

24
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EVALUACION DE LA PATOGENICIDAD DE
Nocardia spp AISLADA DE SUELOS EN
RATONES CD-1

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A ;
MA. ELENA CAMARGO AGUIRRE

FALLA DE ORIGEN

1991



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.

LISTA DE CUADROS

Cuadro

- 1 Agentes etiológicos del micetoma humano y de otros animales
- 2 Color de los granos de los diferentes agentes etiológicos del micetoma, observados en secciones de tejido
- 3 Clasificación taxonómica de algunos agentes etiológicos - causantes de eumicetoma
- 4 Clasificación taxonómica de los principales géneros causantes de actinomictoma
- 5 Características generales de los principales géneros de - Actinomicetos causantes de micetoma
- 6 Algunos criterios de identificación para Actinomicetales causantes de micetoma
- 7 Algunos criterios de identificación para hongos causantes de micetoma
- 8 Características bioquímicas de los Actinomicetales causantes de micetoma
- 9 Características bioquímicas de algunos hongos causantes - de micetoma
- 10 Determinación de las cepas de Actinomicetos aisladas de - suelos
- 11 Determinación de las cepas de Actinomicetos aisladas de - pacientes
- 12 Clave, procedencia y especie de las cepas de Nocardia utilizadas
- 13 Valoración clínica y número de individuos afectados por - la inoculación en almohadilla plantar con Nocardia spp -- aisladas de suelos
- 14 Características clínicas generales de los ratones inoculados en almohadilla plantar con Nocardia spp aisladas de suelos
- 15 Valoración clínica y número de individuos afectados por - la inoculación en almohadilla plantar con Nocardia spp -- aisladas de pacientes

LISTA DE GRAFICAS

Gráfica

- 1 Porcentaje de órganos afectados con la inoculación intraperitoneal de Nocardia spp aisladas de suelos
- 2 Porcentaje de órganos afectados (más de uno) con la inoculación intraperitoneal de Nocardia spp aisladas de pacientes
- 3 Número de cepas de Nocardia spp aisladas de suelos y de pacientes con estudio histopatológico positivo a granos (almohadilla plantar)
- 4 Número de cepas de Nocardia spp aisladas de suelos y de pacientes con subcultivo positivo (almohadilla plantar)

CONTENIDO

1.0	INTRODUCCION	1
1.1	Definición	1
1.2	Antecedentes históricos	2
1.3	Etiología	4
1.3.1	Clasificación taxonómica	5
1.3.2	Morfología y Ciclo de vida	5
1.3.3	Fisiología y Bioquímica	7
1.3.4	Ecología	7
1.4	Epidemiología	8
1.4.1	Mecanismo de infección	8
1.4.2	Frecuencia y Distribución geográfica	9
1.4.3	Incidencia diferencial	10
1.5	Clinica y Patogenia	12
1.5.1	Histopatología	14
1.5.2	Inmunología	15
1.6	Diagnóstico	15
1.7	Tratamiento	17
2.0	OBJETIVOS	19
3.0	HIPOTESIS	20
4.0	MATERIAL Y METODO	
4.1	Aislamiento de las cepas	21
4.1.1	Procedencia	21
4.1.2	Colecta	21
4.1.3	Aislamiento	21
4.1.4	Determinación	22
4.2	Pruebas de patogenicidad	24
4.2.1	Preparación del inóculo	24
4.2.2	Inoculación experimental	24
4.2.3	Registro de datos	25

5.0 RESULTADOS

5.1	Aislamiento y Determinación de las cepas	27
5.2	Pruebas de patogenicidad	27
5.2.1	Observación macroscópica de los órganos ...	27
5.2.2	Estudios histopatológicos	31
5.2.3	Subcultivos	32
6.0	COMENTARIOS	33
7.0	CONCLUSIONES	37
8.0	BIBLIOGRAFIA	39

1.0 INTRODUCCION

Es por todos conocido que el ambiente influye directamente sobre los organismos en los más distintos aspectos. En el caso del hombre, es evidente que la ruptura del equilibrio ecológico repercute de manera importante en la salud del individuo.

Existe un gran número de enfermedades infecciosas, causadas por bacterias, virus, parásitos y hongos, y es con respecto a éstos últimos organismos, que varios micólogos médicos han estudiado la frecuencia de las micosis en diversas partes del mundo, pues a menudo no se conocen cifras exactas ni relativas y debido a esto, sólo se tiene una idea de la importancia de éste tipo de afecciones humanas.

El micetoma es una enfermedad que puede ser causada por bacterias (actinomicetoma) o por hongos (eumicetoma). En México, debido a las condiciones geográficas y socioeconómicas que prevalecen, el micetoma está considerado como una de las micosis o pseudomicosis (según el agente causal) de tipo subcutáneo más frecuentes.

Existen diversos estudios clínicos, en los cuales se ha investigado la frecuencia de éste padecimiento; sin embargo, hay pocos reportes referentes a la etiología y patogenia de la enfermedad.

El presente trabajo dará a conocer algunos datos epidemiológicos, en cuanto a la frecuencia de aislamiento de actinomicetos del género Nocardia, a partir de suelos y la correlación con su patogenicidad.

1.1 Definición

El micetoma es un síndrome de localización, indoloro, deformante; la enfermedad resulta de la implantación tisular traumática de los

organismos causantes, que normalmente habitan en el suelo. Las lesiones, que son de tipo tumoral, se componen de abscesos supurativos, granulomas y fístulas con presencia de gránulos o granos. La triada: tumefacción, fístulas y gránulos es usada en sentido restrictivo para definir el término micetoma (11,17).

Las lesiones se localizan usualmente en pies y con menor frecuencia en dorso, hombros, glúteos o cualquier otro sitio. Los tejidos implicados son: piel, tejido subcutáneo, fascia muscular y hueso; las lesiones contienen granulomas y abscesos, los cuales supuran y drenan a través de fístulas. El pus contiene granos, los cuales varían desde microscópicos hasta de 2 mm. de diámetro. Tamaño, color, forma, textura del gránulo y dimensiones de los filamentos o hifas, varían según la especie del actinomiceto u hongo y, algunas veces sugiere la etiología específica (Cuadro # 2) (40).

1.2 Antecedentes históricos

No hay registros que nos permitan conocer la frecuencia de las micosis profundas en México antes del siglo XX; sin embargo, la primera comunicación mexicana que se conoce acerca de una micosis profunda, se refiere a micetoma, descrita por Cícero en 1912 (27).

A continuación se anotan algunos de los datos históricos más sobresalientes en cuanto al estudio de los micetomas:

- 1842 Mc Gill reporta por primera vez la enfermedad en Madura, India y la designa como "Pie de Madura" (40).
- 1846 Colebrook revisa el caso anterior y lo confirma como una nueva entidad clínica (40).
- 1860 Carter Van Dyke introduce el término micetoma y lo describe como tumores causados por hongos (7).
- 1871 Bristowe analiza microscópicamente los granos y describe -- dos tipos: los de filamentos gruesos y los de filamentos --

- finos (40).
- 1892 Kanthack y 1894 Vincent, tratan de definir la enfermedad -- (20).
- 1905 Brumpt describe algunas de las diferentes especies de hongos causantes de micetoma (4,5).
- Langeran agrega a la lista de agentes etiológicos a Nocardia spp y Actinomyces spp (9).
- 1912 Cicero, en México, dá a conocer los primeros cinco casos de micetoma (27).
- 1913 Pinoy sugiere dividir en dos grupos a los agentes causales (38).
- 1914 Ocaranza dá a conocer cuatro casos de micetoma, en un periodo de tres años en el estado de Sonora, México (40).
- 1916 Chalmers y Acchibal redefinen a los micetomas según el tipo de agente etiológico (8).
- 1921 Boyd y Crutchfield en E.U.A. observan que de 32 casos de micetoma en Norteamérica, 19 pertenecen a México y sugieren el nombre de Actinomyces mexicanus para el agente etiológico (40).
- 1921 Latapí hace la recopilación de 100 casos estudiados en el Distrito Federal, México (40).
- 1942 González-Ochoa reclasifica a Actinomyces mexicanus como Nocardia brasiliensis (40).
- 1946 Se presentan los primeros casos estudiados en el Hospital General de México, S.S.A. (35).
- 1947 Latapí obtiene buenos resultados en cuanto al tratamiento del padecimiento (40).
- 1949 Lavalie dá a conocer un caso de micetoma en mano causado -- por Streptomyces sp (40).
- 1961 González-Ochoa aisla Nocardia brasiliensis y N. asteroides de suelos en donde se cultiva caña de azúcar en el estado de Morelos, México (40).
- 1963 Mariat investiga y concluye que en la República Mexicana se encuentra el mayor índice de actinomycetomas (31).

- 1965 Fukushima reporta el primer caso de micetoma en Japón (40).
- 1966 Lavalle hace un estudio epidemiológico de 61 casos y reporta que la ocupación más afectada es la de los agricultores y que el grupo de edad más susceptible es entre 21 y 40 --- años (40).
- 1968 Kurup aísla diferentes especies de Nocardia a partir de sueros de la India (40).
- 1969 Avram hace un estudio retrospectivo en 12 años y reporta 24 casos de micetoma (40).
- 1971 Conti-Díaz relaciona la termotolerancia con la patogenicidad en cepas aisladas de fuentes naturales (40).
- 1972 Mejorada aísla Nocardia brasiliensis de suelos de diversos lugares de México (34).
- 1978 Aceves estudia 140 casos de micetoma en Guadalajara, Jalisco, México, de los cuales el 90% fueron causados por Nocardia brasiliensis (40).
- 1987 López-Martínez hace un estudio retrospectivo de 28 años, -- multicéntrico, de la frecuencia de micetomas, reportando un total de 2,250 casos en México y lo señala como el segundo país del mundo en cuanto a frecuencia (24).

1.3 Etiología

El elemento más característico del micetoma es el grano. Este grano es en realidad una colonia de hongos o de actinomicetos que se han desarrollado en tejido y que, generalmente son eliminados por fístulas (44).

Los granos son blancos, amarillos, rosados, rojos o negros, dependiendo de la especie del agente etiológico. El tamaño y la consistencia también varía con la especie del hongo o de la bacteria; y en algunos micetomas, el examen microscópico de los granos (inclusive sin cultivar) permite a los micólogos experimentados identificar a las especies de hongos (11).

A pesar de las similitudes clínicas, los micetomas pueden ser causados por cualquiera de los organismos anotados en el cuadro # 1.

En México, los agentes etiológicos más comunes causantes de micetoma son: Nocardia brasiliensis (Castellani et Chalmers, 1913) y --- Actinomadura madurae (Lechevalier, 1970) (27).

1.3.1 Clasificación taxonómica

Los principales hongos causantes de eumicetoma, se encuentran clasificados dentro del Reino Fungi en las Clases Ascomycotina y/o -- Deuteromycotina (Cuadro # 3), mientras que los actinomicetales causantes del actinomicetoma, se encuentran clasificados dentro del -- Reino Monera en el Orden Actinomycetales (Cuadro # 4).

1.3.2 Morfología y Ciclo de vida

Los agentes etiológicos del actinomicetoma, se caracterizan por -- ser bacterias aerobias, que crecen en forma filamentososa y ramificada (13,14,15,16,17,40). La característica más distintiva de los actinomicetales es la producción de filamentos cenocíticos (sin septos transversales) parecidos a los que se encuentran en algunos -- hongos verdaderos; sin embargo, éstos filamentos tienen un diámetro inferior al de los hongos, normalmente no mayor de 1.5 μ .

Su reproducción se realiza por fragmentación, gemación o bien por escisión (42). Los filamentos más finos pueden fragmentarse, originando formas bacilares (alargadas o cocoides). El tiempo en que -- ocurre la fragmentación varía de acuerdo con la especie, siendo éste lo que determina los diferentes tipos de colonias (Cuadro # 5). Así, los filamentos que tienden a romperse tempranamente, las colonias serán blandas o mucoides, mientras que aquellos filamentos -- que se rompen después de varios días, forman un micelio ramificado y por lo tanto, desarrollan colonias de una textura y consistencia

duras (11).

Estos microorganismos tienen una estructura celular procariótica - típica, ya que carecen de membrana nuclear, mitocondrias y retículo endoplásmico rugoso. El material nuclear consiste en fibrillas finas que están usualmente situadas en la región central de las células y con menor frecuencia presentan otras estructuras de polifosfatos. Las paredes celulares de algunas especies, contienen ácido murámico y ácido diamino-pimélico. Son sensibles a las lisozimas y a los agentes antibacterianos como la penicilina, tetraciclinas y sulfamidas (11,40).

La determinación de los géneros suele basarse en sus características tintoriales y morfológicas (Cuadro # 6) y para la identificación de especie, se apoya en las características bioquímicas o fisiológicas de los microorganismos (Cuadro # 8) (9,43,45).

En el caso de los micetomas eumicóticos, presentan mayor diversidad en cuanto a los agentes etiológicos; los hongos causantes de eumicetoma, son de tipo filamentosos y pueden ser tanto hialinos como dematiáceos; pueden carecer de fase sexual o bien, ser hongos perfectos; por lo que, la descripción de cada uno de ellos es muy particular a nivel de género y especie (Cuadro # 7).

Sin embargo, en términos generales, los hongos que generan al micetoma poseen una estructura celular eucariótica clásica (presencia de organelos y núcleo). En cuanto a la composición química y estructural de la pared celular, las diferentes especies difieren en su organización estructural, pero en general, la pared está compuesta de una matriz amorfa constituida por mananos y glucanas (polímeros de manosa y glucosa), en la cual se encuentran embebidas fibrillas cuyo principal constituyente es la quitina (polímero lineal de N-acetil-glucosamina) (41).

En cuanto a su reproducción, los hongos que lo hacen sexualmente, es a través de ascas y ascosporas, por lo que se les llama Ascomi-
cetos; pero los que carecen de reproducción sexual se clasifican -
como Deuteromicetos, porque su reproducción es a través de diferen-
tes formas conidiales.

1.3.3 Fisiología y Bioquímica

Debido a la gran similitud morfológica entre algunas de las espe-
cies de actinomicetales, para una clasificación más certera, fre-
cuentemente se recurre a pruebas bioquímicas, en donde se pone de
manifiesto la capacidad de asimilación o descomposición sobre un -
sustrato determinado. Existe una gran cantidad de pruebas bioquími-
cas; en el cuadro # 8 se encuentran anotadas las más usuales para
el reconocimiento e identificación de los principales agentes del
micetoma (3,9,29,43,45).

El caso contrario sucede con los hongos, los cuales suelen clasi-
ficarse en base a la morfología que presentan, más que por pruebas
bioquímicas; sin embargo, aunque menos utilizadas, no dejan de ser
específicas. En el cuadro # 9, se anotan algunas de las pruebas --
bioquímicas usadas para la identificación de agentes productores -
de eumicetoma (11,36,40,41).

1.3.4 Ecología

La mayoría de los agentes causantes de eumicetoma son fitopatóge-
nos o saprófitos, pues residen principalmente sobre desechos vege-
tales, espinas o astillas y es a través de la abrasión con éstos -
materiales, que se permite la entrada por la dermis para su poste-
rior implantación (11,27,40).

Como en el caso de la esporotricosis, existen evidencias de las -
diferencias inherentes entre aislamientos de suelos y la hábili-

dad para producir infección, por ejemplo, las cepas de Exophiala jeanselmei (Mc Ginnis et Padhyé, 1977) aisladas de suelos, son incapaces de crecer a una temperatura por arriba de 30°C, mientras que de aislamientos humanos crecen rápidamente a temperaturas elevadas. La termotolerancia es un factor primordial para determinar el potencial de patogenicidad (40); como sucede en otras micosis, el hombre actúa como un agente selectivo para cepas, las cuales pueden adaptarse rápidamente al ambiente interno y a las defensas de los tejidos vivos (11,40).

Existen factores ecológicos muy importantes que influyen en la distribución geográfica de los micetomas por especies determinadas -- (27). Aunque el micetoma es raro o esporádico en la mayor parte -- del mundo, esto no indica que esté correlacionado con la ausencia del agente etiológico en esas áreas. Notablemente Scedosporium --- apiospermum (Castellani et Chalmers, 1919) se presenta con frecuencia en Norte y Este Central de E.U.A. y Canadá, pero los casos de micetoma son raros en esas zonas (11,40). En nuestro país, también se han aislado diversos actinomicetales productores de micetoma, a partir de suelos, en mucho mayor frecuencia que los casos de micetoma registrados (13,14,15,17).

1.4 Epidemiología

Existen varios estudios referentes a la epidemiología de los micetomas, y todos ellos indican que es un padecimiento que se presenta en las regiones situadas entre los dos trópicos y con clima tropical y subtropical (27,29,30,32). La incidencia de la enfermedad es alta en áreas rurales, donde la exposición al suelo, ocupación, salud y hábitos, pueden ser factores que contribuyan (40).

1.4.1 Mecanismo de infección

El micetoma no es contagioso y el hombre es infectado accidental--

mente cuando sufre algún traumatismo y se implantan subcutáneamente astillas, espinas ó tierra, que pueden ser el habitat natural de algunos de los agentes etiológicos (11,16,17,32). El traumatismo dá la puerta de entrada a los organismos que se desarrollan en el tejido celular subcutáneo creando una lesión crónica de evolución muy lenta. Para que la lesión progrese, deberán existir diferentes factores: estado de la piel, salud general del individuo, hipersensibilidad previa por inoculaciones anteriores que curaron y las características de la lesión subcutánea y traumática que por lo general, ha sido insuficientemente tratada (27).

1.4.2 Frecuencia y Distribución geográfica

El clima juega un papel importante en la distribución geográfica de los micetomas, sea directamente favoreciendo los factores de crecimiento de los actinomicetales en el suelo, o indirectamente, favoreciendo el crecimiento de arbustos espinosos que predominan en las zonas endémicas de los micetomas eumicósicos (44).

La frecuencia de los micetomas varía mucho de una región a otra. Existe un cinturón mundial situado entre el Trópico de Cáncer y el Ecuador, aproximadamente entre las latitudes 15° Sur y 30° Norte y es en los países que cruza dicho cinturón, en donde la frecuencia de micetomas es mucho más elevada (35). El micetoma en otras áreas geográficas, aunque también es conocido, es raro o esporádico (11, 30,32).

La región del mundo en donde los micetomas son más frecuentes, es en Africa (23,27,30,32). En India, donde la enfermedad se describió por vez primera, tiene una frecuencia más baja, aunque sigue siendo un padecimiento importante. Los casos son comunmente vistos en países de América Central y áreas adyacentes (11,40,41). México es un área de alta endemicidad, comparable con los países de mayor frecuencia donde el micetoma es una enfermedad significativa (24).

Abbott estudió en Sudán a 1,231 pacientes en sólo dos años y medio sin tomar en cuenta a aquellos que se encontraron fuera de atención médica (40). En 1964, Lynch descubrió en la misma región, va rios cientos de casos más; sin embargo, esta afección no se ha reconocido más que en una veintena de casos en la República del Congo (44). Por otro lado, los autores franceses han enfatizado la alta endemicidad del micetoma en el cinturón transafricano extendido desde el Oeste de Senegal, Mauritania, Chad y Nigeria a través de Algeria y Sudán hasta la costa de Somalia (40). En 1963, Mariat publicó una casuística mundial, en la cual se notaba desde entonces que México se encontraba entre los países en los que había mayor frecuencia de micetoma. En la actualidad, el país que tiene registrado el mayor número de casos es Sudán y que según Lavalle, es un país que tiene grandes semejanzas con México como por ejemplo: los dos países se encuentran entre 14° y 33° de latitud Norte y están transectados por el Trópico de Cáncer, tienen climas similares ya que la época de lluvias que va de junio a octubre, es seguida de una época de frío que va de octubre a marzo y por último se presenta una época de calor seco, sin precipitación pluvial alguna, de marzo a junio. La cantidad de precipitación pluvial anual, también coincide, la cual varía de 50 a 500 mm³ (40).

En una encuesta realizada en 1967 por Mariat, se descubrió que los micetomas de tipo eumicótico son más frecuentes en Africa, mientras que los micetomas actinomicóticos se presentan con mayor frecuencia en América. En nuestro país la especie más común responsable de micetoma es Nocardia brasiliensis (27).

1.4.3 Incidencia diferencial

En regiones de alta endemicidad, hay razón para creer que además de la exposición a un traumatismo, una nutrición inadecuada, higie ne deficiente y un mal estado de salud general, son factores que determinan la incidencia de la enfermedad; de hecho, se ha observa

do que la ocupación y la salud pueden ser considerados como factores de predisposición para la infección (40). En cuanto a las características diferenciales se encuentran:

- Sexo.- El micetoma se reporta con mayor frecuencia en el sexo -- masculino, lo cual puede explicarse por varias razones: a) la re-- nuencia de las mujeres, en alta frecuencia, para dirigirse al mé-- dico; b) el alto grado de exposición del hombre por cuestiones la-- borales y, c) no puede descartarse la influencia hormonal o genéti-- ca que haga más resistente a la mujer (35).

- Edad.- Ningún grupo de edad está exento, pero la mayoría de los casos reportados es en jóvenes adultos, entre los 20 y 45 años, -- época en que el hombre es más activo y por lo tanto, se expone al agente causal y a la infección. En los extremos de la vida, la fre-- cuencia disminuye. La edad en que se inicia el padecimineto es im-- portante, pues en los pacientes que lo padecen en la niñez, al lle-- gar a la pubertad se agrava el cuadro clínico, lo mismo ocurre en las mujeres que se embarazan y, durante la gestación las lesiones se exacerban (35).

- Raza.- Todas las razas son susceptibles. La raza no es un factor significativo, excepto por lo relacionado a la residencia geográfi-- ca y exposición al agente etiológico (11).

- Ocupación.- Ocurre más frecuentemente en personas con activida-- des en áreas rurales y de tipo agrícola, como por ejemplo los cam-- pesinos, en las cuales el individuo se encuentra más expuesto a -- que le penetren astillas o espinas que le provoquen heridas, que -- con facilidad se contaminan con tierra (11).

- Localización topográfica.- El micetoma puede afectar cualquier parte del cuerpo, pero las extremidades inferiores son las mayor-- mente afectadas, siendo el pie la localización más frecuente debi--

do a su proximidad con el suelo. El hábito de andar descalzo o de usar zapato abierto, favorecen los traumatismos y la infección. En México, la segunda localización importante es el tronco, debido a la costumbre de cargar sobre la espalda o de abrazar bultos de diversos vegetales (35).

1.5 Clinica y Patogenia

Los micetomas a pesar de sus diversas etiologías, caen dentro de un tipo clínico general. Las variaciones en el síndrome están relacionadas con el agente etiológico, localización anatómica, duración de la lesión, manejo médico previo y el estado general de salud del paciente (11). En casos sin complicación hay poco o ningún dolor, fiebre y linfadenopatía (40). La evolución de este padecimiento es muy crónica (27). La enfermedad comunmente permanece localizada, aunque puede extenderse lentamente a tejidos contiguos, produciendo deformación y deshabilidad severas en todo un miembro o, alcanzar extensiones más importantes (27).

Hay evidencias de que después de la implantación, el organismo puede permanecer quiescente por algún tiempo y posiblemente requiere de otro desafío del área o tiempo para adaptarse al hospedero (40); es por eso que el traumatismo, por medio del cual se inoculan partículas contaminadas, toma un tiempo no conocido en producir la lesión inicial y, en muchas ocasiones, el antecedente traumático ha sido olvidado por el paciente (27). La mayoría de los casos registrados, muestran daño previo en la región involucrada y la aparición de los síntomas ocurre después de varios años (40).

Las lesiones se extienden profundamente dentro de los tejidos subcutáneos, parcialmente a lo largo de la fascia (11), o pueden llegar a los ganglios linfáticos y por contigüidad o a través de los vasos linfáticos seguir su camino (27); la diseminación hematogena es rara (40).

La lesión primaria es invasiva localmente, indolora, se presentan abscesos y fibrosis subcutánea masiva, la cual dá una apariencia semejante a un proceso tumoral, de consistencia dura del área, la cual lentamente se alarga (40) y evoluciona a la formación de un pequeño goma que toma cierto tiempo en fistulizarse; algunas veces las pequeñas lesiones nodulares (tumorações) no se abren al exterior sino tardíamente y, el pus que sale por las fístulas es escaso (27). Si no son diagnosticados y tratados a tiempo éstos micetomas iniciales o micromicetomas, continúan aumentando de volumen -- hasta llegar a producir deformidad de la región y dolor. Cuando la superficie es observada, se localizan numerosas prominencias, cada una de ellas conteniendo el orificio de una fístula (40). Las lesiones se extienden profundamente dentro de los tejidos subcutáneos invadiendo tejido conectivo, ligamentos, eventualmente hueso, pero tendones, músculo y tejido nervioso, son pasados por alto, -- aunque algunos actinomictetos regularmente penetran tejido muscular (40). Si el micetoma se encuentra cerca de grandes cavidades corporales, también puede invadirlas (27).

Con la mayoría de los agentes etiológicos, es rara la infección a vísceras, aunque el aislamiento de Scedosporium apiospermum con -- granos típicos obtenidos de pulmón, ha sido reportado (40). En micetomas de piel cabelluda, particularmente aquellos causados por Madurella mycetomatis (Brumpt, 1905), si el paciente no ha recurrido a cuidados médicos tempranos, puede ocurrir un rápido curso fatal en pocas semanas o meses con lesiones osteolíticas tempranas -- en cabeza (11). Las lesiones intraosteales, más que las periosteales, pueden indicar que la enfermedad está diseminando. Cuando la enfermedad se encuentra en glúteos, pecho o tronco, particularmente con Nocardia brasiliensis, hay tendencia a una rápida y amplia diseminación (40).

Los tejidos abscedados supuran y drenan a través de múltiples fístulas y en algunos casos puede coexistir una infección bacteriana

agregada, pero los tejidos profundos están remarcadamente libres de bacterias agregadas. Una fístula puede permanecer abierta por meses o, puede cerrarse y reabrirse o ser reemplazada por fístulas nuevas; la descarga puede ser sanguínea, seropurulenta o purulenta (11).

Cuando existe drenaje, la secreción contiene numerosas partículas pequeñas o granos que varían en tamaño (300 μ a 5 mm.) y su presencia sirve para diferenciar a ésta enfermedad de otras parecidas -- (pseudomicetomas). Como enfatizó Zaías y col., la triada: tumefacción, formación de fístulas y granos, es necesaria para el diagnóstico del micetoma (40), e inclusive el aspecto clínico ha sido considerado por algunos autores, acostumbrados a éstos procesos patológicos, como muy orientador al tipo etiológico de los mismos -- (27).

1.5.1 Histopatología

Como se ha visto en secciones de tejido, los agentes causales son granos, más que elementos individuales de hongos o bacterias. Si no hay granos formados, la lesión no puede ser clasificada como un micetoma. Algunas veces, se necesitan examinar microscópicamente numerosas secciones para encontrar un simple grano (11); en general, alrededor del grano se desarrolla una región de tres zonas: polimorfonucleares, histiocitos y fibrocitos, que tienden a limitar la infección (2,19,21,44). Una descripción más detallada se dá a continuación:

Como ya se ha mencionado, el desarrollo completo del micetoma es crónico, supurativo y con lesiones granulomatosas que destruyen progresivamente los tejidos contiguos; regionalmente hay tumefacción, deformidad y formación múltiple de fístulas que intercomunican abscesos profundos con áreas de piel ulcerada (11,12,26). En el foco supurativo se encuentra el hongo o bacteria, en forma de -

granos característicos, los cuales están compuestos por colonias -- (6,17,18,46); entre éstas y los tejidos circunvecinos del hospedero hay una reacción inflamatoria y supurativa, la cual puede estar --- acompañada por una reacción de tipo epitelioides y de células gigantes multinucleadas (1,25,43). Los granos están embebidos y rodeados por un material eosinófilo homogéneo y algún material hialino cuya naturaleza exacta se desconoce; éste material, puede ser una sustancia proteica creada por la reacción del hospedero, más que una porción integral del agente etiológico, pero puede contener componentes antigénicos del microorganismo (11,27,40).

En algunas ocasiones puede haber dificultad para distinguir los granos, pero generalmente, éstos se presentan en forma compacta y característicamente tienen una matriz similar a cemento y una cubierta exterior de material eosinófilo, que en el caso de algunos actinomicetos, forman extensiones radiales o arreglos en racimo (11,22,33), a los cuales se les ha denominado "clavas" (27,41).

1.5.2 Inmunología

Aunque los agentes etiológicos del micetoma, tienen una amplia distribución mundial, el número de casos humanos parece probar un alto grado de resistencia natural del hospedero y un bajo grado de patogenicidad de los organismos. La enfermedad no se ha asociado con debilidades subyacentes. Si algún factor predisponente es considerado, éste o éstos podrían ser: mal estado general de salud, desnutrición exposiciones repetidas e higiene personal (11,40).

1.6 Diagnóstico

La presentación clínica del padecimiento es por sí misma muy --- orientadora para diagnosticarlo; sin embargo, el papel que juega el análisis de laboratorio es muy importante, ya sea para corrobó

rar o descartar el diagnóstico clínico o bien, para establecer la etiología correcta y en consecuencia, instaurar el tratamiento adecuado para el paciente.

El exámen directo del pus, revela la presencia de los granos, lo cual es diagnóstico. La experiencia del investigador para examinar tamaño, forma, color y consistencia de los granos, y conociendo el tipo de micetoma común en determinada área geográfica, frecuentemente pueden identificar con certeza "razonable" la especie del agente etiológico (11,40,41). Aunque la morfología y el color de los granos son de ayuda para el diagnóstico etiológico, varias especies pueden presentar granos similares y es por ésto, que se recomienda clasificar al organismo con estudios posteriores más específicos (3,9,27,40,43).

El primer paso es efectuar el exámen microscópico directo, de los exudados del paciente, para ello basta poner entre porta y cubreobjetos el pus o los granos con una gota de hidróxido de potasio (KOH) al 15%, dejando aclarar la preparación durante 10 minutos, para posteriormente observarla al microscopio (11,27), y de ésta forma por la naturaleza de los granos, se podrá hacer la diferencia entre micetoma actinomicótico del eumicótico y, en las manos de un micólogo experimentado, un diagnóstico presuntivo del agente causal (40,41).

Por otro lado, los mismos productos biológicos del paciente, deberán cultivarse. Los agentes del micetoma crecen relativamente rápido (10 a 15 días) a una temperatura de 25 a 28°C. El medio de cultivo más utilizado es Sabouraud-dextrosa-agar con ó sin antibióticos (cloranfenicol y ciclohexamida), aunque algunos actinomicetales crecen más rápido en agar-Lowestein. Las características morfológicas macro y microscópicas de las colonias, la afinidad tintoreal observada en un frotis así como la histopatología, servirán como indicadores de la identificación del agente causal; pe

ro si alguna duda quedara, será necesario recurrir a las pruebas bioquímicas para su determinación específica (11,40).

Además del aislamiento y la identificación, existen otros métodos como son, los estudios de gabinete, que pueden ayudar al diagnóstico de la enfermedad; la radiología, angiografía, termografía, etc., son de gran utilidad para diagnosticar el ataque a profundidad y reconocer la participación ósea o la localización de un micetoma que no produce fistulización y granos al exterior (11,27). En los rayos X, el micetoma puede mostrar necrosis, osteoporosis generalizada y alguna fusión de huesos pequeños. Pueden estar presentes áreas de hipertrofia osteal y lisis, así como largas muescas de las lesiones ocupadas por abundantes granos (40,41).

Por último, el uso de las reacciones serológicas es de poca utilidad; se han efectuado diversos estudios para obtener antígenos adecuados, que sirvan para efectuar pruebas serológicas confiables; sin embargo, no hay que perder de vista, que los agentes etiológicos del micetoma son muchos y muy variados, por lo que se ha pensado en la posibilidad de elaborar un antígeno polivalente (27,40). En realidad, no hay procedimientos serológicos establecidos para el diagnóstico o pronóstico del micetoma, puesto que algunas investigaciones realizadas por González-Ochoa (16,17,18), Bojalil (37), Maghoub (28), han demostrado que no hay correlación entre los títulos de anticuerpos y la duración, severidad o extensión de la enfermedad (10).

1.7 Tratamiento

Es necesario que el tratamiento sea vigoroso y prolongado, pues sólo de esa manera se asegurará que la dosis adecuada del medicamento esté presente en el tejido involucrado. Para los micetomas actinomicóticos, las drogas de elección son aquellos derivados de las sulfamidas y la diaminodifenilsulfona.

El esquema que ha mostrado mayor efectividad es la asociación de sulfametoxazol-trimetoprim 400 mg. con dehidroestreptomicina 1 g. por día por 15 ó 20 días y continuar después con 500 mg. diarios de sulfametoxipiridazina. (Comunicación verbal Dr. López, M.R.).

En el caso de los micetomas eumicóticos, se han ensayado diversos agentes antifúngicos (anfotericina B, griseofulvina, nistatina, - etc.), pero ninguno ha mostrado tan buenos resultados como la terapia instaurada para los actinomicetales. La intervención quirúrgica incluye la exploración y el drenaje de las fistulas, desechos de tejido enfermo y extracción de los quistes de los huesos involucrados. Un tratamiento médico, combinado con el quirúrgico, puede ser recomendado. La cirugía radical y amputación, deben ser considerados únicamente como últimos recursos (11,27,40,41)

C U A D R O # 1
AGENTES ETIOLOGICOS DEL MICETOMA HUMANO
Y DE OTROS ANIMALES

Micetoma Actinomicósico:

Actinomyces israelii
Nocardia asteroides
Nocardia brasiliensis
Nocardia otitidis-cavarum
Actinomadura madurae
Actinomadura pelletieri
Streptomyces somaliensis

Micetoma Eumicósico:

Scedosporium apiospermum
Madurella grisea
Madurella mycetomatis
Leptosphaeria senegaliensis
Exophiala jeanselmei
Neotestudina rosatii
Pyrenochaeta romeroi
Curvularia geniculata

Tomado y modificado de Emmons, Ch. W., et al (11)

C U A D R O # 2

COLOR DE LOS GRANOS DE LOS DIFERENTES AGENTES ETIOLÓGICOS
DEL MICETOMA, OBSERVADOS EN SECCIONES DE TEJIDO

De blanco a amarillo:

Scedosporium apiospermum
Acremonium falciforme
Acremonium recifel
Neotestudina rosatii
Actinomadura madurae
Nocardia asteroides
Nocardia otitidis-cavarum
Nocardia brasiliensis
Actinomyces israelii
Actinomyces bovis

De café a negro:

Madurella mycetomatis
Madurella grisea
Exophiala jeanselmei
Pyrenochaeta romeroi
Leptosphaeria senegalensis
Curvularia geniculata

De rosado a rojo:

Actinomadura pelletieri

C U A D R O # 3

CLASIFICACION TAXONOMICA DE ALGUNOS AGENTES ETIOLOGICOS
CAUSANTES DE MICETOMA

Super-Reino: Eucariota

Reino: Fungi

División: Eumycota

Subdivisión: Ascomycotina

Clase: Loculoascomycetes

Orden: Pleosporales (Dotheliales)

Géneros y especies:

Leptosphaeria sengalensis

Neotestudina rosatii

Orden: Sphaeriales

Género y especie:

Pseudallescheria boydii

Subdivisión: Deuteromycotina

Clase: Hyphomycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Géneros y especies: Madurella spp

Acremonium spp

Familia: Dematiaceae

Géneros y especies: Exophiala jeanselmei

Curvularia geniculata

Familia: Tuberculariaceae

Género y especie: Fusarium spp

Familia: Sphaeropsidaceae

Género y especie: Pyrenochaeta romeroi

Tomado y modificado de Scagel, R.F. et al (42)

C U A D R O # 4
CLASIFICACION TAXONOMICA DE LOS PRINCIPALES GENEROS
CAUSANTES DE ACTINOMICETOMA

Super-Reino: Procariota

Reino: Monera

División: Schizomycophyta

Clase: Schizomycetes

Orden: Actinomycetales

Familia: Actinomycetaceae

Géneros: Actinomyces spp

Nocardia spp

Actinomadura spp

Familia: Streptomycetaceae

Género: Streptomyces spp

Tomado y modificado de Scagel, R.F., et al (42)

C U A D R O # 5

CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS PRINCIPALES GENEROS
DE ACTINOMICETOS CAUSANTES DE MICETOMA

Género	Descripción
<u>Nocardia spp</u>	Gram positivo Débil ácido-alcohol-resistente Aerobio Escaso micelio aéreo Filamentos que fragmentan Colonias secas, lisas o plegadas de color blanco-amarillo a anaranjado
<u>Actinomadura spp</u>	Gram positivo No ácido-alcohol-resistente Aerobio Micelio raro ó abundante Filamentos largos, ramificados y no fragmentados Colonias cerosas, húmedas y brillantes de color blanco a rosado
<u>Streptomyces spp</u>	Gram positivo No ácido-alcohol-resistente Aerobio Micelio aéreo presente Filamentos poco ramificados y microfragmentados Colonias rugosas, vellosas ó húmedas de color crema oscuro al pardo

Tomado y modificado de Rippon, J.W. (40)

C U A D R O # 6
 ALGUNOS CRITERIOS DE IDENTIFICACION PARA ACTINOMICETALES
 CAUSANTES DE MICETOMA

Organismo	Color del grano	Tamaño del grano	Acido-alcohol resistencia	Características de la colonia y temperatura de crecimiento
<u>Nocardia asteroides</u>	Bianco a amarillo	1 mm.	+, variable	Anaranjada o blanca, 46°C
<u>Nocardia brasiliensis</u>	Bianco a amarillo	1 mm.	+, variable	Anaranjada o blanca, no crece a 46°C
<u>Nocardia cillidisi-cavatum</u>	Bianco a amarillo	1 mm.	+, variable	Anaranjada o blanca, puede o no crecer a 46°C
<u>Actinomyadura pelletieri</u>	Rojo oscuro	1 mm.	Negativo	Rojos, gisosos o granulares, 37°C
<u>Actinomyadura madurae</u>	Bianco a rojo	5 mm.	Negativo	Blanca, anaranjado pálido, rosada o roja, Vellosas o gisosas, 37°C
<u>Streptomyces somaliensis</u>	Amarillo a café	2 mm.	Negativo	Crema o negras, de vellosas a gisosas, 30°C

Tomado y modificado de Rippon, J.W. (40)

C U A D R O # 7
 ALGUNOS CRITERIOS DE IDENTIFICACION PARA HONGOS
 CAUSANTES DE MICTOMA

Organismo	Color del grano	Tamaño del grano	Características de la colonia y temperatura de crecimiento
<u>Scedosporium aplosperrum</u>	Bianco a amarillo	2 mm.	Crecimiento rápido, abundante micelio aéreo, 30-37°C
<u>Madurella grisea</u>	Negro	1 mm.	Crecimiento muy lento, dematiacea, 30°C
<u>Madurella mycetomatis</u>	Negro	0.5-1 mm.	Crecimiento muy lento, velludas, 37°C
<u>Acremonium killense</u>	Bianco a amarillo	1.5 mm.	Bianca y gabra, después velludas, 30°C
<u>Exophiala jeanselmei</u>	Negro	0.2-0.3 mm.	Crecimiento lento, dematiacea, 30°C
<u>Leptosphaeria senegalensis</u>	Negro	1 mm.	Crecimiento rápido, velludas
<u>Neocestudina rosatii</u>	Bianco parduzco	0.5-1 mm.	Crecimiento lento, planas, compactas

Tomado y modificado de Rippon, J.W. (40)

C U A D R O # 8
 CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS DE LOS ACTINOMICETALES
 CAUSANTES DE MICTOMA

Especies	Caseína*	Tirosina*	Xantina*	Almidón	Gelatina°	Urea	Arabinosa Xilosa
<u>Nocardia asteroides</u>	-	-	-	x	-	+	-
<u>Nocardia brasiliensis</u>	+	+	-	x	+	+	-
<u>Nocardia otitidis-cavaeum</u>	-	-	-	x	-	+	-
<u>Actinomyadura madurae</u>	+	+	-	+	+	-	+
<u>Actinomyadura pelletieri</u>	+	+	-	x	+	-	-
<u>Streptomyces somaliensis</u>	+	+	-	+	+	-	-

* Hidrolisis

° Crecimiento al 0.4%, a los 10 días

x Algunas cepas son positivas

Tomado y modificado de Rippon, J.W. (40)

CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE ALGUNOS HONGOS
CAUSANTES DE NICETOMA

Especies	Almidón	Gelatina	Glucosa	Galactosa	Lactosa	Maltosa	Sucrosa
<u>Scedosporium apiospermum</u>	+	+	+		o	o	
<u>Madurella grisea</u>	+		+	+	o	+	+
<u>Madurella mycetomatis</u>	+	+	+	+	+	+	o
<u>Acremonium killense</u>	o	+					
<u>Exophiala jeanselmei</u>	+	o	+	+	o	+	+
+	SI asimilan						
o	No asimilan						

Tomado y modificado de Rippon, J.W. (40)

2.0 OBJETIVOS

- Conocer la frecuencia de algunas especies de Nocardia, a partir de actinomicetos aislados de suelos.
- Investigar la patogenicidad y/o virulencia de las cepas aisladas de suelos clasificadas como Nocardia.
- Conocer el daño que producen en el ratón, las cepas de Nocardia aisladas de suelos, de acuerdo a la vía de inoculación.

3.0 HIPOTESIS

- De las cepas aisladas de suelos, el género Nocardia spp, será -- uno de los grupos de actinomicetos más frecuentes.

- Si Nocardia asteroides (Blanchard, 1895), N. brasiliensis (Castellani and Chalmers, 1913) y N. otitidis-cavarum (Snijders, 1924), son microorganismos considerados como patógenos para el hombre y otros mamíferos, entonces, las cepas aisladas de suelos e inoculadas en altas dosis causarán daño en el ratón.

- Puesto que N. asteroides, N. brasiliensis y N. otitidis-cavarum son algunos de los agentes responsables de actinomictomas, las cepas a probar causarán todas las alteraciones que caracterizan a éste síndrome.

- Las cepas de Nocardia spp aisladas de suelos, mostrarán el mismo daño en el ratón que aquellas aisladas de casos clínicos.

4.0 MATERIAL Y METODO

4.1 Aislamiento de las cepas

4.1.1 Procedencia

Se colectaron muestras de suelo de 14 poblaciones del estado de Morelos, México, siendo éstas: Yautepec, Xochitepec, Chinconcuac, Coacalco, Puente de Ixtla, Cuautla, San Isidro, San Miguel Alpuyeca, Ahuetzingo, Fierro del Toro, Tres Marías y Coajomulco, dedicadas todas ellas al cultivo de caña de azúcar principalmente.

El estudio se realizó tomando en cada población 30 muestras distribuidas de la siguiente manera: 5 procedentes de calles, 5 de patios de casa, 5 de caminos y 15 de tierras de cultivo, de tal manera que se colectó un total de 420 muestras.

Por otra parte, se obtuvieron 9 cepas de Nocardia spp provenientes de pacientes con micetoma, facilitadas por el Hospital General de México de la Secretaría de Salud. Dichas cepas correspondieron a los testigos positivos.

4.1.2 Colecta

Para las muestras tomadas de suelos, en cada caso, primero se procedió a quitar la basura del sitio de muestreo, se excavó a una profundidad de 5 cm. con una espátula limpia y se depositaron aproximadamente 500 g. de tierra en bolsas de plástico estéril, se etiquetaron con el nombre de la población y sitio de colecta y se cerraron bien para finalmente ser transportadas al laboratorio.

4.1.3 Aislamiento

Para el aislamiento de actinomicetales, que es uno de los objetivos del presente trabajo, la técnica a seguir fué la referida en trabajos anteriores (34,39): De cada una de las muestras se tomó 1 g. de suelo, diluyéndose en 10 ml. de agua destilada estéril. A partir de esa dilución (1/10), se hicieron tres más (1/100, 1/1,000 y 1/10,000).

De cada dilución se tomó 1 ml. y se sembró homogéneamente sobre placas con Sabouraud-antibióticos (cloranfenicol y ciclohexamida). Se incubaron a 28°C durante 15 días, al cabo de los cuales se separaron para descontaminarlas y corroborar su naturaleza.

De las 420 muestras tomadas de las 14 poblaciones ya mencionadas, se obtuvo un total de 200 colonias que por sus características macroscópicas, fueron sospechosas de ser actinomicetales. Se sembraron en tubos con Sabouraud simple, incubándose nuevamente durante 15 días, después de lo cual se obtuvieron 165 colonias que correspondieron a actinomicetos; las 35 restantes se desecharon, ya que no mostraron datos de morfología compatible con actinomicetales.

De las 165 colonias obtenidas, se tomaron 48 aleatoriamente para determinación de género y especie, el resto se guardó en la micoteca para otros fines de investigación.

4.1.4 Determinación

Se realizó en base a las características macro y microscópicas de las colonias, así como por las características fisiológicas de cada uno de los géneros de importancia médica.

Las técnicas utilizadas para cada una de ellas fueron (34,39):

a) Afinidad tintorial (tinción de Gram, Zielh-Neelsen ó King Young

fucsina).- Se pone de manifiesto la fragmentación y esporulación, así como la ácido-resistencia del microorganismo.

b) Pruebas bioquímicas.- Se analiza el metabolismo de cada una de las cepas aisladas mediante las siguientes pruebas fisiológicas:

- 1) Hidrólisis de la caseína.- Formación de un halo claro alrededor de la colonia.
- 2) Hidrólisis de la gelatina al 12%.- Licuefacción alrededor de la colonia.
- 3) Hidrólisis de la tirosina.- Desaparición de los cristales de tirosina alrededor de la colonia.
- 4) Crecimiento en gelatina al 0.4%.- Desarrollo de colonias en el medio de cultivo.
- 5) Hidrólisis de la xantina.- Desaparición de los cristales alrededor de la colonia.
- 6) Inositol.- Cambio de color de amarillo a rojo debido a la acidez del actinomiceto.
- 7) Manitol.- Cambio de color de amarillo a rojo por la acidez del actinomiceto.

Después de conocer por todos los medios antes mencionados (morfología colonial, afinidad tintoreal y pruebas bioquímicas) el género y la especie de los actinomicetales aislados de suelos, sólo 27 - cepas que fueron determinadas como Nocardia spp se utilizaron para la realización del presente estudio.

Para las cepas procedentes de pacientes, se siguieron los mismos -

procesos de identificación.

4.2 Pruebas de patogenicidad

4.2.1 Preparación del inóculo

Todas las cepas de Nocardia (27 de suelos y 9 de pacientes) fueron sembradas en Sabouraud-dextrosa-agar, incubándolas para su desarrollo durante 21 días a 25°C.

A partir de cada una de las colonias crecidas, se prepararon los inóculos correspondientes, para lo cual se elaboró una suspensión de la colonia (peso húmedo) utilizando como vehículo Cloruro de Sodio 0.85%, obteniendo una concentración final del microorganismo de 100 mg./ml./cepa.

Dada la consistencia dura de las colonias, se utilizaron morteros estériles para macerarlas en el vehículo y, de ésta manera obtener una suspensión homogénea, colocándose posteriormente en tubos de ensaye estériles para su conservación hasta ser utilizadas.

4.2.2 Inoculación experimental

Con cada una de las 36 cepas se inocularon 4 ratones machos, cepa CD-1, de 25 a 30 gr. de peso al inicio del experimento. Dos ratones fueron inoculados por vía intraperitoneal (0.5 ml. de inóculo a cada uno) y los otros dos se inocularon en la almohadilla plantar (0.1 ml. de inóculo a cada uno).

Para llevar a cabo la inoculación intraperitoneal se utilizó una aguja de 22 mm. colocada en una jeringa de 3 ml., la cual se encontraba cargada con la suspensión de la cepa en cuestión.

Para manejar al ratón, se le sostuvo por la cola y al mismo tiempo,

por la piel de detrás del cuello con la cabeza inclinada hacia abajo y para el lado contrario del operador. Se limpió la zona a inocular utilizando torundas impregnadas con alcohol etílico al 70%. La inyección se aplicó en la ingle derecha del animal, entre la piel y los músculos abdominales, teniendo cuidado de no lastimar las vísceras y entonces, se inoculó 0.5 ml. de la suspensión (11).

Para la inoculación subcutánea en almohadilla plantar, se sostuvo al ratón de la misma manera, se limpió la zona de inoculación, sólo que en éste caso como su mismo nombre lo indica, se llevó a cabo en la almohadilla plantar de la extremidad posterior derecha del animal, inyectándose 0.1 ml. del inóculo.

Como testigos negativos, fueron inoculados 32 ratones de las mismas características que los anteriores, pero sólo con Cloruro de Sodio 0.85%; 16 de ellos por vía intraperitoneal y los otros 16 en almohadilla plantar.

De tal manera, se inoculó un total de 176 ratones, de los cuales 108 fueron inoculados con cepas aisladas de suelos, 36 con cepas provenientes de pacientes y 32 con solución salina.

Una vez realizadas las inoculaciones se marcaron a los animales para su identificación, se separaron en jaulas en grupos de 4 (jaula por cepa) anotando la fecha y vía de inoculación así como el número de cepa.

Los ratones se mantuvieron en observación durante 45 días, a lo largo de los cuales se les valoró clínicamente y al término fueron sacrificados.

4.2.3 Registro de datos

Después del sacrificio, a los ratones inoculados por vía intraperi

toneal, se les practicó laparotomía exploradora, con el fin de encontrar en la revisión macroscópica, algún órgano afectado que presentara abscesos, aumento de volúmen ó puntos hemorrágicos con secreción.

Para los ratones inoculados en almohadilla plantar, el grado de lesión obtenido se expresó de la siguiente forma: (-) sin cambios aparentes; (+) para significar lesión localizada, residual o no evolutiva; (++) lesiones localizadas pero evolutivas, es decir cuando presentaban la tendencia a invadir por extensión a los tejidos contiguos y manifestada por edema, eritema, secreción seropurulenta y/o fibrosis; y, (+++) lesiones tanto localizadas como diseminadas a otros tejidos distantes.

Tanto en el caso de las lesiones en almohadilla plantar, así como de los órganos internos, se extirpó el tejido afectado y se dividió en dos partes. Una parte se fijó en una solución de formalina al 10% para proceder a los estudios histopatológicos y, la otra parte, se maceró en morteros estériles con Cloruro de Sodio al 0.85%, se tomó 0.2 ml. y se sembró en Sabouraud-dextrosa-agar en tubo, incubándose a 28°C durante 21 días para la posible obtención de subcultivos.

5.0 RESULTADOS

5.1 Aislamiento y Determinación de las cepas

De las 48 cepas de actinomicetos aislados de suelos, bioquímicamente 27 (56.25%) correspondieron al género Nocardia y 21 (43.75%) a otros géneros del Orden Actinomycetales. De las 27 cepas de Nocardia, 10 correspondieron a la especie asteroides (37.03%), 3 a brasiliensis (11.11%), 6 a otitidis-cavarum (22.22%) y, debido a que el patrón bioquímico no fué el clásico para algunas especies, se registraron 8 cepas de Nocardia sp (29.62%) (Cuadro # 10).

De las 9 cepas de Nocardia aisladas de pacientes con micetoma, 6 correspondieron a N. brasiliensis (66.66%), 2 a N. otitidis-cavarum (22.22%) y 1 a Nocardia sp (11.11%) (Cuadro # 11).

En el cuadro # 12 se muestra la clave, procedencia y especie de cada una de las cepas de Nocardia utilizadas.

5.2 Pruebas de patogenicidad

5.2.1 Observación macroscópica de los órganos

Inoculación intraperitoneal de las cepas aisladas de suelos:

De los 54 animales inoculados intraperitonealmente con las cepas aisladas de suelos, 10 (18.51%) murieron antes de la fecha de término del experimento. La exploración macroscópica (necropsia) de éstos animales, permitió observar que no existían alteraciones en los órganos internos.

Los 44 animales restantes, mostraron decremento en su actividad pero sin otros signos patológicos, aparentemente no existieron alteraciones de otro tipo; sin embargo, al practicárseles la laparoto-

mía exploradora, en algunos de ellos se observaron modificaciones en los tejidos como las siguientes: nodulaciones blanquecinas, hematomas, focos hemorrágicos, necrosis y visceromegalia. Los órganos más afectados fueron: hígado, bazo e intestino; cerebro, pulmón, riñón y corazón, permanecieron normales.

En la gráfica # 1 se encuentra representado el número de individuos que mostraron alteraciones en sus órganos y, como puede observarse, las cepas aisladas de suelos en los casos en que provocaron afección, sólo la produjeron en un tipo de órgano (hígado ó bazo ó intestino).

De los 44 animales sobrevivientes, 19 (35.18%), no tuvieron alteraciones macroscópicas en ninguno de sus órganos internos. El órgano más afectado fué el hígado, lo cual se presentó en 16 animales (29.62%). El segundo órgano blanco fué el bazo, 6 ratones (11.11%) presentaron alteraciones; y, finalmente sólo 3 ratones (5.55%) mostraron modificaciones en intestino (Gráfica # 1).

Las cepas de N. brasiliensis y N. otitidis-cavarum, afectaron en proporción igual (33.33%) al hígado; en orden decreciente. N. asteroides y Nocardia sp lo afectaron en menor proporción: 30.0% y 25.0% respectivamente (Gráfica # 1).

El bazo se vió afectado principalmente, por las cepas de N. otitidis-cavarum (16.66%) y en menor proporción por Nocardia sp y N. asteroides, 12.5% y 10.0% respectivamente.

Las alteraciones en intestino, fueron causadas únicamente por las cepas de N. otitidis-cavarum (25.0%) (Gráfica # 1).

Inoculación intraperitoneal de las cepas aisladas de pacientes:

Los 18 animales inoculados intraperitonealmente con las cepas pro-

venientes de pacientes con micetoma, al igual que con el grupo de experimentación anterior, no mostraron ningún síntoma de la infección hasta el día del sacrificio. Sólo mostraron disminución de su actividad normal e idénticamente al grupo inoculado con cepas de suelos, al practicárseles la laparotomía, se observaron lesiones muy similares (nódulos, hematomas, etc.). A diferencia del grupo de ratones inoculados con cepas aisladas de suelos, todos los animales inoculados con éstas cepas, resultaron afectados; los órganos involucrados fueron: hígado, bazo e intestino (Gráfica # 2), - pero todas las cepas afectaron más de un órgano.

La combinación de órganos afectados, que registró mayor frecuencia fué la de hígado-bazo-intestino (55.55%); la asociación hígado-bazo, se presentó en segundo lugar (33.33%) y por último, la combinación hígado-intestino (11.11%) (Gráfica # 2).

Las afecciones en hígado-bazo e hígado-intestino, fueron causadas únicamente por cepas de N. brasiliensis, 50.0% y 16.66% respectivamente.

Todas las cepas de N. otitidis-cavarum y Nocardia sp, causaron afecciones sólo en la combinación hígado-bazo-intestino (100% en ambos casos) (Gráfica # 2).

Inoculación en almohadilla plantar de las cepas aisladas de suelos:

Por otra parte, de los 54 animales inoculados en almohadilla plantar, con las cepas aisladas de suelos y siguiendo los parámetros de valoración clínica: (-), (+), (++) , (+++), se registraron los datos anotados en el cuadro # 13.

Como puede observarse, sólo 8 ratones (14.81%) no mostraron lesiones evidentes; 22 animales (40.74%) presentaron lesiones localizadas; en menor frecuencia, 8 (33.33%) tuvieron lesiones evolutivas

y, por último, el menor número de los animales, 6 (11.11%) presentaron lesiones muy diseminadas (Cuadro # 13).

La mayor parte de las lesiones (+) fueron causadas por las cepas de N. brasiliensis (83.33%) y, en segunda instancia por las cepas de N. otitidis-cavarum (50.0%) (Cuadro # 13).

Las lesiones (++) estuvieron determinadas principalmente por Nocardia sp (50.0%) y por N. asteroides (30.0%).

Las lesiones (+++) fueron producidas por cepas de N. asteroides y N. otitidis-cavarum (25.0% y 8.33% respectivamente). A pesar de que la mayor parte de N. brasiliensis indujeron lesiones, ninguna progresó hasta la diseminación.

Durante el período de observación se constató que, la mayoría de las lesiones evolucionaron a la enfermedad y que en otras ocasiones, las lesiones involucionaron e incluso se llegó hasta la cura espontánea. En el cuadro # 14, se anotan las observaciones por especies hechas a éste respecto.

Inoculación en almohadilla plantar con cepas aisladas de pacientes:

La valoración clínica de los 18 animales inoculados en almohadilla plantar, con las cepas aisladas de pacientes se muestra en el cuadro # 15.

Todos los animales resultaron con evidentes lesiones clínicas posteriores a la infección. El máximo porcentaje de infección, se encontró en la valoración clínica (+++) en 15 animales (83.33%), e inclusive en muchos de ellos se presentó la amputación espontánea quedando el muñón expuesto (Cuadro # 15).

Dentro de la especie N. brasiliensis, aparentemente había cepas -

de patogenicidad "más tenue", pues fué la única especie en donde se presentaron las lesiones tipo (+) (Cuadro # 15).

5.2.2 Estudios histopatológicos

Inoculación intraperitoneal:

a) Cepas aisladas de suelos

De los ratones inoculados intraperitonealmente con cepas de Nocardia aisladas de suelos, se mandaron al laboratorio de histología los órganos de 25 animales, que mostraron al exámen macroscópico alguna alteración. En ningún caso se observó en los cortes histológicos la presencia de granos. Las imágenes celulares observadas consistieron en: granulomas, constituidos del centro hacia afuera, por neutrófilos y macrófagos, encerrados por un sustrato de fibroblastos; pequeños focos de necrosis central y en la periferia macrófagos y reacciones inflamatorias, las cuales variaron desde una pequeña reacción hasta densos infiltrados de neutrófilos.

b) Cepas aisladas de pacientes:

De los 18 ratones inoculados intraperitonealmente con cepas de Nocardia aisladas de pacientes, sus órganos se mandaron a histopatología y se observaron reacciones tisulares muy semejantes a las de Nocardia de suelos y, al igual que en ellos, tampoco se observaron granos en los tejidos afectados.

Inoculación en almohadilla plantar:

Debido a la gran cantidad de cortes histológicos por ejecutar, en el caso de los animales inoculados en almohadilla plantar, se envió a histopatología sólo la pata de un individuo por cepa. El criterio de selección fué el que presentó las lesiones más evidentes.

Con esto se enviaron 27 patas de ratón inoculados con cepas de sue los y 9 patas de ratón inoculados con cepas aisladas de pacientes.

a) Cepas aisladas de suelos

Los resultados del grupo de inoculaciones en almohadilla plantar -- con Nocardia de suelos, se presentan en la gráfica # 3 y como puede apreciarse, de las 27 cepas de Nocardia sólo 5 de ellas produjeron granos (18.51%), los cuales fueron identificados mediante histopatología.

b) Cepas aisladas de pacientes

Los estudios realizados en las patas de los animales inoculados en almohadilla plantar con cepas de Nocardia aisladas de pacientes, - mostraron histológicamente la presencia de granos en todos los animales (100%) correspondientes a las cepas inoculadas (Gráfica # 3).

5.2.3 Subcultivos

Inoculación intraperitoneal

Todos los subcultivos de los órganos afectados por inoculación intraperitoneal, tanto de cepas aisladas de suelos así como de las - cepas aisladas de pacientes, resultaron negativos.

Inoculación en almohadilla plantar

Los resultados de los subcultivos de los animales inoculados en almohadilla plantar, se encuentran representados en la gráfica # 4. Podemos observar que de las 27 cepas de Nocardia aisladas de suelos, en 12 (44.44%) se obtuvieron los subcultivos. Por otro lado, de las 9 cepas aisladas de pacientes, con todas se obtuvo subcultivo (100%).

C U A D R O # 1 0
 DETERMINACION DE LAS CEPAS DE ACTINOMICETOS
 AISLADAS DE SUELOS

Nombre del Actinomiceto	No. de cepas aisladas	%
<u>Nocardia asteroides</u>	10	20.83
<u>Nocardia brasiliensis</u>	3	6.25
<u>Nocardia otitidis-cavarum</u>	6	12.50
<u>Nocardia</u> sp	8	16.66
Otros Actinomicetos	21	43.75
T O T A L	48	100.00

CUADRO # 11
 DETERMINACION DE LAS CEPAS DE ACTINOMICETOS
 AISLADAS DE PACIENTES

Nombre del Actinomiceto	No. de cepas aisladas	%
<u>Nocardia brasiliensis</u>	6	66.66
<u>Nocardia otitidis-cavarum</u>	2	22.22
<u>Nocardia</u> sp	1	11.11
T O T A L	9	100.00

C U A D R O # 1 2
 CLAVE, PROCEDENCIA Y ESPECIE DE LAS CEPAS
 DE Nocardia UTILIZADAS

No. de cepa	Nombre del microorganismo	Clave de la cepa	Procedencia
01	<u>Nocardia asteroides</u>	Na 445	Suelo
02	" "	Na 244b	"
03	" "	Na 342b	"
04	" "	Na 144a	"
05	" "	Na 346	"
06	" "	Na 144b	"
07	" "	Na 328	"
08	" "	Na 72	"
09	" "	Na 126a	"
10	" "	Na 184b	"
11	<u>Nocardia brasiliensis</u>	Nb 133a	"
12	" "	Nb 42	"
13	" "	Nb 188	"
14	" "	Nb 226-84	Micetoma humano
15	" "	Nb 418-83	" "
16	" "	Nb 359-84	" "
17	" "	Nb 387-82	" "
18	" "	Nb 524-83	" "
19	" "	Nb 53-84	" "
20	<u>Nocardia otitidis-cavarum</u>	Nc 302	Suelo
21	" "	Nc 187	"
22	" "	Nc 327	"
23	" "	Nc 256a	"
24	" "	Nc 290	"
25	" "	Nc 191	"
26	" "	Nc 396-84	Micetoma humano
27	" "	Nc 345-84	" "
28	<u>Nocardia sp</u>	N 123a	Suelo
29	" "	N 123b	"
30	" "	N 146a	"
31	" "	N 58	"
32	" "	N 145	"
33	" "	N 142	"
34	" "	N 195	"
35	" "	N 95a	"
36	" "	N 494-84	Micetoma humano

C U A D R O # 1 3

VALORACION CLINICA Y NUMERO DE INDIVIDUOS AFECTADOS
 POR LA INOCULACION EN ALMOHADILLA PLANTAR CON Nocardia spp AISLADA DE SUELOS

Nombre del Actinomiceto	Total de animales Inoculados	Valoración clínica			
		-	+	++	+++
<u>Nocardia asteroides</u> (10 cepas)	20 (100%)	2 (10%)	7 (35%)	6 (30%)	5 (25%)
<u>Nocardia brasiliensis</u> (3 cepas)	6 (100%)	0 (-)	5 (83.3%)	1 (16.7%)	0 (-)
<u>Nocardia otitidis-caverium</u> (6 cepas)	12 (100%)	2 (16.7%)	6 (50%)	3 (25%)	1 (8.3%)
<u>Nocardia</u> sp (8 cepas)	16 (100%)	4 (25%)	4 (25%)	8 (50%)	0 (-)
T O T A L	54 (100%)	8 (15.0%)	22 (40.7%)	18 (33.3%)	6 (11.1%)

C U A D R O # 1 4

CARACTERISTICAS CLINICAS GENERALES DE LOS RATONES INOCULADOS
EN ALMOHADILLA PLANTAR CON Nocardia spp AISLADAS DE SUELOS

Nombre del Actinomiceto	Evolución de + a ++	Evolución de ++ a +++	Irrolución de +++ a ++	Irrolución de ++ a +
<u>Nocardia asteroides</u>	SP	NP	NP	NP
<u>Nocardia brasiliensis</u>	NP	NP	NP	SP
<u>Nocardia otitidis-cavarum</u>	SP	NP	NP	NP
<u>Nocardia</u> sp	SP	NP	NP	NP

SP = Se presentó

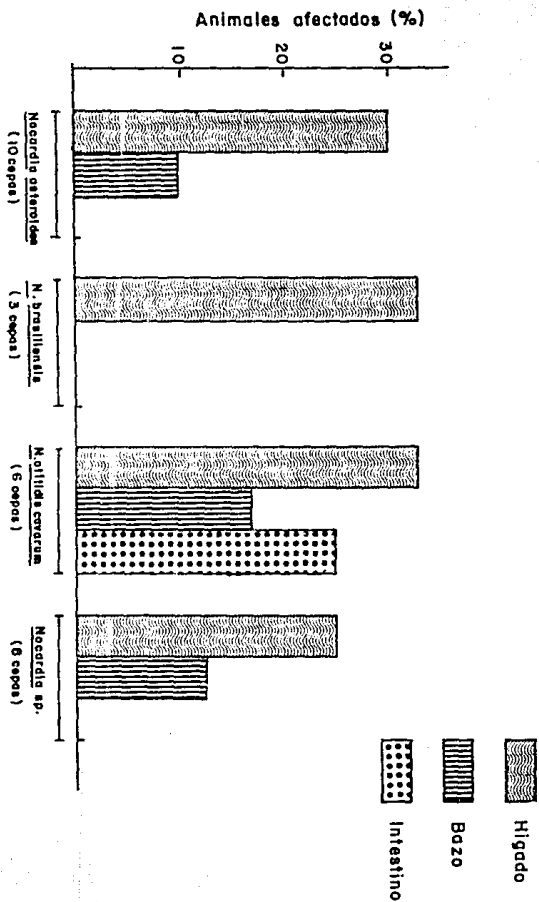
NP = No se presentó

C U A D R O # 1 5

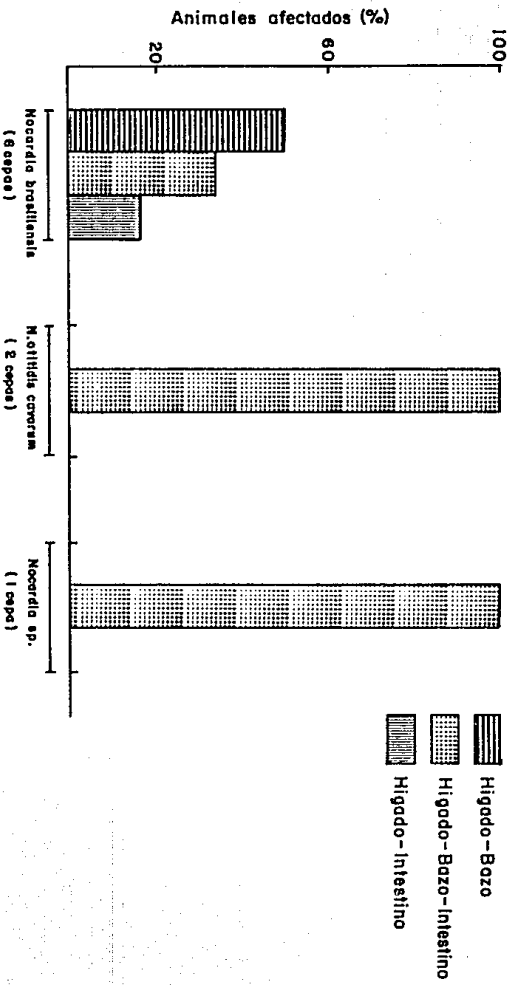
VALORACION CLINICA Y NUMERO DE INDIVIDUOS AFECTADOS
 POR LA INOCULACION EN ALMOHADILLA PLANTAR CON Nocardia spp AISLADAS DE PACIENTES

Nombre del Actinomiceto	Total de animales inoculados	Valoración clínica		
		+	++	+++
<u>Nocardia brasiliensis</u> (6 cepas)	12 (100%)	1 (8.3%)	1 (8.3%)	10 (83.3%)
<u>Nocardia ocellularis-cavatum</u> (2 cepas)	4 (100%)	0 (-)	1 (25%)	3 (75%)
<u>Nocardia</u> sp (1 cepa)	2 (100%)	0 (-)	0 (-)	2 (100%)
T O T A L	18 (100%)	1 (5.6%)	2 (11.1%)	15 (83.3%)

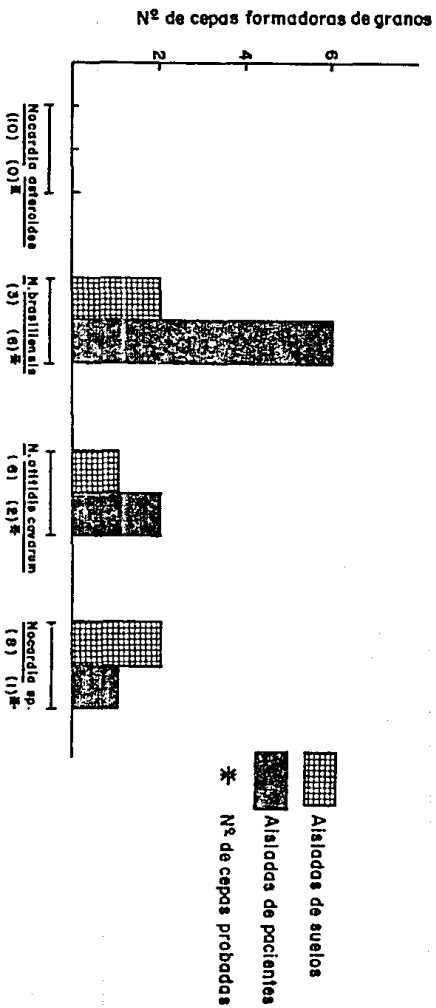
Gráfica 1
 PORCENTAJE DE ORGANOS AFECTADOS CON LA INOCULACION
 INTRAPERITONEAL DE *Nocardia* spp. AISLADAS DE SUELOS.



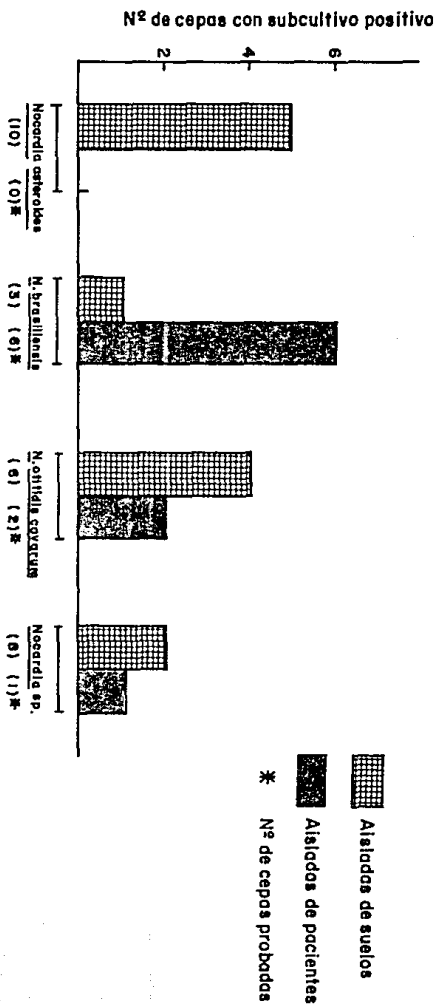
Gráfica 2
 PORCENTAJE DE ORGANOS AFECTADOS (MAS DE UNO) CON LA INOCULACION
 INTRAPERITONEAL DE Nocardia spp. AISLADAS DE PACIENTES.



Gráfica 3
**NUMERO DE CEPAS DE *Nocardia* spp. AISLADAS DE SUELOS Y DE PACIENTES
 CON ESTUDIO HISTOPATOLOGICO POSITIVO A GRANOS
 (ALMOHADILLA PLANTAR)**



Gráfica 4
 NUMERO DE CEPAS DE *Nocardia* spp. AISLADAS DE SUELOS Y DE PACIENTES
 CON SUBCULTIVO POSITIVO (ALMOHADILLA PLANTAR)



6.0 COMENTARIOS

Por referencia bibliográfica (15,17,18), se ha observado que la -- producción de micetoma en ratón puede ser inducida por dos vías:

- 1) Con sensibilización a dosis bajas consecutivas
- 2) Con un sola inoculación a dosis altas

En el presente trabajo se eligió la segunda opción, utilizando una dosis de 100 mg/ml.

Los ratones inoculados por vía intraperitoneal con cepas aisladas de suelos, no mostraron anomalías evidentes. Los hallazgos macroscópicos mostraron de una a tres lesiones en los órganos afectados (solamente uno) y probablemente, algunas ya se encontraban en estado de regresión. Los ratones así inoculados, en general sobrevivieron gozando de buena salud. En este grupo de animales la víscera más afectada fué el hígado (Gráfica # 1).

Los ratones inoculados intraperitonealmente con cepas aisladas de pacientes, tampoco mostraron anomalías evidentes; sin embargo, el número de lesiones que fué de una a cinco en los órganos afectados (más de uno), fué mayor que lo observado en el grupo inoculado con cepas aisladas de suelos (Gráfica # 2).

La inoculación en almohadilla plantar con las cepas de procedencia telúrica, produjo micetoma en 5 de las 27 cepas probadas, de acuerdo al estudio histopatológico (Gráfica # 3). Las 5 cepas correspondieron 2 a N. brasiliensis, 2 a Nocardia sp y 1 a N. otitidis--cavarum. Ninguna cepa de N. asteroides produjo granos ni filamentos (estreptobacilos), ésto quizá esté relacionado con el hecho de considerar a N. asteroides como un organismo de tipo oportunista y nó como patógeno primario (22,26).

La mayor parte de las cepas telúricas fueron patógenas para el ratón, cuando se inocularon en almohadilla plantar, pues de los 54 - animales, 46 presentaron lesiones (Cuadro # 13); pero en cuanto a virulencia, al parecer no depende tanto de la especie, sino del tipo de cepa (6,24,45). Además, también fué observado que el grado de evolución clínica de los animales enfermos (+, ++, +++) no se correlacionó con la presencia y número de granos o la positividad del subcultivo.

Las cepas inoculadas en almohadilla plantar, pero de origen humano, mostraron una patogenicidad y virulencia mucho más alta que las de origen telúrico; además de que en los estudios histopatológicos, - todas fueron productoras de granos.

Una posible explicación de la diferencia en cuanto a patogenicidad y/o virulencia mostrada en general por las cepas de uno u otro origen, podría estar dada por:

a) La poca capacidad de termotolerancia de las cepas - aisladas de suelos. Se ha demostrado que las cepas de actinomicetales termotolerantes (crecen a una temperatura de 37°C ó mayor) son patógenas, a diferencia de las no termotolerantes (6,24,45).

b) La necesidad de un hospedero. Si el microorganismo ha pasado previamente por un hospedero mamífero, es más fácil su adaptación cuando se desafía nuevamente ante condiciones similares (6,24,25,45).

Por otro lado, la ausencia de granos en los ratones inoculados por vía intraperitoneal, puede deberse a que la vía de inoculación óptima para la obtención de éstos, sea la subcutánea; o bien, que -- las cepas no están "adaptadas" o no tienen el "tropismo" hacia determinadas vísceras y debido a ésto, utilizando ésta vía, el micetoma típico no se desarrolla.

Los grados de patogenicidad así como de virulencia de las cepas -- aisladas de suelos, fueron muy variables, por lo que se puede inferir que en la historia natural de los micetomas, algunos pacientes al inocularse con Nocardia, pueden desarrollar la infección y que ésta, involuciona y cura espontáneamente; o quizá, hacerse crónica de forma muy lenta (13,14,27,35).

Las observaciones hechas en otros estudios de epidemiología y patogenicidad, permiten pensar que la implantación del agente etiológico por traumatismo, es la forma de infección; sin embargo, las condiciones biológicas que propician el desarrollo de los micetomas, son mal conocidas. Si suponemos que los agentes del micetoma se encuentran en el suelo en gran cantidad y que, existen innumerables oportunidades de inoculaciones, sobre todo en zonas endémicas de clima tropical, es de notar que los micetomas no se observan tan frecuentemente. En consecuencia, deberán de existir otros factores además de la sensibilización, que desencadenen el desarrollo de la enfermedad.

Existen autores como Mariat, F. (31), quienes apoyan la existencia de cepas de actinomicetos no patógenos que se aíslan de suelos y - que comparten características fisiológicas, morfológicas y tinte-- reales con actinomicetos patógenos. Por eso se recomienda hacer la prueba de patogenicidad en animales de experimentación para corroborar la determinación taxonómica.

La inoculación experimental no es un elemento para la taxonomía, - únicamente confirma que las cepas aisladas de suelos, al ser patógenas para el ratón y compartir las pruebas fisiológicas que coinciden con Nocardia, corresponden a éste género.

En las otras cepas que no muestran patogenicidad, no es posible -- precisar género y especie, ya que para ésto se requerirá de otras pruebas más finas como: estudios bioquímicos completos, pruebas ge

néticas, estudios inmunoquímicos, determinación de peso molecular - de los ácidos nucleicos.

Por último, la frecuencia de alteraciones tisulares macroscópicas tanto en órganos internos como en almohadilla plantar, comparada con la negatividad de granos al estudio histopatológico y subcultivo, podría deberse a que el animal en término de 45 días limita la infección y elimina al agente etiológico sobre todo cuando se inoculara en condiciones naturales.

7.0 CONCLUSIONES

- 1.- Como era de esperarse, el género Nocardia fué uno de los grupos de actinomicetales encontrados con mayor frecuencia en las cepas aisladas de suelos.
- 2.- Ninguna cepa de las estudiadas mostró una alta virulencia como para provocar la muerte a los animales. Aparentemente, las muertes suscitadas durante los primeros 25 días posteriores a la inoculación, se debieron a factores ambientales más que por el efecto de las cepas inoculadas.
- 3.- La mayor parte de las cepas aisladas de suelos, fueron patógenas para el ratón, aunque la virulencia mostrada fué menor que la de las cepas aisladas de pacientes.
- 4.- Las pruebas de inoculación en animales de experimentación, sirven exclusivamente para separar las cepas patógenas de las no patógenas y no para hacer determinaciones taxonómicas, siendo las patógenas las únicas consideradas como agentes del micetoma.
- 5.- Existen diferencias patogénicas, no claramente explicables entre las cepas de origen telúrico y las aisladas de casos humanos. Las primeras demostraron tener una patogenicidad muy variable y relativamente pobre en todos los animales, mientras, que las aisladas de infecciones humanas, lograron producir importantes lesiones en los animales inoculados intraperitonealmente y, en almohadilla plantar se demostró gran cantidad de granos.
- 6.- La mejor prueba parasitoscópica para determinar la patogenicidad a través del hallazgo del microorganismo fué el subcultivo, muy por encima de la histopatología, debido a que la cantidad de tejido utilizado para el proceso del cultivo, es mayor en ~

comparación con la cantidad utilizada para la histopatología; además, en ésta última, se requiere de un gran número de cortes para que la demostración de granos no quede al azar.

- 7.- Por lo expuesto en líneas anteriores, el presente trabajo ha servido para descartar la hipótesis de que, todos los actinomicetales aislados de sustratos naturales y clasificados por medio de pruebas morfológicas, tintoriales y bioquímicas como especies del género Nocardia, deban por lo tanto, ser patógenos para el hombre.
- 8.- La inoculación intraperitoneal no fué mejor que la hecha en al mohadilla plantar en el propósito de la obtención de granos o subcultivos positivos, por lo que se recomienda ésta última vía para estandarizar estudios de patología experimental.
- 9.- Finalmente, hay que señalar que, es importante continuar investigando la frecuencia de Nocardias patógenas de origen telúrico, pero auxiliándose además de los procedimientos seguidos en éste estudio, de otras pruebas taxonómicas para conocer con mayor precisión la distribución de éstos agentes en las zonas endémicas.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

8.0 BIBLIOGRAFIA

- 1.- Beaman, B.L. (1973) An Ultrastructural Analysis of Nocardia During Experimental Infections in Mice. Infec. Immunity 8 (5): 828-840
- 2.- Beaman, B.L., S. Maslan, S. Scates, J. Rosen (1980) Effect of Route of Inoculation on Host Resistance to Nocardia. Infect. - Immunity 28 (1): 185-189
- 3.-Berd, D. (1973) Laboratory Identification of Clinically Important Aerobic Actinomycetes. Appl. Microbiol. 25 (4): 665-681
- 4.- Brumpt, E. (1905) Les Mycétomes Humaines. Compt. Rend. Soc. - Biol. 58: 997-999
- 5.- Brumpt, E. (1906) Les Mycetomes. Arch. Parasitol. 10: 489-512
- 6.- Callegari, L., F. Asconeguy, I.A. Conti-Diaz (1982) Patogenicidad Experimental de Cepas de Nocardia asteroides, N. brasiliensis y N. caviae de Diferentes Procedencias. Sabouraudia 20 (-): 295-302
- 7.- Carter, H.V. (1859-1860) On Mycetoma. Trans. Med. Phys. Soc. of Bombay VI, VII
- 8.- Chalmers, A.J., R.G. Archibal (1916-1917) A Sudanese Maduramycosis. Ann. Trop. Med. 10: 169-214
- 9.- Collins, C.H., H.C. Yates, C. Uttley (1988) Presumptive Identification of Nocardias in a Clinical Laboratory. J. Appl. Bacteriology 65: 55-59
- 10.- Ekizlerian, S.M., S.L. Brandao-Filho, I. Tincani, L.M. Carere

- to-Alves and C.L. Silva (1987) Studies on the Pathogenesis of Actinomycotic Mycetoma in Animals Injected with Fractions Isolated from Nocardia brasiliensis. Br. J. Path. 68: 115-123
- 11.- Emmons, Ch.W., Ch. H. Bonford, J.P. Utz, K.J. Kwon-Chung (1977) Medical Micology. Ed. Lea & Febiger. 3a. Ed. 437-463 pp. Philadelphia, U.S.A.
 - 12.- Folb, P.I., R. Jaffe, G. Altmann (1976) Nocardia asteroides and Nocardia brasiliensis. Infections in Mice. Infection and Immunity. 13 (5): 1490-1496.
 - 13.- González-Ochoa, A. y M.A. Sandoval (1960) Aislamiento de Nocardia brasiliensis y asteroides a Partir de Suelos. Rev. Inst. Salubr. Enfer. Trop. (Mex) 20 (3): 147-151
 - 14.- González-Ochoa, A. (1962) Mycetomas Caused by Nocardia brasiliensis; with a Note on the Isolation of the Causative Organism from Soil. Lab. Invest. (11 Pte. 2): 1118-1123
 - 15.- González-Ochoa, A. (1962) Mycetoma by Nocardia brasiliensis. Isolation of the Agent from Soils. Rev. Inst. Salubr. Enfer. Trop. (Mex) 22 (1 y 2): 15-24
 - 16.- González-Ochoa, A. and M.T. Kumikohojyo (1967) Reproduction of Mycetoma by Nocardia brasiliensis in Mice. V Int. Congr. Chemoth. Vienna, Austria. No. A III-2/9 323-330
 - 17.- González-Ochoa, A. (1969) Producción Experimental del Micetoma por Nocardia brasiliensis en el Ratón. Gac. Med. Mex. 99 (8): 773-781
 - 18.- González-Ochoa, A. (1973) Virulence of Nocardiae. Can. J. Microbiol. 19: 901-904

- 19.- González-Ochoa, A. y M.A. Sandoval (1976) Different Degrees of Morbidity in the White Mouse, Induced by Nocardia brasiliensis, N. asteroides and N. caviae. Sabouraudia. 14: 255-259
- 20.- Kantack, A.A. (1893) Madura Disease (Mycetoma) and Actinomycetes. J. Pathol. 1: 140-162
- 21.- Kurup, P.V. and R.S. Sandhu (1965) Isolation of Nocardia caviae from Soil and its Pathogenicity for Laboratory Animals. J. Bacteriol. 90 (3): 822-823
- 22.- Kurup, P.V., H.S. Randhawa, R.S. Sandhu, S. Abraham (1970) Pathogenicity of Nocardia caviae, N. asteroides and N. brasiliensis. Mycopathologia. 40: 113-130
- 23.-Langeron, M. (1928) Mycetoma a Torula jeanselmei Langeron 1928. Nouveau Type de Mycetome a Grains Noire. Ann. Parasitol. Hum. Com. 6: 385-390
- 24.- López-Martínez, R., L.J. Méndez-Tovar. Epidemiología y Diagnóstico del Micetoma en México. II Simposium Internacional del Micetoma. Taxco, Guerrero, México. 16-20 Octubre, 1987
- 25.- Macotela-Ruiz, E., Mariat et P. Destombes (1963) Aspects Pseudo-fongiques de Résorption Dans des Mycétomes Expérimentaux a Nocardia. Ann. Inst. Pasteur. 104: 538-540
- 26.- Macotela-Ruiz, E., F. Mariat (1963) Sur la Production de Mycétomes Expérimentaux por Nocardia brasiliensis et Nocardia asteroides. Bull Soc. Path. Exot. 1: 46-54
- 27.-Macotela-Ruiz, E. (1979) Desarrollo y Estado Actual de la Micología Médica en México. Simposium SYNTEX. 41-55 pp.

- 28.- Mahgoub, E.S. (1978) Experimental Infection of Athymic Nude -- New Zealand Mice, Nu Nu Strain with Mycetoma Agents. Sabouraudia 16: 211-216
- 29.- Mariat, F. (1962) Criteres de Determination des Principales Especies d'actinomyces Aerobies Pathogenes. Ann. Soc. Belge Med. Trop. 4: 651-672
- 30.- Mariat, F. (1963) Sur la Distribution Géographique et la Répartition des Agentes de Mycétomes. Bull. Soc. Path. Exot. -----
56: 35-45
- 31.- Mariat, F. (1964) Saprophytic and Parasitic Morphology of Pathogenic Fungi. XIV Symp. Soc. Gen. Microbiol. 85 p.
- 32.- Mariat, F., P. Destombes, G. Segretain (1977) The Mycetomas: - Clinical Features, Pathology, Etiology and Epidemiology. Contr. Microbiol. Immun. 4 : 1-39
- 33.- Mason, K.N., B.M. Hathaway, B. Ala (1969) A Study of Nocardia asteroides. Arch. Path. 87: 389-392
- 34.-Mejorada-Barragán, A. (1972) Aislamiento de Nocardia brasiliensis de Diversos Tipos de Tierra. Tesis de licenciatura. Q.F.B. Esc. Ciencias Químicas. Univ. Mich. de San Nicolás Hgo.
- 35.- Méndez-Tovar, L.J. (1987) Estudio de Factores Patogénicos y -- Epidemiológicos del Micetoma en México. Tesis de Maestría en -- Ciencias Biomédicas. Fac. de Medicina. U.N.A.M.
- 36.- Murray, I.G., T.C. Spooner & J. Walker (1960) Experimental Infection of Mice with Madurella mycetomi. Trans. Soc. Trop. -- Med. Hyg. 54 (4): 335-341

- 37.- Ortíz-Ortíz, L., M.F. Contreras and L.F. Bojalil (1972) Cytoplasmic Antigens from Nocardia Eliciting a Specific Delayed - Hipersensitivity. Infect.Immun. 5 (6): 879-882
- 38.- Pinoy, E. (1913) Actinomycoses et Mycetomes. Bull. Inst. Pasteur. 11: 977-984
- 39.- Quirarte, A., M. Casatmijana, R. López (1982) Aislamiento de - Nocardia a Partir de Suelos del Estado de Morelos. I Congreso Nal. de Micol. Soc. Mex. de Micol. Jalapa, Ver.
- 40.- Rippon, J.W. (1974) Medical Mycology. The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes. W.B. Saunders Company. U.S.A.
- 41.- Roberts, S.O.B., R.J. Hay, D.W.R. Mackenzie (1984) A Clinician's Guide to Fungal Disease. Ed. Marcel Dekker Inc. New York, U.S.A.
- 42.- Scagel, R.F., G.E. Rouse, J.R. Stein, R.J. Bandoni, W.B. Schofield, T.M. Taylor. El Reino Vegetal. Los Grupos de Plantas y sus Relaciones Evolutivas (1977) Ed. Omega. Barcelona, España 31-97 pp.
- 43.- Smith, I.M., A.H.S. Hayward (1971) Nocardia caviae and Nocardia asteroides: Comparative Bacteriologicae and Mouse Pathogenicity Studies. J. Comp. Path. 81: 79-87
- 44.- Vanbreuseghem, R. (1966) Guide Praticte de Mycologie Medicales et Veterinaire. Ed. Maffon & Cie. Paris, France
- 45.- Van Gelderen de Komaid, A., R. Runco de Laborda and R. Salim (1987) Natural Ocurrence of Nocardia in Soil of Tucumán: Physiological Characteristics. Mycopathologia. 99: 15-19

- 46.- Ximénez, C., E.I. Melendro, A.M. García, A. Martínez, A. González-Mendoza and L. Ortiz (1979) Vaccination Procedures Against Nocardia brasiliensis Infection in the Mouse. Reprinted from -- Int. Congress Series # 480. Proceedings VII Congress of ISHAM. Excerpta Medica: 79-82