de *B. subtilis* y *Penicillium* por temperaturas de 38 grados centígrados; pero *Coccidioides immitis* continúa su desarrollo a 54 grados centígrados.

Uno de los más interesantes caminos para adquirir *Coccidioidomycosis* es en la exploración arqueológica o antropológica; por el contacto con los fomites contaminados; por inhalar las artrosporas al no manejar adecuadamente -- los medios de cultivo en el laboratorio.

Los casos de *Coccidioidomycosis* que ocurren fuera de las áreas endémicas se atribuyen a transmisión en fomites (como el algodón y las frutas) de los artrosporas, o antecedentes de viajes a las zonas endémicas.

Se sabe de infecciones espontáneas en bovinos, burros, equinos, llamas, porcinos, ovinos, perros, ardillas, conejos, ratas, ratones, chinchillas, monos y gorilas. Los cobayos, ratones blancos y monos son muy susceptibles a la infección experimental. El gato parece ser resistente. El hombre y los animales contraen la infección por el contacto con el suelo contaminado. No existe alguna prueba de propagación directa de hombre a hombre o de animales a hombres.

Las personas que inhalan la artrospora de Coccidioi  
des immitis se infectan y adquieren una respuesta de hiper-  
sensibilidad retardada positiva.

La mitad de las infecciones son benignas y muchas de las -  
otras son sintomáticas pero autolimitadas. Algunos indivi-  
duos tienen un riesgo mayor de desarrollar enfermedad dise-  
minada y luego de una infección primaria; incluyendo ne- -  
gros, filipinos, latinoamericanos e indios americanos; es-  
ta predilección racial puede confirmarse por correlación -  
con marcadores genéticos humanos, como el tipo HLA.

Además de la raza, los varones son cuatro veces más  
susceptibles que las mujeres a padecerla. Personas con in-  
munodeficiencia celular e individuos muy jóvenes o muy vie-  
jos y las mujeres embarazadas son susceptibles a presentar  
enfermedades severas.

La posibilidad de que la embarazada esté propensa a  
la diseminación coccidioidal podría estar relacionada por-  
la supresión de CMI (células mediadas inmunes) y el efecto  
directo a nivel de hormonas elevadas. Generalmente recono-  
cemos que cualquier manifestación inmunosupresiva de la em-  
barazada son relativamente leves. Ciertamente la inmunosu-  
presión no parece ser bastante severa para informar el cur-  
so virulento de Coccidioídomicosis que es encontrada.

En la mujer embarazada podría haber una relación especial entre *Coccidioides immitis* y la hormona ambiental ; porque los hongos son células eucarióticas complejas que en varias circunstancias muestran fabricación, metabolismo o responden a las hormonas sexuales.

Hubo estudios que fueron conducidos para evaluar -- los efectos alcanzados fisiológicamente a nivel de hormonas sexuales selectivas sobre el crecimiento y desarrollo de *Coccidioides immitis* in vitro.

La presencia de 17- $\beta$ -estradiol, progesterona y testosterona parecen ser necesarias para la estimulación del crecimiento de *Coccidioides immitis* y no meramente carbón, nitrógeno o esteroides.

El 17 $\alpha$  - estradiol un estereoisomero dentro de la actividad estrogénica no tuvo crecimiento sobre el hongo . Los esteroides: colesterol, ergosterol inhiben más bien el crecimiento de *Coccidioides immitis*. La estimulación del crecimiento del hongo fue demostrado a una concentración infinitesimal de esteroides sexuales -- (  $10^{-14}$ M 17- $\beta$  - estradiol).

## MANIFESTACIONES CLINICAS.-

Debido a los signos y síntomas que presenta la -- coccidioidomicosis se dividen en:

- Coccidioidomicosis primaria pulmonar.  
no pulmonar.

y

- Coccidioidomicosis progresiva.

Son tan diferentes que es sin duda mejor considerarlas como entidades clínicas distintas, aunque sea el mismo hongo el productor de ambos tipos de infección.

La infección primaria se subdivide además por virtud de -- que su sintomatología depende de la puerta de entrada del hongo.

Coccidioidomicosis pulmonar primaria.- Es generalmente una enfermedad autolimitada y presenta características similares a las de una gripe leve.

La vía usual de infección es el aparato respiratorio; las artrosporas transmitidas por el aire o el polvo -- son inhaladas y algunas llegan a los pulmones.

Cerca del 60% de los individuos infectados permanecen asintomáticos, pero muestran reacción cutánea positiva a coccidioidina unas tres semanas después de la infección.

Los síntomas si es que aparecen, surgen después de un período de incubación de 10 a 14 días y son: fiebre moderada (37.5 a 38°C.) y ligera tos no productiva, escalofríos, sudores nocturnos, anorexia, lumbalgia y cefalea.

Pueden obtenerse pequeñas cantidades de esputo mucopurulento, en ocasiones con estrías de sangre.

Rayos X.- Pueden comprobarse en las placas cinco tipos diferentes de reacciones y más de uno en un solo paciente.

- 1.- Se comprueban a veces tan sólo engrosamientos blandos hiliares vellosos.
- 2.- El hallazgo radiográfico más frecuente corresponde al de una infiltración de tipo neumónico.
- 3.- El hallazgo más característico consiste en la presencia de lesiones nodulares en el parénquima del pulmón.
- 4.- Adenopatía hilar y Mediastínica.
- 5.- Derrames pleurales.

#### Coccidioidomicosis primaria no pulmonar.-

Este tipo de infección primaria es rara si se compara con la infección pulmonar ordinaria.

Casi todas las lesiones cutáneas vistas en pacientes con coccidioidomicosis bien desarrolladas, forman parte de una invasión general del organismo que afecta huesos, tejido subcutáneo y piel.

Sin embargo, existe otro tipo de lesión cutánea que puede representar una infección dérmica primaria atípica o una infección metastática aislada localizada también atípica, en el cual la lesión cutánea crece muy lentamente con el transcurso de los años, sin afectar el estado general del enfermo.

Alrededor de 3 a 5% de los individuos que han tenido tal enfermedad desarrollan de 1 a 2 semanas más tarde reacciones de hipersensibilidad, siendo las más frecuentes lesiones cutáneas (eritema nudoso o eritema multiforme) o síntomas articulares ("reumatismo del desierto") y cura espontáneamente.

Coccidioidomicosis progresiva.- En el enfermo predestinado a padecer la forma maligna de la enfermedad suelen descubrirse signos de diseminación del proceso infeccioso en toda la economía de un período de semanas o meses después del comienzo de la infección primaria.

Se ha informado de algunos casos de coccidioidomicro

sis diseminada después de 5 a 10 años de la infección primaria.

El tipo progresivo de coccidioidomicosis puede terminar mortalmente en pocos meses, o vivir el sujeto un año o más.

Se observa en estos pacientes: fiebre moderada, anorexia intensa, pérdida rápida de peso y fuerzas. Aparece disnea y la cianosis puede ser extrema a medida que aumenta la infiltración pulmonar. Los signos físicos torácicos son: matidez, alteración del murmullo vesicular, estertores inconstantes y variables.

El esputo es mucopurulento y suele contener muchas de las esférulas características del hongo y a veces sangre, si bien este último signo es menos frecuente en Coccidioidomicosis que en Tuberculosis y en algunas de las otras micosis. A medida que progresa la enfermedad puede ocurrir invasión de huesos, articulaciones, piel, tejido subcutáneo, órganos internos, cerebro, SNC y meninges; sin embargo el tubo gastrointestinal es muy resistente a la infección.

Rayos X.- Si persiste la infección pulmonar primaria durante cinco o seis semanas, debe el clínico sospechar la posibilidad de una forma progresiva de la enfermedad.

Por examen radiográfico si aparecen:

- 1.- Consolidación pulmonar progresiva aguda.
- 2.- Infiltración de tipo tuberculoso.
- 3.- En caso de Adenopatía mediastínica de grado intenso.
- 4.- Si se hallan afectados huesos o articulaciones.

Lesión ósea.- Consiste en una área netamente circunscrita de destrucción con escasa reacción o sin ella en el hueso circundante. Son invadidos con más frecuencia costillas, cuerpos vertebrales pequeños, huesos de manos y pies, tubérculos tibiales, olecranon y los ángulos de las escápulas.

En menos de 1% de los individuos infectados se produce una enfermedad granulomatosa progresiva crónica, a menudo mortal a menos que se instituya tratamiento intensivo.

Los pacientes con esta forma de Coccidioidomicosis muestran al parecer algún defecto en su respuesta inmune al hongo lo que permite el crecimiento interrumpido de los microorganismos y la amplia diseminación del proceso infeccioso (Esta Coccidioidomicosis ha sido encontrada recientemente en pacientes inmunocomprometidos). La Coccidioidomicosis debe ser considerada siempre como una posible causa de fiebre en pacientes inmunocomprometidos.



## DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.-

Los productos patológicos son esputo, pus, lavado gástrico, líquido cefalorraquídeo, biopsias y sangre para reacciones serológicas realizándose el análisis mediante :

a) Observación microscópica, b) Cultivo, c) Inoculación a animales, d) Serología, e) Prueba cutánea, y e) Examen hematológico.

Entre las pruebas serológicas que se pueden llevar a cabo son:

a) "La prueba en tubo": La cual es sensible, resulta positiva en el 90% de los pacientes, 2 semanas después de la aparición de los síntomas y desaparece en muchos casos hacia los cuatro meses.

Por ende, una prueba en tubo de precipitinas positivas indica Coccidioidomycosis activa primaria ( o reactivación ).

b) "La prueba de aglutinación con partículas de látex": Utiliza partículas de látex sensibilizadas con coccidioidina calentada a 60°C durante 30 minutos. Aunque se consideren que da resultados comparables a la prueba de aglutinación con látex es más sensible que la precipitación en tubo y da porcentajes superiores de resultados po-

sitivos con sueros de personas con Coccidioidomicosis. --  
Los resultados de esto se obtienen en 4 minutos.

c) "La prueba para anticuerpos fijadores de complemento (FC)": Para Coccidioidina es una poderosa herramienta diagnóstica y pronóstica. Dado que la prueba de fijación de complemento se positiviza más lentamente, con cerca del 8% de reacciones positivas hacia el final de la primera semana y 90% al finalizar el tercer mes, la mayor parte de los anticuerpos han desaparecido para el sexto a octavo mes (es la que persiste más tiempo).

La presencia de anticuerpos fijadores de complemento (IgG) puede reflejar o bien infección activa o el estado de recuperación. El título de FC se correlaciona con la severidad de la infección.

Una situación excepcional está dada por la meningitis por coccidioides en la cual sólo la mitad de los pacientes presentan un título de 1:32 o mayor.

Muchos pacientes con Coccidioidomicosis secundaria presentan un título de 1:16 o mayor mientras que los títulos 1:2 y 1:4 son indicadores de Coccidioidomicosis iniciales residuales o meníngeas.

No obstante se ha obtenido de pacientes sin Coccidiodioidomycosis sueros con tales títulos. Es por tanto evidente que cuando se obtengan títulos bajos el diagnóstico debe basarse en pruebas serológicas posteriores y preferentemente en estudios clínicos y micológicos.

Son útiles las muestras múltiples de suero, ya que un cambio en el título de FC refleja el pronóstico con la recuperación, el título de FC disminuye y eventualmente desaparece. Una serología negativa no excluye un diagnóstico de Coccidiodioidomycosis.

En infecciones primarias asintomáticas y leves son negativas las pruebas de precipitina y fijación de complemento.

En caso de infección primaria grave, la prueba de precipitina se torna positiva, pero casi siempre se negativiza al cabo de pocos meses (por curación).

d) "La prueba de Inmunodifusión": La finalidad de todas las técnicas de inmunodifusión es identificar la reacción de precipitación.

Aunque la formación de complejos antígeno-anticuerpo en un medio semisólido como el agar, depende de electrolitos amortiguadores, pH y temperatura, los determinantes

más importantes de la reacción son las concentraciones relativas de Antígeno (Ag) y Anticuerpo (Ac).

Cuando se tiene la proporción óptima del antígeno - al anticuerpo, los enlaces cruzados son extensos formándose grandes complejos insolubles, que se reconocen como pre cipitado visible.

Cuando la proporción del antígeno y el anticuerpo - es tal, que se combina todo el Ag con el Ac en los complejos insolubles, apareciendo el precipitado en la solución, se dice que hay equivalencia entre Ag y Ac.

En cambio cuando la proporción del Ag y el Ac se al tera de modo que hay exceso del uno y del otro, la solu - ción contiene por lo menos algunos complejos solubles, cuyas partículas son suficientemente pequeñas como para permitir que permanezcan en suspensión coloidal.

En tales condiciones, no ocurre una combinación cr u zada significativa. Por consiguiente, los complejos no re sultan bastante grandes para formar un precipitado.

I.- Únicas: El Ag o el Ac permanece fijo y el otro reactivo se mueve y se acopla a él.

Las reacciones de Immunodifusión pueden clasificarse en:

5

II.- Dobles: Ambos reactivos están libres para moverse uno hacia el otro y - - precipitan.

El movimiento en cualquier forma de inmunodifusión puede ser lineal o radial.

### 1.- "Difusión radial única".

Está basada en el principio de que existe una relación cuantitativa entre la cantidad de antígeno colocado en un pozo horadado sobre la placa de agar-anticuerpo y el anillo resultante de precipitación.

Feinberg y más tarde Mancini extendieron esta técnica, como el Ag difunde radialmente y forma un anillo de -- precipitación alrededor del pozo, proporcionando una equivalencia estacionaria.

El diámetro o el área del anillo está relacionado con la concentración del antígeno del pozo.

Se determina una curva patrón con estándares de an-

tfgenos conocidos y la ecuación que describe esta curva -- puede ser usada para la determinación de la concentración del antígeno correspondiente a cualquier tamaño de diámetro. La sensibilidad de estos métodos es del orden de 1-3  $\mu$ g/ml de Ag.

## II.- "Difusión doble en agar":

Esta técnica simple extremadamente útil (también -- llamada análisis de Ouchterlony está basada en el principio de que el antígeno y el anticuerpo se difunde a través de un medio semi-sólido (ej: el agar) y forman complejos - inmunitarios estables que pueden ser analizados visualmente. La prueba se realiza vaciando agar fundido sobre cajas de petri o portaobjetos de vidrios y dejando que se endurezca. Se horadan pequeños pozos en el agar separados - algunos milímetros.

Las muestras que contienen antígenos y anticuerpos se colocan en pozos opuestos y se dejan que se difundan -- una hacia la otra en una cámara húmeda por 18 a 24 horas . Las líneas de precipitación resultantes que presentan complejos antígeno-anticuerpo son analizados visualmente, en luz indirecta con la ayuda de una lupa.

Dicha reacción manifiesta tres tipos de patrones --

básicos: 1) reacción de identidad, 2) reacción de no identidad, 3) reacción de identidad parcial.

La formación de una sola línea de precipitada entre un antígeno y su correspondiente suero puede ser utilizado como una evaluación cualitativa de la pureza del antígeno del anticuerpo.

La inmunodifusión doble en agar también puede ser empleada para el análisis semicuantitativo en los sistemas serológicos humanos. Dicho análisis es efectuado colocando el Ac en un pozo central rodeado circunferencialmente por pozos con antígeno. Las diluciones seriadas de antígeno son colocados en pozos circunvecinos y la aparición de líneas de precipitación puede ser tomada como una medida burda de la concentración del antígeno.

Alternativamente, esta forma de análisis es muy útil para la determinación del título aproximado de precipitación del antisuero por la simple revisión de la localización de antígeno y anticuerpo en el patrón.

## PATOLOGIA.-

Las lesiones de Coccidioidomycosis progresiva son parecidas a las Blastomycosis; existen lesiones cutáneas extensas, bolsas subcutáneas de pus y afección difusa del esqueleto, así como lesiones similares de los órganos internos.

## Biopsia.-

Las lesiones cutáneas: Se caracterizan por abscesos polimorfonucleares o formaciones caseosas en las cuales se observan organismos libres o en gran número en el interior de las células gigantes y en el tejido de granulación vecino.

En los ganglios linfáticos: Puede haber abscesos y nódulos de tejido fibroso con células gigantes, muchas de las cuales contienen parásitos.

Casi todos los organismos son formas sin yemas de tipo Blastomycosis o Paracoccidioidomycosis.

Tales formas tienen una pared gruesa de doble contorno, y el material en el interior de la pared de la célula se tiñe de manera irregular.

En esta etapa del desarrollo el hongo tiende a te--



ñirse más intensamente debajo de la cápsula que los organismos de Blastomycosis.

Se confirma el diagnóstico de Coccidioidomycosis -- por el hallazgo de organismos en plena endosporulación.

En el hueso: Es evidente la necrosis y la formación de abscesos, pero pueden encontrarse en lugar de estas últimas, cavidades llenas de tejido de granulación.

En pulmón: Las lesiones consisten en nódulos relativamente densos o en cavidades, y son más a menudo solitarias que múltiples.

Los métodos histológicos con colorantes a base de hematoxilina y eosina no permiten a veces demostrar la presencia de Coccidioides immitis en los tejidos de biopsia. Procede también recurrir en cada caso a la coloración por el ácido peryódico de Schiff y a la técnica de la metenamina argéntica de Gomori, así como al cultivo de fragmentos de tejido.

Autopsia: Se descubren en la autopsia abscesos subcutáneos y focos en huesos, testículos y meninges.

Los abscesos subcutáneos o las áreas de osteomielitis comunican a menudo con la superficie de la piel por --

medio de las fistulas.

En los pulmones, órganos abdominales y ganglios linfáticos internos pueden comprobarse zonas de necrosis y abscesos, a veces fibrosis y calcificación.

En los pulmones a veces existen cavernas pero no con tanta frecuencia como en tuberculosis.

#### DIAGNOSTICO DIFERENCIAL.-

La Coccidioïdomicosis primaria puede diagnosticarse erróneamente como Resfriado común, Bronquitis, Influenza, Neumonía bronquial o Neumonía atípica primaria de etiología desconocida.

La Coccidioïdomicosis diseminada es completamente comparable a la Tuberculosis, con lesiones en todos los órganos y en el Sistema Nervioso Central; histológicamente estas lesiones son granulomas típicos indistinguibles de los tuberculosos a menos que puedan ser observadas las esférulas en su interior.

Esta Coccidioïdomicosis se debe de diferenciar además de la Tuberculosis, de la Sífilis, Muermo, Tularemia, Osteomielitis bacteriana, Neoplasias y otras micosis especialmente Blastomicosis, Actinomicosis, Criptococosis, Esporotricosis, Histoplasmosis y Micetoma.

### PRONOSTICO.-

El pronóstico es excelente en Coccidioidomicosis -- pulmonar primaria (cura dejando cicatriz) y bueno en los tipos cutáneos y glandular de la infección primaria.

En la forma progresiva diseminada de la enfermedad\_ es muy grave sobre todo en sujetos de color.

La enfermedad es tan voluble en su comportamiento -- que resulta muy difícil la valoración de cualquier tipo de terapéutica.

La meningitis coccidioidal, que en un tiempo era -- siempre una complicación mortal, puede curarse hoy día si se diagnosticara pronto y se instituye terapéutica energética.

## TRATAMIENTO.-

Para la infección primaria y debido a que la mayoría de las personas se recuperan completamente sólo es necesario el tratamiento sintomático y el reposo (permanecer en cama hasta que se normalice su temperatura, número de leucocitos y velocidad de sedimentación). Las lesiones de eritema nodoso y eritema puntiforme, así como las artralgias y las artritis que a menudo acompañan a las infecciones primarias son de índole alérgica y casi siempre muy dolorosas. Levan y Eistein administraron cortisona durante un período de 4 a 6 días, empleando una dosis total de 350 a 775 mg; los resultados clínicos fueron excelentes y no se registró diseminación del proceso infeccioso.

En algún caso, si bien raro, complicado de hemoptisis, puede ser necesario tratamiento quirúrgico, siendo los de elección lobectomía o resección segmentaria.

La inmunidad tisular es excelente, y no ocurre diseminación incluso cuando la pleura esté contaminada con pus que tenga *Coccidioides immitis*.

Antes de dar de alta al sujeto deben de mejorar los signos clínicos y comprobar en las radiografías normalización o aclaramiento de las lesiones.

La Coccidioidomycosis progresiva es muy resistente al tratamiento, el cual nunca ha sido satisfactorio.

La Anfotericina B es la única droga prometedora para Coccidioidomycosis.

En ocasiones se ha obtenido buenos resultados con tabletas de Anfotericina B por vía bucal por lo menos 2 ó 3 gramos; ahora bien, en general no se absorbe suficiente droga por esta vía.

La forma soluble por Squibb para vía intravenosa conocida como Fungizona es la preparación preferible, y se ha inyectado directamente en las lesiones con magníficos resultados temporales.

La anfotericina intratecal debe ser suministrada -- cuando el Sistema Nervioso Central se encuentra involucrado.

Algunos pacientes refractarios a la Anfotericina B responden al Miconazol; sin embargo han sido reportadas varias fallas terapéuticas.

Hasta el momento los datos son insuficientes para evaluar el papel de cualquiera de los dos fármacos.

Agentes de intensificación de respuesta inmune (tales como el factor de transferencia), también han sido usados para el tratamiento de Coccidioidomicosis y los resultados están siendo evaluados. Así mismo está llevándose a cabo una gran evaluación clínica sobre una vacuna.

## PROFILAXIS.-

Tan sólo en muy raras circunstancias es transmitida la Coccidioidomycosis por otro medio que no sea la inhalación de esporas transportadas por el aire; por lo tanto el control eficaz depende principalmente:

a) Siembra de césped, instalación de pavimento, empleo de fungicidas (ej: 1-cloro-2-nitropopano) y riego del suelo.

b) Evitar que las personas con un alto riesgo de diseminación (ej. mujeres embarazadas, negros, filipinos, -- etc.) visiten las áreas endémicas.

c) El cultivo de Coccidioides immitis in vitro debe ser realizado por personal experimentado provisto de caperuzas adecuadamente ventiladas.

d) Sin embargo, la transmisión de Coccidioides immitis a los animales de laboratorio es un procedimiento simple y seguro; (para ello debe tratarse el esputo o exudado con penicilina cloramfenicol y centrifugarse; el sedimento se inyecta al cobayo y al ratón. Si Coccidioides immitis\_ está presente, aparecerán en el cobayo anticuerpos fijadores de complemento y en el ratón la enfermedad diseminada; además los testículos y los líquidos hísticos del ratón con--



tendrán las esférulas características con endosporas).

e) No deben colocarse cultivos en cajas de Petri; - es mejor manejarlo en tubo herméticamente cerrado y abrirlo bajo una cubierta de seguridad que proteja a la persona como al medio ambiente; y todas las transferencias se practicarán en un lugar perfectamente ventilado.

f) Se sugiere usar tubos de vacuna con tapón de caucho que puedan vaciarse con jeringa y agujas protegidas - con hule espuma (para evitar la inhalación de la artrospora).

g) Tomar todas las precauciones debidas en campañas de trabajo (arqueológicas, antropológicas, de Ingeniería - en particular) realizados en áreas endémicas.

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS

**SELECCION DE LA MUESTRA.-**

Se recopilaron 120 sueros de pacientes con enfermedades neumopáticas comprendiendo: 60 sueros de Tuberculosis pulmonar, 5 de insuficiencia respiratoria, 10 de asma bronquial, 7 de cáncer broncogénico, 1 de cáncer de pulmón, 3 de bronquitis crónica, 14 de neumonía, 20 de neumonía obstructiva crónica, sin predilección del sexo ni de la edad, en la ciudad de Guadalajara; obtenidas de una institución oficial, cuyos sueros fueron congelados en - - alícuotas para una subsecuente identificación de anticuerpos-anticoccidioidina por los métodos de Inmunodifusión radial y de Ouchterlony.

Dicho método de Inmunodifusión se hizo a la inversa porque en lugar de mezclar el antisuero en el agar, se incorporó el antígeno en el gel, y en el pozo horadado, el -- anticuerpo.

El antígeno se obtuvo concentrado y se diluyó con - 3 ml de PBS (Fosfato buffer salino) guardándose bajo congelación.

El contenido de proteínas totales: 0.401 gramos.

## METODOLOGIA DE INMUNODIFUSION RADIAL A LA INVERSA.

En base a las bibliografias revisadas se hicieron - varias modificaciones y se llevo a cabo lo siguiente:

1. Lavar bien los portaobjetos (de 80 a 60 mm) con agua de la llave, jabón dextrán; se enjuagan con agua destilada y se seca bien de manera que no quede pelusa.

2. Se procede a hacer una capa fina para cubrir el portaobjetos: mezclar 0.25 gramos de agar noble (o purificado) con 25 ml de agua destilada, llevándose a un matraz erlenmeyer para licuar.

Esperar a que enfrije un poco y se vacfa con una pipeta de 5 ml, sólo 2.56 ml. de agar en cada portaobjeto.

3. Se espera un tiempo a que solidifique y enseguida se incuban esas placas por 24 horas.

### "FORMULA DEL PBS" ( FOSFATO BUFFER SALINO )

Fosfato Acido de Sodio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) .....	13.88 gramos
Fosfato Diácido de Sodio ( $\text{Na H}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )....	2.43 gramos
Cloruro de Sodio ( NaCl ) .....	80.0 gramos

Mezclar y añadir agua desmineralizada a 1.0 lt.

4. Después de haber transcurrido 24 horas, se pesa\_ 1.0 gramo de agar noble (o agar purificado).

5. Se licúa con el PBS (con menos de 100 ml de bu-- ffer) concentrado.

6. Enseguida se pasa a un matraz aforado en gel li- quido y se afora a 100 ml con el PBS (llevándose el agar - al 1%) concentrado.

7. Llevar el gel a baño maría aproximadamente a - - 50°C, por 15 min. en un matraz erlenmeyer.

8. Añadir 75  $\mu$ l de antígeno Coccidioidina por cada\_ 50 ml. de agar preparado, mezclar bien, tomar con una pipeta graduada 10 ml. de agar antígeno y colocarlo en el portaobjeto precubierto formando una capa homogénea (esto se debe hacer sobre una mesa firme y recta).

9. Esperar a que solidifique por 15 minutos a tempe\_ ratura ambiente y 5 minutos en el refrigerador.

10. Se perforan 7 pozos de 4 mm de diámetro y dis-- tanciados por 1 cm (hacer de preferencia un molde corta- - dor).

11. Con ayuda de una pipeta pasteur conectada a una\_ bomba vacía de agua, extraer el gel cortado.

12. Enseguida se procede a colocar 13.341 de los sueros problema, en cada pozo horadado con pipeta automática.

13. Se colocan los portaobjetos en cámara húmeda -- (ej: en cajas de plástico en cuya base contengan papel húmedo, permaneciendo cerradas las cajas dentro de una bolsa).

14. Se leen los resultados a las 48 horas, bajo una transmisión de luz oblicua, midiéndose el diámetro del -- área circunscrita por el anillo de precipitación que debe ser proporcional a la concentración de anticuerpos y se -- reportan los diámetros en mm.

## METODOLOGIA DE OUCHTERLONY.

En base a las bibliografías, se siguió el siguiente método:

1. Lavar bien los portaobjetos y licuar 0.25 gramos de agar noble en 25 ml de agua destilada, colocar 2.56 ml del agar en cada portaobjetos, se espera a que solidifique y se colocan en la estufa por 1 día (hasta aquí es el mismo procedimiento que se sigue en Inmunodifusión radial).

2. Se toman 10 ml del PBS concentrado (preparado anteriormente en Inmunodifusión radial), se afora a 100 ml con agua desmineralizada y se mezcla muy bien.

3. Pesar 1 gramo de agar noble o purificado, pasar este polvo a un matraz erlenmeyer y colocar aproximadamente 80 ml del PBS diluido, y enseguida se lleva a licuar.

4. Vaciar el agar líquido a un matraz aforado de 100 ml y aforarlo con el PBS diluido (llevándose el agar al 1% con el PBS diluido) y mezclar muy bien.

5. Se pasa el agar al 1% a un matraz erlenmeyer y se coloca en baño maría aproximadamente a 50°C por 15 minutos.

6. Pasado ese tiempo se colocan 10 ml de agar al 1% en cada portaobjeto precubierto de 80 x 60 mm.

7. Se deja a que solidifique por 15 minutos a temperatura ambiente y se llevan a refrigeración por 5 minutos.

8. Enseguida se perforan 7 pozos (1 pozo central y 6 pozos periféricos) de 4 mm de diámetro y distanciados -- por 1 cm (se puede usar el mismo molde que se empleó en la Inmunodifusión radial); con ayuda de una pipeta pasteur conectada a una bomba de vacío de agua se extrae el gel cortado de manera que quede bien perforado el pozo.

9. A los 6 pozos periféricos se le colocan 13.3  $\mu$ l de cada suero del paciente con una pipeta automática. Se espera a que pasen 45 minutos para que difunda los anticuerpos en el gel.

10. Al término de este tiempo se colocan 13.3  $\mu$ l de antígeno Coccidioidina en el pozo central.

11. Se colocan los portaobjetos en cámara húmeda -- por 2 ó 3 días (cada portaobjeto se coloca en una caja en cuya base tiene papel húmedo y se mantienen cerradas todas las cajas; se meten a una bolsa de plástico que también -- permanece cerrada).

12. Transcurridos dos días se leen los resultados bajo luz oblicua y se reportan los resultados de precipitación con cruces.



CAPITULO IV

RESULTADOS .

Se analizaron 120 sueros con enfermedades neumo $\acute{a}$ ticas, sin predilección del sexo y de la edad, llevándose a cabo por ambas t $\acute{e}$ cnicas y se obtuvieron los siguientes resultados:

ENFERMEDADES NEUMOPATICAS.	T E C N I C A S      D E	
	OUCHTERLONY	INMUNODIFUSION RADIAL (diámetro en cm)
18 sueros que se conside ran positivos:		
1.- Tuberculosis Pulmonar	++++	0.5
2.- C $\acute{a}$ ncer broncog $\acute{e}$ nico	++	0.6
3.- Tuberculosis y Neumonfa	++	0.6
4.- Asma bronquial	++	0.6
5.- Tuberculosis pulmonar	++++	0.7
6.- C $\acute{a}$ ncer broncog $\acute{e}$ nico	++++	0.7
7.- Tuberculosis pulmonar	++	0.7
8.- Neumonfa	++	0.8
9.- Tuberculosis pulmonar	++++	0.8
10.- Insuficiencia respiratoria	+	0.8
11.- Bronquitis cr $\acute{o}$ nica	++	0.9
12.- Neumonfa	+	0.9
13.- Tuberculosis pulmonar	+	1.0
14.- NOC	++	1.0
15.- NOC	+	1.1
16.- Tuberculosis pulmonar	+	1.1

	OUCHTERLONY	I. RADIAL
17.- NOC	+	1.2
18.- Tuberculosis pulmonar	+	1.5
102 sueros que se considera ron negativos:		
10 casos	++++	Neg.
19 casos	+++	Neg.
10 casos	++	Neg.
12 casos	+	Neg.
<u>51 casos</u>	Neg.	Neg.
120 sueros en total		

NOC = Neumonía obstructiva crónica.

TBP = Tuberculosis Pulmonar

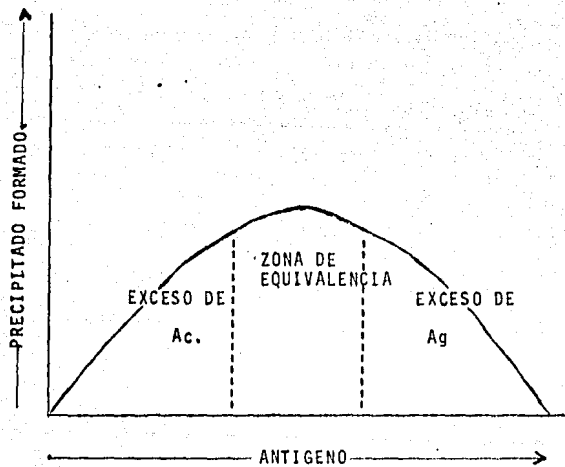
Insuf. Resp. = Insuficiencia Respiratoria

Ca. B = Cáncer Broncogénico.

## INTERPRETACION DE RESULTADOS.

Cruces	Interpretación de Ouchterlony
++++	Hay un precipitado muy fuerte y de un tamaño grande (aproximadamente -- 0.8 cm.)
+++	Precipitado blanco fuerte y de tamaño mediano.
++	Precipitado blanco, débil y de tamaño pequeño.
+	Precipitado blanco muy débil y de tamaño muy pequeño (aproximadamente - 0.5 cm). (Ver figura 1)

Diámetro del halo	Interpretación de I. Radial.
1.5 cm	Existe gran cantidad de anticuerpos anticoccidioides immitis en el suero del paciente.
0.6 cm	Contiene el suero poca cantidad de anticuerpos anticoccidioides immitis, los cuales reaccionaron con la <u>coccidioidina</u> . (Ver la figura 1).



CURVA DE PRECIPITACION.

(FIGURA 1)

## INTERPRETACION DE AMBAS TECNICAS CORRELACIONADAS.-

4 cruces (++++), con halo de 0.5 a 0.8 cm de diámetro indica: en la prueba de Ouchterlony que hay equivalencia de antígenos y anticuerpos; los enlaces cruzados son extensos formándose grandes complejos insolubles que se presentan como precipitados visibles; los halos transparentes de la inmunodifusión radial indican que todos los anticuerpos presentes en cada suero reaccionaron con el antígeno necesario manifestando diversos tamaños, teniendo en cuenta que el diámetro del halo es proporcional a la concentración de anticuerpos en el pozo así como a la concentración del antígeno en el agar.

2 cruces ( ++ ), con halo de 0.6 a 1.0 cm: en la prueba de Ouchterlony las dos cruces indican una precipitación parcial manifestándonos un fenómeno de prozona cercano a la zona de equivalencia. Al compararlo con el tamaño de los halos de inmunodifusión nos da una idea de que existe un exceso de anticuerpos, porque si fuera exceso de antígenos (en Ouchterlony) no habría halo transparente de Inmunodifusión radial y viendo el diámetro del halo nos da una idea del contenido de anticuerpos en el suero.

1 cruz ( + ), con halo de 0.8 a 1.5 cm: en Ouchterlony la precipitación apenas se distingue; también se en-

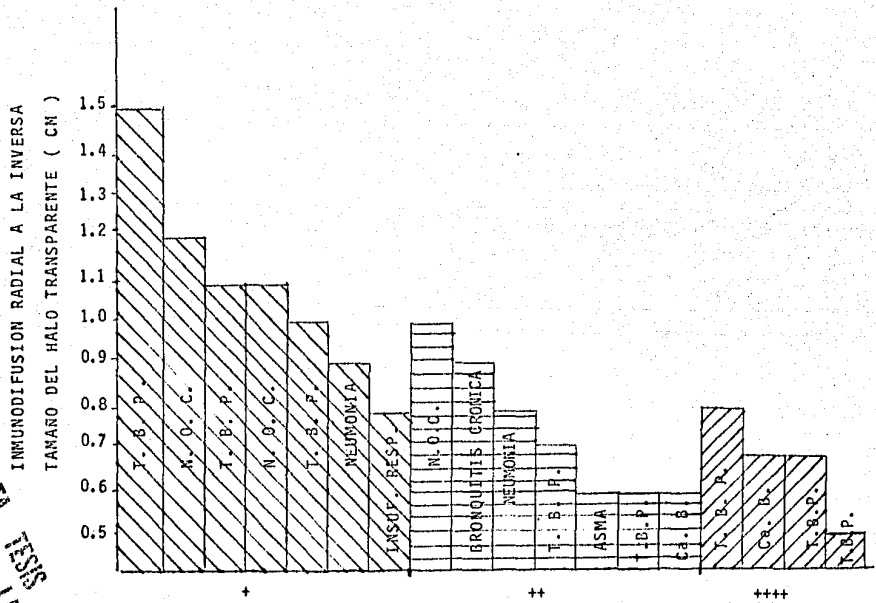
cuentra el fenómeno de prozona menos cercano a la zona de equivalencia; hay un exceso de anticuerpo para la prueba de Ouchterlony, los pocos antígenos reaccionan con los anticuerpos; en la Inmunodifusión radial tiene más antígeno de manera que reacciona con todo el anticuerpo presente, manifestándose claramente en el halo transparente.

3 y 4 cruces ( +++ y ++++ ) con Inmunodifusión radial Negativa: en el precipitado de Ouchterlony nos manifiesta zona de equivalencia de antígenos y de anticuerpos. Aquí nos encontramos con cantidades mínimas de anticuerpos que reaccionan con cantidades mínimas de antígeno y en la Inmunodifusión radial hay exceso de antígeno.

1 y 2 cruces ( + y ++ ) con Inmunodifusión radial - Negativa: en ambas técnicas nos indican exceso de antígeno por lo que la cantidad de anticuerpos es casi nula.

Negativo en Ouchterlony con Inmunodifusión radial - Negativa: hay ausencia por completo de anticuerpos anticoccidoides immitis en el suero del paciente. (Ver figuras 1 y 2).

SALIR DE ESTA TESIS NO DEBE SER DE LA BIBLIOTECA



(FIGURA 2) PRECIPITACION POR CRUCES EN OUCHTERLONY.

GRAFICA QUE CORRELACIONA LAS DOS TECNICAS EMPLEADAS MANIFESTANDO LOS ANTICUERPOS QUE PRESENTARON LOS 18 SUEROS POSITIVOS.



CAPITULO V

C O N C L U S I O N E S

Los resultados fueron satisfactorios (18 sueros positivos) por tratarse de un estado como Jalisco en el cual la *Coccidioides immitis* es poco endémica. Esto indica que los enfermos estuvieron en contacto con la artrospora de *Coccidioides immitis* y desarrollaron anticuerpos; sin embargo cuando se presentan factores predisponentes (ej: inmunodeficiencia celular, etc.) puede ocasionar enfermedades severas, por lo que es conveniente no pasar por desapercibido esta enfermedad por no ser una zona muy endémica.

Es aconsejable hacer un diagnóstico diferencial por estas dos técnicas de difusión en gel (Ouchterlony e Inmunodifusión radial a la inversa), confirmándolos con las otras pruebas del laboratorio que fueron mencionadas anteriormente para evitar un diagnóstico erróneo y poder administrar un tratamiento adecuado.

Se logró conseguir por medio de una institución oficial un suero de referencia de un paciente con *Coccidioidomycosis* (proveniente de Puerto Vallarta donde realizaba trabajos de albañilería); se practicaron los dos métodos de difusión en gel con dicho suero y el resultado de la prueba de Ouchterlony fue de dos cruces ( ++ ), mientras que la prueba de Inmunodifusión radial a la inversa fue negativa; esto se debe a que el paciente padeció una *Coccidioidomycosis* primaria no pulmonar leve, y por haber evolu

cionado más de tres meses la enfermedad se encuentran muy pocos, casi ausentes los anticuerpos-anticoccidioides immitis para estas pruebas de inmunodifusión.

Al llevar a cabo la Inmunodifusión radial a la inversa (en los sueros de pacientes con neumopatías), se obtuvo una zona circunferencial transparente muy visible con ausencia de un precipitado alrededor del halo; la causa de esta inhibición del precipitado podría analizarse con estudios subsecuentes, pero esto no le quita validez en el diagnóstico de la reacción antígeno-anticuerpo.

Sin embargo se llevó a cabo el método de Ouchterlony donde se pudieron observar halos de precipitación identificando también la reacción de antígeno-anticuerpo.

Estas pruebas de Ouchterlony e Inmunodifusión radial a la inversa ofrecen al laboratorio clínico una identificación rápida, una especialidad y sensibilidad inherente, además resulta económica y fácil de realizar con la gran ventaja de no correr el riesgo en el manipuleo de cultivos de Coccidioides immitis por lo que son unas pruebas serológicas extremadamente útiles.

CAPITULO VI

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alvarado, F.J., Peñalosa, J.L.: COCCIDIOIDOMICOSIS DISSEMINADA CRONICA EN NIÑOS: PRESENTACION DE TRES CASOS, *Infectología* 2 (1983) pags: 65-69.
- 2.- Dickson, E.C.: COCCIDIOIDOMYCOSIS, THE PRELIMINARY - ACUTE INFECTION WITH FUNGUS COCCIDIOIDES. *Jama*, 1938 - 111 1362.
- 3.- Drutz, D.J., Catanzaro, A.: COCCIDIOIDOMYCOSIS, AMERICAN REVIEW OF RESPIRATORY DISEASE, Vol. 117 (1978) - pags: 559-569, 727-771.
- 4.- Drutz, D.J., Huppert, M.: COCCIDIOIDOMYCOSIS: FACTORS AFFECTING THE HOST-PARASITE INTERACTION. *The Journal of Infectious diseases*, Vol. 147 No. 3, March 1983, -- pags: 372-389.
- 5.- Edward, J.E.: COCCIDIOIDOMICOSIS. *El Mundo Médico*. -- Vol. X, No. 112, Julio 1983, pag: 10 y 11.
- 6.- Johnson, J.E., Perry, J.E., Fekety, F.R., Kadull, F.J., Cluff, L.E.: LABORATORY ACQUIRED COCCIDIOIDOMYCOSIS. - *Ann Intern. Med.*, 1964, 60, 941.
- 7.- Verduzco, E. y Portales, A.: CARACTERISTICAS CLINICAS Y EPIDEMIOLOGICAS DE LA COCCIDIOIDOMICOSIS EN LA COMUNIDAD LAGUNERA. *Rev. Sal. Publ. (Mex.)* 7: 397, 1965.

- 8.- Burdon, K.L. y Williams, R.P.: MICROBIOLOGIA, edición  
1era. Editorial Publicación Cultural, 1971, México, -  
pag: 695.
- 9.- Conant, N.F., Smith, D.T., Baker, R.D., Callaway, J.,  
L.: MICOLOGIA, tercera edición, México, Editorial In-  
teramericana, 1972, pags: 134-169.
- 10.- Davis, B.D., Dubelcco, R., Eisen, H.N., Ginsberg, H.S.,  
Wood, W.B.: TRATADO DE MICROBIOLOGIA, edición 2da, --  
México, Editorial Salvat 1978, pags: 1013-1016.
- 11.- Divo, A.: MICROBIOLOGIA MEDICA, edición 2da, Edito-  
rial Interamericana, México, 1971, pags: 362 y 363.
- 12.- Freeman, B.A.: TRATADO DE MICROBIOLOGIA DE BURROWS, -  
edición 21a, México, Editorial Interamericana 1983, -  
pags: 712, 757-761.
- 13.- Fudenberg, H.H., Stites, D.P., Cal Well, J.L., Vivian  
Wells, J.: MANUAL DE INMUNOLOGIA CLINICA, edición - -  
2da, México, Editorial El Manual Moderno 1980, pags:-  
377-381.
- 14.- Garvey, J. S., Cremer, N.E., Sussdorf, D.H.: METHOD --  
AND INMUNOLOGY, third edition, London, Inc. Advanced\_  
Book Program, 1977, pags: 313-321.

- 15.- Gordon, B.L.: LO ESENCIAL DE LA INMUNOLOGIA, edición\_ 2da, México, Editorial El Manual Moderno 1975, pags:- 50-54.
- 16.- Hudson, L., Hay, F.C.: PRACTICAL INMUNOLOGY, OXFORD : BLACKWELL SCIENTIFIC, edición 2da, 1980, pags. 113 - 119.
- 17.- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A.: MANUAL DE MICROBIOLOGIA MEDICA, edición 6a, México, Editorial - El Manual Moderno 1975, pags: 316 y 317.
- 18.- Joklik, W.K., Willett, H.P., Amos, D.B.: ZINSSER MICRO BIOLOGIA, edición 17a, México, Editorial Médica Pana-mericana 1983, pags: 1248-1254.
- 19.- Myrvik, Q.N., Pearsall, N.N., Weiser, R.S.: BACTERIO-LOGIA Y MICOLOGIA MEDICA, edición primera, México, -- Editorial Interamericana 1977, pags: 439-442.
- 20.- Thompson, R.A.: TECHNIQUES IN CLINICAL INMUNOLOGY, -- edition 1a, Oxford, Editorial Blackwell Scientific -- Publications, 1977, pags: 5-9.