

59



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

AISLAMIENTO DE *Histoplasma capsulatum* Y ESTUDIO DE LA REACTIVIDAD CUTANEA HACIA LA HISTOPLASMINA EN LA ZONA ECOTURISTICA DE CARRIZAL, VERACRUZ

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICO BIOLOGA
P R E S E N T A :
CAROLINA GUZMAN ARRIAGA

290794



MEXICO, D. F.

AÑO 2001

EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente	Abel Gutiérrez Ramos
Vocal	Alexandro Bonifaz Trujillo
Secretario	Misael González Ibarra
1 ^{er} . Suplente	Rolando Salvador García Gómez
2 ^o . Suplente	Norma Trejo Medina

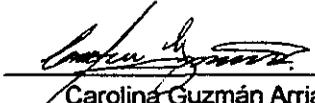
Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Micología de la Unidad de Dermatología del Hospital General de México y la zona ecoturística de Carrizal, Veracruz.



Alexandro Bonifaz Trujillo
Asesor



Javier Araiza Santibáñez
Supervisor técnico



Carolina Guzmán Arriaga
Sustentante

AGRADECIMIENTOS.

A mi *alma mater* la Universidad Nacional Autónoma de México, por ocho años de la mejor educación en escuelas excelentes: ENP # 5 José Vasconcelos, 1992; Facultad de Química, 1995.

A mi Padre y a mi Madre, por formarme justo como lo hicieron, les debo todo lo que soy.

A Alejandro, por ser maestro, por ser amigo, por confiar y desconfiar.
A Javier, por tu apoyo, tu amistad y tu sentido del humor.

A mis hermanos: Octavio, Raquel y Mariana, por nunca dudar.

Reach out and touch faith.

A las cravis: Martha, por las canchas y el Hyatt; Alejandra, por los puentes colgantes; Emma, por escalar el Ixta; Rosalba, por tus compras en San Cristobal; Teresa, por las chelas que he de tomar por ti y los tequilas que tu has de tomar por mi.

A los cuates, Raúl, Cecilia, Wilson, Jessica, Alejandro, los córdobos: Yu-Mei, Melisa, Agustín, Gaby, Leonel, Lalo, Cesia, Liliana..... ah! y también al peor de los mejores amigos: Sergio.

Never let me down...

And to all those who cared.....Thanks.

ÍNDICE.

Índice.....	iii
I. Introducción.....	1
Objetivos.....	2
Hipótesis.....	3
II. Antecedentes.....	4
Definición.....	4
Antecedentes históricos.....	4
Epidemiología.....	7
Distribución geográfica.....	7
Hábitat y fuente de infección.....	10
Vectores y reservorios.....	12
Flora asociada al hábitat de <i>Histoplasma capsulatum</i>	13
Vía de entrada.....	15
Periodo de incubación.....	15
Factores de riesgo.....	16
Patogenia.....	18
Aspectos clínicos.....	19
Histoplasmosis pulmonar primaria.....	20
Histoplasmosis cutánea.....	22
Histoplasmosis residual de la fase primaria.....	22
Histoplasmosis pulmonar secundaria o progresiva.....	23
Diagnóstico diferencial.....	25
Diagnóstico.....	25
Tratamiento.....	30
Profilaxis.....	31
Pronóstico.....	31
Micología.....	33
Conservación.....	34
III. Parte experimental.....	35
Materiales y reactivos.....	35
Diseño experimental.....	36
Desarrollo experimental.....	38
Aislamiento fúngico.....	41

Administración de IDR con histoplasmina a la población.....	44
IV. Resultados.....	46
Aislamiento fúngico.....	46
Determinación de la frecuencia de reactores positivos a la histoplasmina.....	57
V. Discusión.....	59
VI. Conclusiones.....	63
VII. Apéndices.....	65
Apéndice A: Medios de cultivo.....	65
Apéndice B: Reactivos y colorantes.....	68
Apéndice C: Técnicas y tinciones.....	70
Apéndice D: Hongos contaminantes.....	72
Apéndice E: Fármacos empleados en el tratamiento de la histoplasmosis.....	88
VIII. Bibliografía.....	92

I. INTRODUCCIÓN

La histoplasmosis es una micosis profunda causada por *Histoplasma capsulatum* el cual es un hongo que presenta dimorfismo térmico y nutritivo, mostrando la fase micelial e infecciosa en suelo y medios de cultivo a temperatura ambiente; y la levaduriforme o parasitaria intracelular en medios de cultivo que favorezcan el crecimiento de levaduras a 37° C. El padecimiento es adquirido por inhalación de esporas de la fase micelial, las cuales pueden encontrarse suspendidas en el aire, y una vez dentro del hospedero, generar una infección de sintomatología y severidad variadas. *Histoplasma capsulatum* afecta generalmente el pulmón causando una infección aguda de curso benigno y en el mayor número de los casos asintomático, entre otras entidades de frecuencia mucho menor aunque peor pronóstico.

Con el advenimiento de la pandemia por VIH-SIDA, la histoplasmosis ha venido a ocupar un lugar notorio entre los padecimientos que afectan a los individuos infectados con este virus, sin embargo, en México aún se le considera como un riesgo inherente a ciertas ocupaciones como las desarrolladas por mineros, guaneros, espeleólogos, arqueólogos y más recientemente aquellos que practican el ecoturismo, e ingresan al hábitat de este hongo.

Histoplasma capsulatum crece en suelos con alto contenido de nitrógeno, en especial en aquellos enriquecidos con excremento de aves o quirópteros, siendo estos últimos considerados como principales vectores indirectos en la diseminación

de la histoplasmosis. Otras condiciones que favorecen el crecimiento de *Histoplasma capsulatum* son los climas húmedo-cálidos como los que suelen encontrarse en las cuevas. La histoplasmosis es una enfermedad que se encuentra en todo el mundo, sin embargo la más alta incidencia se reporta en los Estados Unidos de América, seguido por Centro América, el Caribe y Sudamérica, mientras que en Europa la incidencia es baja. En México se han reportado brotes de histoplasmosis en un gran número de estados entre los que destacan Guerrero, Michoacán, Hidalgo, Jalisco, San Luis Potosí, Guanajuato, Tamaulipas, Morelos, Yucatán, Chiapas y Veracruz.

En meses recientes, el laboratorio de Micología de la Unidad de Dermatología del Hospital General de México diagnosticó histoplasmosis a un grupo de pacientes con sintomatología pulmonar quienes reportaron ingreso reciente a cuevas de la zona ecoturística del Carrizal en el estado de Veracruz, y a 45 Km de la ciudad de Xalapa. La presencia de asentamientos humanos en los alrededores de la zona de cuevas, coloca a la población en un gran riesgo para la adquisición de este padecimiento, principalmente por el uso que de algunas cuevas hacen los pobladores.

OBJETIVOS:

- Demostrar la presencia de *Histoplasma capsulatum* mediante aislamiento en una de las cuevas de la zona ecoturística de Carrizal, Veracruz.
- Determinar el porcentaje de individuos con reactividad positiva a la intradermorreacción (IDR) con histoplasmina.
- Señalar esta zona como endémica para histoplasmosis.

HIPÓTESIS:

Se ha demostrado la histoplasmosis en pacientes que visitaron la zona ecoturística de Carrizal, en el estado de Veracruz, e ingresaron a las cuevas de dicho lugar.

Sí tales individuos adquirieron la infección en esta zona, se podrá aislar a *Histoplasma capsulatum* del interior de las cuevas de este lugar, en las cuales se refugian colonias de murciélagos, y se encontrará un número considerable de individuos con reactividad cutánea positiva hacia el antígeno de la histoplasmina.

HIPÓTESIS NULA:

Sí dichos individuos no adquirieron la infección en esta zona, no se podrá aislar a *Histoplasma capsulatum* del interior de las cuevas de este lugar, en las cuales se refugian colonias de murciélagos, ni se encontrará un número considerable de individuos con reactividad cutánea positiva hacia el antígeno de la histoplasmina.

II. ANTECEDENTES

DEFINICIÓN

La histoplasmosis es una micosis profunda cuyo agente etiológico es el hongo dimórfico *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, que se inicia a nivel pulmonar y posteriormente puede diseminarse a diferentes órganos como bazo, hígado, riñón. etc. y evolucionar a sistémica.

Es también conocida por otros nombres tales como: Histoplasmosis americana, enfermedad de Darling, citomicosis, reticuloendoteliosis, enfermedad de los murciélagos, fiebre de las cavernas y minas, enfermedad de los mineros y espeleólogos.¹

ANTECEDENTES HISTÓRICOS.

El primer caso de histoplasmosis fue descrito en 1905 por Samuel Darling, un patólogo norteamericano que realizó una necropsia a un individuo proveniente de Martinica, quien había muerto mientras trabajaba en la construcción del canal de Panamá. Darling descubrió una infección inusual que no había sido descrita anteriormente y que se presentaba con hepatoesplenomegalia e inflamación de los nódulos linfáticos, así como una gran cantidad de microorganismos de entre 1 y 2 μm , aparentemente rodeados por una cápsula y localizados en el interior de los

histiocitos. Él pensó que se trataba de un protozoario similar a *Leishmania*, agente causal del Kala-azar. Eligió pues, un nombre que describiera el sitio de parasitación (histo por histiocito), el origen (plasma para indicar protozoario) y la morfología (capsulatum por la aparente cápsula).² Posteriormente, Darling describió, tras necropsia, otros dos casos con la misma infección.³

En 1912, en Hamburgo Alemania, da Rocha-Lima, demostró que el hallazgo de Darling era en realidad un hongo. El padecimiento permaneció olvidado por 20 años, hasta que en 1926 Riley y Watson reportaron el siguiente caso en la ciudad de Minnesota, la cual ahora se sabe es una zona de baja incidencia; con el transcurrir del tiempo se fueron detectando más casos, principalmente a partir de necropsias, provenientes de la parte central de Estados Unidos, demostrando que la enfermedad no estaba restringida a zonas tropicales.⁴

En 1932, Dodd y Tompkins de la Universidad de Vanderbilt (Nashville), observaron microorganismos intracelulares en el frotis sanguíneo de un infante originario de Tennessee, junto con Meleney identificaron tal hallazgo como *Histoplasma capsulatum*, constituyendo de este modo el primer diagnóstico de histoplasmosis en un paciente vivo.^{3,4} Tras la muerte del paciente, DeMonbreum cultivó muestras de su sangre y posteriormente descubrió que se trataba de un hongo dimórfico, el cual presentaba la fase micelial a temperatura ambiente y la levaduriforme a la temperatura corporal, 37°C; y tiempo después, con la inoculación de animales, obtuvo la enfermedad experimental cumpliendo con el postulado de Koch.⁵

En 1945, mientras se visualizaba a la enfermedad como rara y siempre de consecuencias mortales, Christie y Peterson dieron un giro al estudio de la histoplasmosis con la preparación, a partir de los cultivos de DeMonbreum, del antígeno para la prueba cutánea llamada histoplasmina, con lo cual se demostró la

alta prevalencia de histoplasmosis en pacientes sanos que habían cursado la infección como asintomáticos,⁴ y se pudo obtener un mapa preciso de las áreas endémicas en los Estados Unidos,² observándose que en ciertas zonas tales como los valles de los ríos Mississippi y Ohio la histoplasmosis afecta a más del 90% de los habitantes.³

En 1949, Emmons demostró que el suelo es el hábitat natural de *Histoplasma capsulatum* y dos años después Ajello y Zeidberg señalaron que el crecimiento más abundante del hongo es en suelos vecinos a gallineros, lo cual estableció el hecho de que hay una promoción del crecimiento en lugares donde se cuenta con deyecciones de aves o murciélagos.^{4,5}

Con el pasar de los años otras formas de histoplasmosis fueron poniéndose en evidencia, en 1941 se descubrió la histoplasmosis pulmonar crónica en una necropsia, y en 1948 se diagnosticó por primera vez en un paciente vivo.⁴ En pacientes que se creía padecían tuberculosis cavitaria se aisló *Histoplasma capsulatum* en lugar de *Mycobacterium tuberculosis* de cultivo de expectoración.² En 1953 se demostró la presencia de *Histoplasma capsulatum* en calcificaciones pulmonares y de linfonodos hiliares; en 1960, Baum observó el fenómeno de los histoplasmosas pulmonares, y en 1969 se propuso que son una forma aberrante de respuesta con formación de colágena y fibrosis en contra de *Histoplasma capsulatum* por parte del hospedero y en el 72 la misma respuesta fibrogénica se asoció con efectos dañinos de granulomas y fibrosis mediastinales inducidas por los histoplasmosas en estructuras críticas tales como las arterias pulmonares, venas, bronquios y la vena cava superior.⁴

Un tratamiento altamente efectivo surgió en los 50's con la aparición de la anfotericina B, pero con la desventaja de su toxicidad y que su administración debe ser por vía IV. Con las quimio y corticoterapias contra desórdenes malignos se reconoció la histoplasmosis diseminada como una infección oportunista en los

individuos inmunosuprimidos, observándose que muchos de esos casos se debieron a la reactivación endógena de una infección anterior.²

En los 80's la inmunosupresión a nivel de células T causada por la creciente epidemia de VIH-SIDA, colocó a la histoplasmosis como uno de los padecimientos que más afectan a los infectados por este virus.²

El primer caso mexicano fue reportado en 1943 por Perrín y Martínez-Baéz, quienes consideraron a la histoplasmosis epidémica como una enfermedad ocupacional de mineros y guaneros. Según actas de Salubridad Pública del Estado de Nuevo León que datan de 1895, Aguirre-Pequeño señaló la semejanza de los casos ahí descritos con los signos clínicos de la histoplasmosis, que sugieren una forma epidémica entre mineros expuestos a macro y microconidias del hongo. En este sentido González-Ochoa informó que es probable que la enfermedad se conociera desde la época colonial pues encontró la descripción de una enfermedad similar que se presentaba en los mineros y recolectores de guano.⁵

EPIDEMIOLOGÍA

Distribución geográfica.

Histoplasma capsulatum se encuentra en la naturaleza entre los 45° norte y los 30 ° sur del ecuador,⁵ por lo que la histoplasmosis se distribuye en todo el mundo especialmente en zonas templadas,⁶ se le considera la micosis respiratoria más frecuente en el mundo, pero la incidencia más alta se presenta en los valles de los

ríos Mississippi y Ohio en la región central de los Estados Unidos, seguido por Centro y Sudamérica, las islas del Caribe,^{2,7} (figura 1) y el Sudeste Asiático,⁸ además se ha reportado un número importante de casos en Oceanía, principalmente provenientes de Australia,⁹ mientras que en Europa se le considera una micosis exótica por su baja endemicidad.¹⁰

En el continente Africano se presenta otro tipo de enfermedad conocida como histoplasmosis africana, la cual es causada por *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*. A diferencia de la histoplasmosis americana, la africana se manifiesta predominantemente en forma cutánea.¹¹

La distribución del hongo se ha determinado mediante la reactividad cutánea a la histoplasmina, aplicada tanto a humanos como a animales domésticos. Mediante este tipo de estudios se determinó que en ciertas áreas de la zona central de Estados Unidos el porcentaje de reactores positivos es mayor al 80% y en otras al 90%.⁴

En México se han reportado brotes epidémicos en todos los estados de la República, principalmente en aquellos con gran número de minas y cuevas, como lo son Guerrero, Michoacán, Querétaro, Hidalgo, Jalisco, San Luis Potosí, Guanajuato, Tamaulipas, Yucatán y Chiapas.¹² Encontrándose zonas altamente endémicas como sucede en los municipios de Juxtlahuaca y Olinalá en el estado de Guerrero, donde se encontró que la población presenta reactividad positiva a la histoplasmina en porcentajes de 87 y 80 % respectivamente.¹³ y del 55 % en el Bucareli en el Estado de Querétaro,¹⁴ a comparación de otras áreas de baja incidencia como Coyuca, también en el estado de Guerrero con el 4.7 % y Tlaxcala con el 2 % (figura 2)



Figura 1. Incidencia de reactividad cutánea a la histoplasmina en América. (Ref. 53)

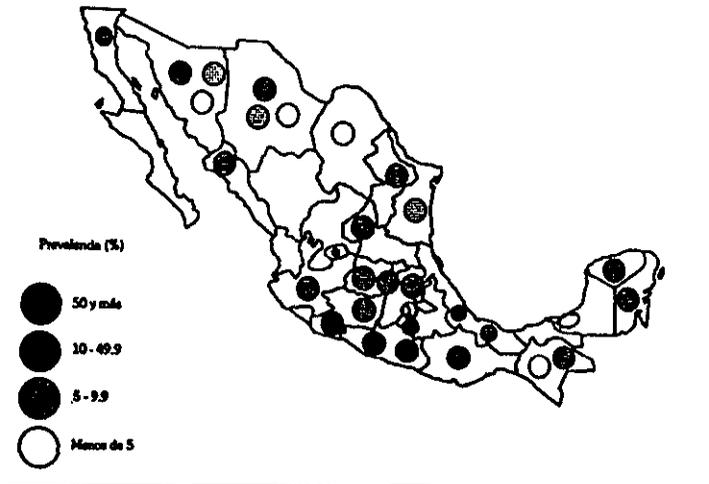


Figura 2. Incidencia de reactividad a la histoplasmina en México. (Ref. 5)

Los reportes de casos clínicos comenzaron en la década de los 40's, de 1948 a 1955 se registraron 20 brotes y un caso aislado para dar un total de 253 individuos afectados, entre 1956 y 1963, González-Ochoa describió 11 brotes y 4 casos aislados totalizando 137 sujetos. Desde 1963 y hasta 1994, Velasco-Castrejón documentó aproximadamente 1500 casos en 110 brotes.⁵

De 1988 a 1994 se llevó un registro oficial de la enfermedad por parte de la Dirección de Epidemiología de la Secretaría de Salud en el que se informaron 1065 casos de la forma epidémica,¹⁵ referidos principalmente a los estados del centro del país, seguidos por los del Pacífico Sur y los del Golfo.⁵

A partir de 1995 ya no se han registrado más los casos, por lo cual se desconoce el número de casos que ocurren por año, además porque las enfermedades causadas por hongos no forman parte de la notificación obligatoria al Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica.¹⁶

Hábitat y fuente de infección

Histoplasma capsulatum está ampliamente distribuido en las regiones tropicales y subtropicales, es un saprobio poco competitivo del suelo cuyo crecimiento depende de su interacción con diversos factores del suelo, la humedad relativa y la temperatura ambiental, los cuales en conjunto conforman los nichos ecológicos en que puede establecerse,¹⁷ dando como resultado los diferentes microambientes en que el hongo crece; además se han demostrado varios fenotipos de las cepas de *Histoplasma capsulatum* en una misma región geográfica.¹²

Este hongo es capaz de crecer en diferentes tipos de suelos, desde los limo-arenosos hasta las arcillas duras, cuya composición química y características físicas

influyen en el tipo de biota presente,¹⁷ pero su crecimiento se ve favorecido en aquellos suelos que contienen altas concentraciones de nitrógeno generalmente asociados con guano de aves y murciélagos,⁹ que además le proveen de fosfatos y iones Ca^{2+} . Goodman y Larsh establecieron que aun cuando la humedad del suelo y la temperatura ambiental influyen en la supervivencia del hongo en el suelo, la temperatura del mismo no es un factor crítico. *Histoplasma capsulatum* puede tolerar temperaturas de hasta -18°C siempre que la humedad del suelo sea adecuada, es decir 12% o más, pero no puede resistir temperaturas de 40°C o mayores por periodos prolongados.¹⁷

También se ha determinado que el hongo puede soportar cambios de pH de entre 5 y 10 y que la concentración de oxígeno influye en su micromorfología, pues en las capas superiores del suelo se presentan predominantemente conidias y a medida que aumenta la profundidad se encuentran preferentemente hifas. Esto explica porque los aerosoles que se generan al perturbar el suelo contienen macro, microconidias y pequeños fragmentos de hifas que constituyen la fase infectiva del hongo.¹⁷

La infección en México se da principalmente en ambientes cerrados como cuevas, grutas y edificios abandonados con temperaturas entre los 22 y 30°C y humedades relativas de entre 60 y 80 %, además de la existencia de cantidades importantes de excretas de aves o murciélagos,^{5,14} aun cuando el hongo se ha encontrado en espacios abiertos donde existen excretas de murciélagos y aves que son empleadas como abono para los cultivos.¹⁸

Vectores y reservorios.

Se ha reportado infección en varias especies dentro de la fauna silvestre, de éstas, 37 pertenecen al orden *Chiroptera*, es decir murciélagos,¹⁹ los cuales representan algunos de los mamíferos que son afectados por esta infección,¹⁸ y los responsables de la dispersión de *Histoplasma capsulatum* en la naturaleza²⁰ así como uno de los posibles reservorios del hongo, a pesar de que la infección se ha reportado también en otros mamíferos.¹²

México alberga a más de 130 especies de murciélagos con una gran variedad de dietas, entre las que se encuentran los insectívoros, polinívoros, frugívoros, hematófagos y piscívoros. Cerca del 50% de los quirópteros que existen en el país utilizan las cuevas como refugios temporales o permanentes.²⁰

De acuerdo a la disponibilidad de recursos alimentarios, los murciélagos pueden manifestar desplazamientos altitudinales o latitudinales estableciéndose para algunas especies polinívoras posibles rutas de migración con relación a periodos de floración y fructificación de cactus columnares y agavaceas. Durante estos desplazamientos, los murciélagos ocupan diferentes ambientes cavernícolas, los cuales dependiendo de las condiciones microclimáticas y las características del suelo favorecen el desarrollo y crecimiento del hongo al igual que la posible infección de los mismos murciélagos a través de la inhalación de grandes cantidades de esporas presentes en los depósitos de guano, lo que constituye un riesgo para otras especies susceptibles.²⁰

En un estudio realizado por Taylor y cols.¹² a un grupo de murciélagos, entre los que se tenían especies insectívoras, frugívoras, polinívoras e incluso hematófagas provenientes de las regiones de Juxtlaahuaca y Olinálá en el estado de Guerrero, se aisló *Histoplasma capsulatum* únicamente de aquellos individuos

insectívoros, lo que sugiere una relación entre los hábitos alimenticios y la adquisición de la infección. En el trabajo se propone que éstos al capturar insectos del suelo contaminado, pueden producir aerosoles que al ser inhalados por ellos mismos iniciarían la infección. Otra ruta de infección menos probable podría ser la ingestión de insectos del suelo cubiertos por conidias.

Se ha registrado también, aunque en menor grado, aislamiento en murciélagos polinívoros, nectarívoros y frugívoros, pero esto puede estar relacionado al tiempo de permanencia que estas especies presentan en refugios alternativos como las copas de los árboles, troncos huecos, puentes, pasos de agua, entre otros, y un menor tiempo en el interior de las cuevas, debido a la necesidad de desplazarse en busca de alimento.²⁰

En cuanto a las aves, aunque se tienen reportes de aislamientos positivos del hongo en excretas, no se ha descrito en la literatura la infección en estos animales,¹⁹ lo cual es debido a que su temperatura corporal alta en relación con los mamíferos, no favorece la replicación del hongo,⁴ aun cuando las aves pueden transportar la fase infectante en su plumaje con lo que contaminan sus nidos y quizás otras áreas; otros sitios asociados con aves de donde se ha aislado *Histoplasma capsulatum* son los llamados palenques, donde se presentan peleas de gallos.¹⁴

Flora asociada al hábitat de *Histoplasma capsulatum*.

Las características de cada tipo de suelo determinan el tipo de flora presente en ellos. En la superficie y los primeros centímetros de profundidad se desarrolla una microbiota abundante representada por una diversidad de bacterias, actinobacterias y hongos.

Las bacterias y los hongos se desarrollan activamente en climas húmedos, a temperaturas de 35 °C en suelos con pH neutro, aunque algunos hongos pueden tolerar condiciones más ácidas como pH menores a 5.5 y climas secos. Además de las condiciones del microambiente, su supervivencia en este tipo de hábitat depende de las características de cada especie.¹⁷

En trabajos realizados en forma colateral a los de Taylor y cols.^{17,22} se ha documentado la existencia de diferentes especies fúngicas, entre levaduriformes y filamentosas, además de otro tipo de flora constituida por ácaros, principalmente micófagos,²³ asociadas al hábitat de *Histoplasma capsulatum*.

En las comunidades de Juxtlahuaca y Olinálá en el estado de Guerrero se aislaron, a partir de guano de murciélago, diversas especies fúngicas. En el caso de levaduras se aislaron especies de *Candida* como *C. ciferri*, la más aislada y considerada flora habitual del suelo, seguida por *C. famata*, *C. guillermondii* y *C. catenulata*, además de *Rhodotorula spp* que a pesar de ser cosmopolita, fue la menos aislada.

Existen otras especies características de los suelos que son: *Candida humicola*, *C. terreus*, *C. scottii*, *Hansenula saturnus*, *H. californica* y *H. suaveolens*.¹⁷

En cuanto a los hongos filamentosos diferentes a *Histoplasma capsulatum* se reporta el hallazgo de las especies *Acremonium sp*, *Aphanoascus fulvescens*, *Aspergillus flavus-furcatis*, *A. terreus*, *A. terreus var. aureus*, *A. versicolor*, *Chaetomidium fimeti*, *Gymnascella citrina*, *Gymnoascus dankaliensis*, *Mabranchea aurantiaca*, *Penicillium spp.* y *Sporothrix sp.*²²

Vía de Entrada

La infección se adquiere por inhalación de polvo contaminado principalmente con microconidias y pequeños fragmentos de hifas.¹⁴ Se desconoce el número necesario para inducir la infección pero se ha determinado que una dosis de 10 es suficiente para provocar la infección en el 50 % de los ratones inoculados.⁸

En muy raras ocasiones se inicia por vía cutánea (0.5 % de las veces) dando un complejo chancriforme similar al de la esporotricosis o la coccidioidomicosis, pero tiende a la involución espontánea, conservándose sólo en pacientes inmunosuprimidos.¹

Aunque se reconoce que la enfermedad no se transmite de persona a persona,²⁴ se ha documentado un caso de transmisión venérea descrito como histoplasmosis conyugal.²⁵

Periodo de Incubación

El tiempo de incubación es muy variable, puede ser de 3 días hasta 1-5 meses aunque normalmente oscila entre los 7 y 10 días después de la exposición.¹

Factores de Riesgo

EDAD:

La enfermedad se presenta en cualquier edad,¹ sin embargo en menores de 10 años es mucho más letal mientras que en el adulto joven la enfermedad es más benigna. Se puede decir que la tasa de infección es acumulable pues sigue una tendencia ascendente conforme la edad. Al dividirse el grupo etario en menores de 1 año la tasa de infección es de 9 %, pero en niños menores de 14 años la tasa es del 43 % y si es menor de 24 años sería de 63 % lo cual se asocia a los hábitos ocupacionales.⁵

SEXO:

De acuerdo al sexo, la distribución de individuos reactivos positivos a la histoplasmina es más alta en hombres que en mujeres, e incluso los hombres cursan una enfermedad más agresiva, observándose una relación de 3 hombres por 1 mujer.²⁶

RAZA:

Se ha observado que la raza blanca es más susceptible hasta en 25 % que la negra.¹

OCUPACIÓN:

En México se acepta a la forma epidémica como una enfermedad ocupacional,¹³ tal como se enuncia en la Tabla de Enfermedades del Trabajo, Código 130, Artículo 513, Título Noveno de la Ley Federal del Trabajo,²⁷ que se presenta en trabajadores de la extracción y manipulación del guano, así como en profesionales que tienen relación con el estudio especializado de cavernas o suelos como lo son, espeleólogos, biólogos, geólogos, antropólogos, IQM, en los individuos que cultivan tierras fertilizadas con guano de murciélago, los limpiadores de minas y túneles, además en sujetos que por curiosidad entran a cuevas, como los excursionistas y visitantes de casas viejas y conventos o los buscadores de tesoros enterrados en cuevas.¹⁶

FACTORES GENÉTICOS E INMUNOLÓGICOS:

En diversos estudios se ha encontrado que los factores genéticos son determinantes en la infección por *Histoplasma capsulatum*. Los genes del MHC se localizan en el brazo corto del cromosoma seis humano. Estos genes presentan un elevado grado de polimorfismo y debido a su relevancia en el proceso de regulación de la respuesta inmune se han asociado con la susceptibilidad a diversas patologías autoinmunes pero también a la infección por VIH⁷ y por *Histoplasma capsulatum*,¹³ la cual está asociada a individuos que tienen el haplotipo [HLA-A2, B22, Cw5] en particular al alelo HLA-B22.²⁸

La presencia de antígenos HLA tales como B7 y el marcador DRw2 se ha asociado al Síndrome de Histoplasmosis Ocular Presuntiva.¹³

Además se ha observado una elevada frecuencia de la enfermedad en pacientes con inmunosupresión y pacientes infectados con el Virus de Inmunodeficiencia Humana.²⁸

En este aspecto, los regímenes agresivos con múltiples fármacos citotóxicos y las ampliamente usadas corticoterapias contra entidades no malignas,²⁹ así como los procesos debilitantes como leucemias y linfomas, se han asociado con la forma diseminada progresiva y crónica.¹

Las infecciones causadas por hongos se han reconocido entre las que más afectan a los pacientes de VIH-SIDA; la histoplasmosis se desarrolla comúnmente por reactivación, tanto como por la infección primaria en este tipo de pacientes.³⁰ De hecho, en la actualidad, la forma diseminada progresiva se considera una de las patologías que define el progreso a SIDA en los individuos infectados con VIH.²⁹

PATOGENIA.

La histoplasmosis se inicia con la inhalación de macro, microconidias y fragmentos de hifas,¹⁷ los cuales llegan, posteriormente a los alvéolos pulmonares y pasan al tejido provocando una reacción inflamatoria,²⁴ durante este periodo, el hongo debe manifestar su dimorfismo y transitar de la fase micelial a la levaduriforme que es capaz de invadir los tejidos,³¹ esta última fase sufre fagocitosis por parte de neutrófilos y macrófagos, lo cual puede darse por cualquiera de dos mecanismos, uno mediado por opsoninas y el otro independiente de ellas.³² Una vez dentro de los fagocitos puede migrar por vía hematógica y diseminarse a los órganos del sistema reticuloendotelial.²

Histoplasma capsulatum tiene afinidad preferencial por los fagocitos profesionales del hospedero, y emplea integrinas (CD11/CD18) para interactuar con las células fagocíticas. La internalización de las blastoconidias a los fagocitos, favorecida mediante un proceso opsonico, se lleva a cabo con ayuda del FcγR que reconoce a las células opsonizadas por IgG.³² Por otra parte, dichas blastoconidias presentan moléculas de superficie que les permiten ser reconocidas por elementos de la membrana celular y receptores no opsonicos, con lo cual pueden iniciar la invasión de los fagocitos, sin sufrir daños.³³

Cabe mencionar que se atribuye a las moléculas de α-(1,3)-glucanas, las cuales son componentes de la pared celular del hongo, el ser uno de los factores de virulencia de *Histoplasma capsulatum*.³³

ASPECTOS CLÍNICOS.

La histoplasmosis ha sido clasificada según sus variedades clínicas por diversos autores, pero ninguna de éstas ha sido aceptada universalmente,³⁴ las más empleadas son las de Goodwin – Des-Prez,⁴ y Rippon.³⁵ Para el caso específico de México y América Latina en general, la clasificación que mejor describe las entidades más frecuentes es la propuesta por González-Ochoa.³⁶ (cuadro 1)

Cuadro 1. Clasificación clínica de la histoplasmosis.

Fase	Tipo	Forma clínica	
PRIMARIA	Pulmonar	Asintomática	Leve
		Sintomática	Moderada Grave
	Cutánea		
RESIDUAL DE LA FASE PRIMARIA		Fibrosis aberrante (Histoplasmosomas)	
SECUNDARIA O PROGRESIVA	Diseminada	Aguda	Crónica

REF. 1

Histoplasmosis pulmonar primaria.

a) Tipo asintomático

Comprende la mayoría de los casos, aproximadamente el 95 %, ³⁴ lo cual fue respaldado por estudios realizados por el ejército de los Estados Unidos, donde se observó que los individuos que se mudaban a las zonas endémicas y cuya reactividad cutánea a la histoplasmina era negativa en los primeros días de habitar dichas zonas, cambiaba a ser positiva algunos meses después, sin que se hubiese identificado ningún síntoma clínico de la enfermedad.⁴

En México, su frecuencia en ciertas regiones, se ve reflejada únicamente por la incidencia de reactividad positiva hacia la histoplasmina.³⁷

b) Tipo sintomático

Se comporta en forma benigna con una gama de cuadros clínicos que varían según el tamaño del inóculo y el tiempo de exposición, sin soslayar la virulencia de la cepa.¹⁶ En esta forma clínica se reportan cuadros gripales con fiebre y tos con o sin expectoración,³⁸ con artralgia y cefalea, las cuales se presentan con mayor frecuencia en niños.^{2,4} Se consideran tres formas clínicas:

- Forma leve: es semejante a un cuadro gripal,^{16,34,37} no existen signos físicos ni radiológicos a la exploración torácica, las lesiones pulmonares son del tipo de los infiltrados y seguramente revierten con el tiempo a calcificaciones pulmonares que se observan en los individuos histoplasmina positivos.³⁷
- Forma moderada: se observan lesiones radiográficas con imágenes variables que van desde infiltrados nodulares, bloques neumónicos, adenopatía hiliar, episodios febriles y malestar general con decaimiento.³⁷ Algunos pacientes presentan síndromes obstructivos que resultan del crecimiento de los nódulos linfáticos mediastinales.³⁹
- Forma grave: corresponde a infecciones del tipo epidémico,³⁷ ocurre tras la exposición a grandes cantidades de conidias en la infección primaria, los síntomas ocurren entre los 10 – 18 días y son fiebre, malestar, escalofríos y mialgia con un cuadro similar al gripal; a los rayos X se observa adenopatía hiliar con involucramiento pleural ocasional, lo cual puede durar de 2 a 3 meses.³⁵ con la hipersensibilización pueden aparecer, artralgia y eritema nodoso.³⁹ Las lesiones pulmonares progresan de granulomas a necrosis caseosa que posteriormente cura con

calcificación,⁴⁰ y sólo en raras ocasiones se desarrolla la enfermedad progresiva.³⁵

Histoplasmosis cutánea.

La inoculación directa del hongo viable en la piel, como por un accidente de laboratorio, causa un chancro primario y linfadenopatía, la cual se resuelve en forma espontánea, ya que *Histoplasma capsulatum* no tiene afinidad por el tegumento cutáneo.⁴¹

Histoplasmosis residual de la fase primaria.

Esta constituida por los histoplasmosas y respuestas fibrogénicas aberrantes en general. Semeja a un tuberculoma, es una masa fibrosa grande que se desarrolla alrededor de los focos primarios de la infección pulmonar. Durante la fase activa la lesión original mide de 2 a 4 mm, la cual se cura mediante encapsulamiento con fibrosis y calcificación, la pared es de 1 mm de espesor en el histoplasmosa, la fibrosis continua en capas concéntricas de colágena y calcificación con una tasa de crecimiento de 1-2 mm por año alcanzando 3-4 cm en 10 - 20 años. Histológicamente consiste en acúmulos de fibroblastos, linfocitos y células mononucleares.

La fase de granuloma en el mediastino presenta fibrosis excesiva, en la lesión inicial se encuentra en uno o varios nódulos, los cuales pueden entretejerse, agrietarse, encapsularse, y formar una masa de hasta 10 cm de diámetro. La pared tiene de 4 a 9 mm de espesor. Una masa tan grande afecta las estructuras vitales

adyacentes, incluyendo la vena cava superior, arteria pulmonar, venas pulmonares y bronquios.

Los sitios primarios afectados por la fibrosis mediastínica, son los ganglios linfáticos hiliares o mediastínicos. Cuando el paciente presenta hipersensibilidad a los componentes antigénicos del hongo se presenta fibrosis o colagenosis exageradas, las cuales tienen que ser extirpadas quirúrgicamente.³⁵

Histoplasmosis pulmonar secundaria o progresiva.

Su incidencia en México es mucho menor comparada con la histoplasmosis pulmonar primaria. La histoplasmosis secundaria también llamada progresiva presenta dos variedades: la diseminada aguda y la crónica.³⁷ Además se reporta la reinfección aguda, la cual es muy similar a la forma epidémica aguda o histoplasmosis pulmonar primaria moderada, sigue a la inhalación de conidias en individuos previamente sensibilizados con la diferencia de presentar un tiempo de incubación más corto que va de 3 a 8 días, hay infiltrado intersticial pulmonar y síntomas moderados, suele resolverse espontáneamente.³⁵

a) Histoplasmosis diseminada aguda.

La histoplasmosis diseminada es una enfermedad del sistema fagocítico mononuclear cuya severidad y manifestaciones están relacionadas con el grado de permisividad de parasitación dentro del macrófago, lo que muchas veces se asocia a la severidad de la enfermedad. Es una infección oportunista rara que se desarrolla en individuos con algún grado de defectos inmunes a nivel celular, la enfermedad

ocurre en niños en más de una tercera parte de los casos,³⁶ en pacientes con malignidades linfáticas o hematopoyéticas, en pacientes con terapia inmunosupresora esteroideal o en forma idiopática en pacientes con defectos desconocidos, actualmente indefinidos, o transitorios, como se ha sugerido ocurre con ciertas infecciones virales.⁴

Los receptores de órganos, tras las terapias inmunosupresoras pueden sufrir la reactivación de una infección previa, la cual tiende a ser diseminada y puede progresar rápidamente y volverse crónica.⁴¹ Esta variedad clínica es uno de los padecimientos que en la actualidad se consideran como indicador del progreso a SIDA en los pacientes infectados con el VIH, las manifestaciones clínicas son cuadros febriles, enfermedad desgastante con una marcada pérdida de peso. Se observan lesiones en la piel y mucosas con linfadenopatía,²⁹ hay riesgo de coagulación intravascular diseminada,⁸ y en ocasiones alteraciones mentales debido a involucramiento del Sistema Nervioso Central.²⁹ Se reconoce a la enfermedad fulminante como una forma clínica de este tipo de histoplasmosis.

- Enfermedad fulminante: es la que se desarrolla más rápidamente y la más comúnmente fatal forma de histoplasmosis. Los macrófagos se encuentran en un número mayor al normal y almacenan blastoconidias en su interior, esto puede causar oclusión de los capilares, conduciendo a estasis y colapso circulatorio. Este fue el primer caso antemortem que se diagnosticó; el 80 % de los pacientes son niños menores a un año. Aparecen síntomas tales como fiebre alta, malestar general, anorexia, pérdida de peso, hepatoesplenomegalia, neumonía intersticial, y desórdenes hematológicos de anemia, leucopenia y trombocitopenia (pancitopenia). El curso es terminantemente fatal en 2 a 10 semanas sin tratamiento; la anfotericina B se usa con éxito en algunos casos.³⁶

b) Histoplasmosis crónica.

Se ve favorecida en pacientes fumadores o con enfisema, semeja a la tuberculosis pulmonar. Los pacientes presentan malestar general, pérdida de peso, fiebre y tos, el dolor en el pecho puede presentarse a pesar de no ser severo, hay expectoración mucopurulenta, la examinación pectoral puede revelar entrada de aire restringida y áreas de cavitación en los ápices pulmonares. En la etapa temprana, la radiografía muestra infiltrados segmentados con ensanchamiento de los lóbulos superiores, y en la enfermedad crónica establecida los infiltrados pueden ser bilaterales. La cavitación es común y su crecimiento progresivo puede invadir tejido sano.⁴²

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.

Históricamente la histoplasmosis ha sido confundida en un gran número de ocasiones con la tuberculosis y la leishmaniasis,⁴ aunque también se le confunde con otras micosis como la coccidioidomicosis y la blastomicosis americana, y más recientemente con la peniciliosis mameffeii.

DIAGNÓSTICO.

La única prueba concluyente de histoplasmosis es el aislamiento e identificación de *Histoplasma capsulatum* de las diferentes muestras patológicas, y la demostración del dimorfismo. Tales muestras pueden ser: sangre, médula ósea,

lavado bronquial, fluido cerebroespinal, expectoración, orina, líquido cefaloraquídeo en los casos meníngeos y biopsias de tejidos.⁴³ Sin embargo se realiza otro tipo de pruebas como lo son las siguientes:

Examen directo:

Histoplasma capsulatum se encuentra raras veces en el espacio extracelular, razón por la cual el examen directo del material clínico generalmente produce resultados negativos para histoplasmosis.⁴³

Tinciones:

Para demostrar la existencia de *Histoplasma capsulatum* se emplean especímenes como sangre, cortes de nódulos linfáticos y biopsias de hígado y bazo,⁴³ las cuales deben teñirse con PAS, Giemsa o Wright, examinando a inmersión se observan las levaduras en el interior de macrófagos y en ocasiones de polimorfonucleares.⁴⁴

Cultivo:

Las muestras obtenidas del paciente se siembran en agar Sabouraud o Micosel, incubándose a 25 °C por 2 a 3 semanas para la fase micelial y la identificación de cepas A ó B; o bien en agar BHI adicionado con sangre de carnero defibrinizada y cisteína, el cual se incuba a 37 ° C para obtener la fase levaduriforme. Una vez obtenido el cultivo de la fase micelial, éste debe coincidir con la morfología, tanto macro como microscópica, descrita para *Histoplasma capsulatum* y entonces demostrar el dimorfismo.³⁷

Histología:

- **Biopsia:** la lesión tisular es inflamatoria crónica con una gran cantidad de macrófagos y en ocasiones células de Langhans (células gigantes). Los organismos aparecen como pequeñas blastoconidias ovaladas, sencillas o gemantes que miden de 1 a 3 μ , en el interior de las células reticuloendoteliales.
- **Necropsia:** las lesiones pueden encontrarse en mucosa oral, faringe, laringe y a través del tracto gastrointestinal, hígado, bazo, riñón, uréteres, pulmones, nódulos linfáticos y adrenales que pueden mostrar desde ulceración hasta necrosis extensa. Normalmente las blastoconidias se encuentran en gran número en las células reticuloendoteliales y los macrófagos grandes, frecuentemente no se sospecha de este diagnóstico antemortem sino hasta que se examinan los tejidos durante la necropsia.⁴⁴

Rayos X:

El uso de radiografías pulmonares es de importancia para el apoyo de un diagnóstico diferencial, así como para la detección temprana de la histoplasmosis pulmonar primaria leve, casos agudos y lesiones crónicas. Su utilización en el transcurso y evolución del padecimiento permite un control mayor de la infección.⁴⁵

Tomografía:

Es el estudio radiológico por planos que permite obtener la imagen de una profundidad calculada, en contraste con la imagen radiológica simple en la que aparece la superposición de todos los elementos anatómicos normales. Se fundamenta en la obtención de placas en un solo plano de profundidad, mediante exposición a rayos X.⁴⁵

Pruebas inmunológicas:

El diagnóstico de la histoplasmosis por presencia de anticuerpos mediante pruebas serológicas está limitado por el alto índice de falsos negativos y falsos positivos, sin embargo se emplean diversas técnicas con muy buenos resultados.⁴⁶

a) Intradermorreacción (IDR):

La sensibilidad a la histoplasmina aparece a la segunda o tercera semana después del primocontacto.³⁸

En México, para la producción del antígeno de aplicación diagnóstica, las cepas de *Histoplasma capsulatum* se seleccionan siguiendo tres criterios: por ser de aislamiento de casos autóctonos, por ser de virulencia media a alta y por poseer estabilidad para producir moléculas con actividad inmunogénica, tras lo cual se obtiene el antígeno crudo por filtrado del cultivo.⁴⁷

El antígeno debe pasar las pruebas de esterilidad, inocuidad y actividad biológica, como se indica en la FEUM 7ª edición.⁴⁸

La histoplasmina se aplica inyectando 0.1 mL del antígeno intradérmicamente cuya dilución suele ser de 1:100, la lectura se realiza 48 hrs. después de la aplicación, la prueba se considera positiva cuando hay más de 5 mm de pápula (induración) más eritema.⁴⁹

b) Aglutinación en látex:

Es útil en los casos en que el suero del paciente sea anticomplementario.³⁸ En esta prueba se mezcla suero del paciente con partículas de látex cubiertas de histoplasmina. Es positiva en un periodo de tiempo menor al necesario para la fijación de complemento.⁵⁰

c) Inmunodifusión:

Se realiza mediante la técnica de Ouchterlony, se pueden observar dos bandas la M que representa la fase temprana o de recuperación y la H que aparece únicamente en la infección activa,⁵¹ la prueba puede salir positiva tras el primer mes después del primocontacto, es útil si se emplea en forma combinada con la fijación de complemento.⁵²

d) Radioinmunoensayo:

Es de ayuda para detectar la fase temprana en los pacientes cuya fijación de complemento e inmunodifusión son negativas. Se puede detectar el antígeno de *Histoplasma capsulatum* en muestras de orina, sangre o fluido cerebro-espinal.⁵¹

e) Fijación de complemento:

Es de las más sensibles y específicas, los anticuerpos fijadores de complemento aparecen a partir de la segunda semana después de la infección y se mantienen mientras la enfermedad esté activa.³⁷

Los criterios para esta prueba son:

- Títulos de 1:8 y 1:16 sugieren enfermedad en pacientes con sintomatología compatible.
- Títulos de 1:32 son evidencia fuerte de histoplasmosis.
- Títulos de 1:64 denotan diseminación.^{42,51}

TRATAMIENTO

El tratamiento de la histoplasmosis se reserva para los pacientes con las variedades crónica y diseminada progresiva, debido principalmente, a la tendencia a curar espontáneamente que presentan las demás variedades clínicas.

El uso de los azoles como agentes terapéuticos seguros y efectivos, tanto como el de la anfotericina B, cuya respuesta clínica es rápida y que continua siendo el tratamiento de elección para los pacientes con sintomatología severa o moderadamente severa, constituyen la gama de fármacos antifúngicos empleados en el tratamiento de la histoplasmosis.⁵³

Los azoles son compuestos ampliamente empleados en el tratamiento de la histoplasmosis, actúan mediante la inhibición de la síntesis de ergosterol, el cual es un componente primordial en la membrana celular fúngica, además de la ventaja que representa el hecho de que su administración no requiera del monitoreo de la función renal y de los parámetros hematológicos.⁵⁴ Dentro de este grupo están incluidos el ketoconazol, y el itraconazol, los cuales son bien tolerados y efectivos en pacientes inmunocompetentes, así como en pacientes inmunocomprometidos cuando se administran en conjunto con anfotericina B.^{53,55} (cuadro 2) Por otro lado se ha empleado el fluconazol, también azólico, sin embargo, su efecto no es tan eficaz como el del itraconazol o el ketoconazol.⁵⁶

PROFILAXIS

La profilaxis con antifúngicos como el itraconazol, podría recomendarse, sobre todo en las zonas altamente endémicas, sin embargo no se ha demostrado su eficacia.⁵³ Por otro lado, el uso de mascarillas no garantiza la seguridad del usuario, por el tamaño de la fase infectante.

PRONÓSTICO

El estudio de la histoplasmosis a nivel mundial ha avanzado a grandes pasos desde su primera descripción en 1906 hasta nuestros días. A pesar de que las técnicas de diagnóstico no han superado al cultivo, la identificación del mismo puede verse acelerada mediante el empleo de técnicas de biología molecular, como sería el uso de la PCR.⁵⁷ Mediante el uso de este tipo de técnicas, en la actualidad se está determinando la procedencia geográfica de las cepas aisladas de casos clínicos, del

Cuadro 2. Terapias empleadas contra la histoplasmosis.

Tipo de infección	Hospedero inmunocompetente	Hospedero inmunosuprimido	
		VIH-SIDA	Otra
Aguda	Observación	<ul style="list-style-type: none"> Anfotericina B (500-1000 mg) entonces itraconazol (400 mg/día por 6 meses) 	<ul style="list-style-type: none"> Anfotericina B (500-1000 mg) entonces itraconazol (400 mg/día de por vida)
Aguda con falla ventilatoria	<ul style="list-style-type: none"> Anfotericina B (500-1000 mg hasta notar mejoría) 	<ul style="list-style-type: none"> Anfotericina B (1000 mg) entonces itraconazol (400 mg/día por 6 meses) Anfotericina B (40 mg /Kg, dosis total) 	<ul style="list-style-type: none"> Anfotericina B (500-1000 mg) entonces itraconazol (400 mg/día de por vida)
Crónica cavitaria	<ul style="list-style-type: none"> Itraconazol (400 mg/día durante 6 meses) Ketoconazol (400-800 mg/día por 6 meses) Anfotericina B (35mg/Kg, dosis total) 	<ul style="list-style-type: none"> No hay información específica disponible, probablemente la misma que en pacientes inmunocompetentes 	<ul style="list-style-type: none"> Anfotericina B (1000 mg) entonces itraconazol (400 mg/día de por vida)
Progresiva diseminada	<ul style="list-style-type: none"> Anfotericina B (500-1000 mg hasta estabilidad) entonces itraconazol (400 mg/día durante 6 meses) Anfotericina B (400 mg /Kg, dosis total) 	<ul style="list-style-type: none"> Anfotericina B (1000 mg) entonces itraconazol (400 mg/día por 6 meses) Anfotericina B (40 mg/Kg, dosis total) 	<ul style="list-style-type: none"> Anfotericina B (1000 mg) entonces itraconazol (400 mg/día de por vida)

Ref. 55

mismo modo el polimorfismo de las mismas pudiera relacionarse con cepas más virulentas que otras.^{57,58}

Así mismo, el avance en la terapéutica promete el uso de fármacos con alta eficacia y menor número de efectos colaterales, como sucede con el itraconazol.⁵³ El encapsulamiento de la anfotericina B en liposomas representa por el momento la mayor expectativa en cuanto a lo anterior.

MICOLOGÍA

Histoplasma capsulatum var. *capsulatum* (Darling, 1906), es un hongo dimórfico que presenta una fase micelial saprobia y una levaduriforme parasitaria. Además presenta un estado sexuado que corresponde a un ascomiceto denominado *Emmonsia capsulata* (Kwon-Chung, 1972)⁵⁹ que también es llamado *Ajellomyces capsulatus*.⁶ (cuadro 3)

La morfología microscópica de la fase micelial muestra abundantes hifas macrosifonadas, septadas, hialinas y a través de pequeños conidióforos que forman ángulos de 90 ° con las hifas, se insertan las micro (2-4 μ) y macroconidias (8-14 μ) piriformes o redondas. Las macroconidias de la especie son de pared celular gruesa, espiculadas, formando proyecciones digitiformes. La pared celular de las diferentes formas de la fase micelial está compuesta por glucanas, en las cuales predominan los enlaces β , quitina, proteínas y lípidos.

La morfología microscópica de la fase parasitaria del hongo está constituida por levaduras unicelulares que se desarrollan intracelularmente o en cultivos enriquecidos con cisteína a 37 °C. Las levaduras son redondas u ovals y miden de 2-4 μ de diámetro, son uninucleadas, se reproducen por gemación y representan la fase virulenta del hongo. Su pared celular se encuentra compuesta de

glucanas, predominando aquellas con enlaces α , además de los constituyentes de la pared señalados en la fase micelial.⁶⁰

La fase sexuada es un ascomiceto heterotálico que produce cleistotecios con características de la familia *Gymnoascaceae*.⁵⁹

Cuadro 3. Clasificación taxonómica de *Histoplasma capsulatum*

CLASIFICACIÓN	FASE ASEXUADA	FASE SEXUADA
Clase	<i>Deuteromycetes</i>	<i>Ascomycetes</i>
Subclase	<i>Hyphomycetidae</i>	<i>Plectomycetidae</i>
Orden	<i>Monilia</i>	<i>Onygenal</i>
Familia	<i>Moniliaceae</i>	<i>Gymnoascaceae</i>
Género	<i>Histoplasma</i>	<i>Emmonsia</i> o <i>Ajellomyces</i>
Especie	<i>capsulatum</i>	<i>capsulata</i> o <i>capsulatus</i>

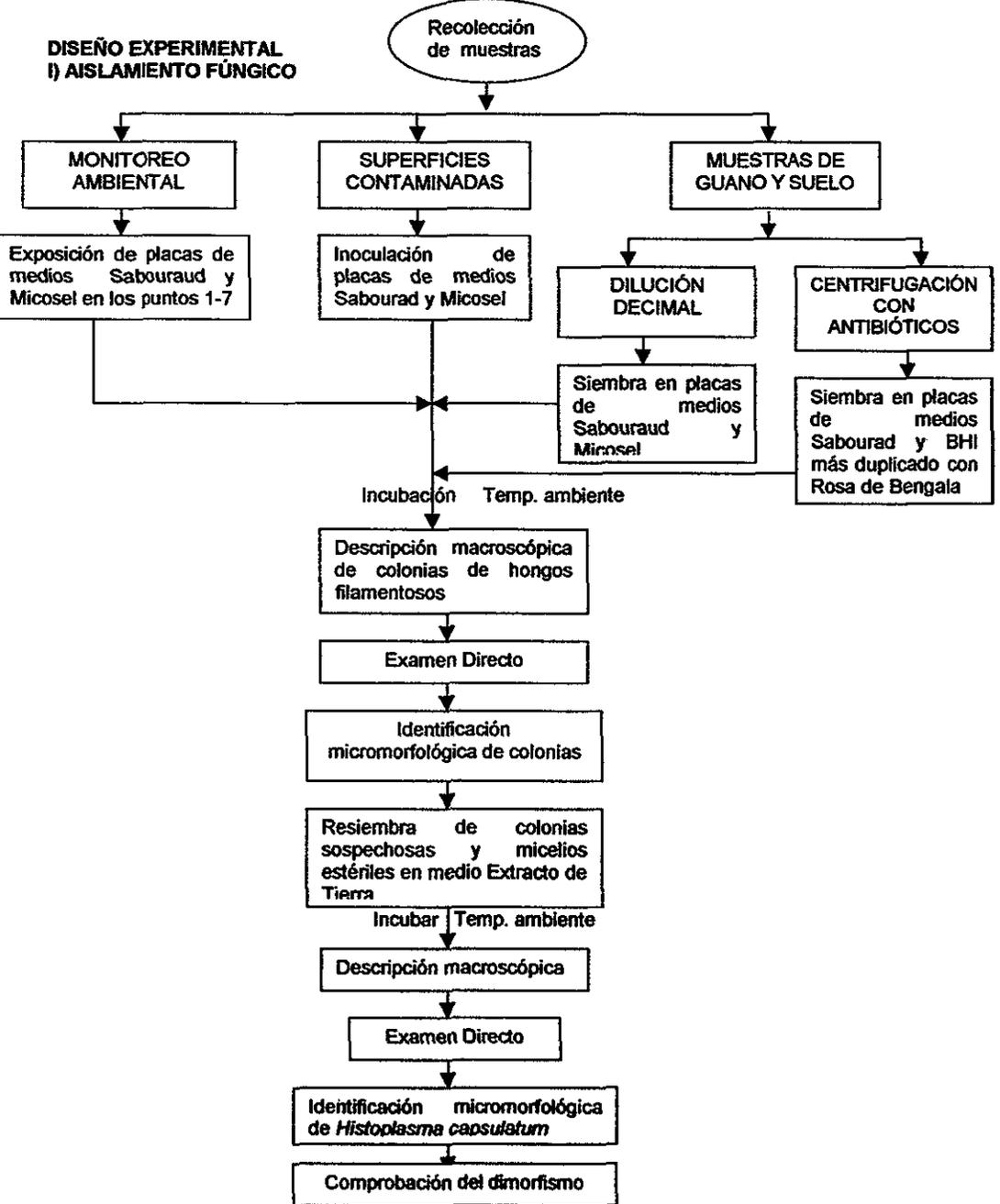
CONSERVACIÓN

Las cepas de *Histoplasma capsulatum*, pueden ser preservadas en fase micelial a 4 °C en agar Micosel, con o sin aceite mineral y en agua destilada estéril. De la fase levaduriforme obtenida previamente a 37 °C en medio BHI, se preparan paquetes de levaduras que se almacenan entre -80 a -173 °C en criotubos en presencia de dimetilsulfóxido al 10 % y 90 % de suero fetal bovino. Las muestras de guano de murciélago pueden conservarse a - 80 °C con 10 % de glicerol en amortiguador salino de fosfatos (PBS) a pH 7.2.⁶¹

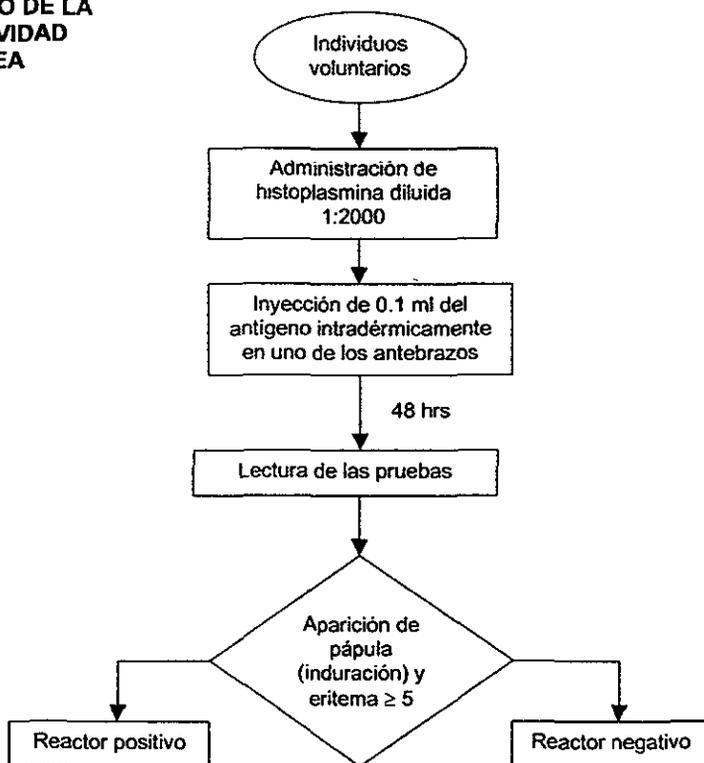
III. PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y Reactivos.

1. Recipientes estériles
2. Tubos de 13 X 100 con tapón de rosca, estériles
3. Tubos de 16 X 150
4. Cajas Petri estériles
5. Matraces Erlen-Meyer de 1 L
6. Embudo
7. Portaobjetos y cubreobjetos
8. Triángulos de vidrio
9. Asa micológica
10. Bisturí
11. Pinzas de disección
12. Gradilla
13. Mechero
14. Soporte y anillo metálico
15. Abatelenguas
16. Hisopos estériles
17. Gasas
18. Torundas
19. Jeringas insulínicas
20. Masking tape
21. Cinta adhesiva transparente
22. Solución salina isotónica
23. Solución de azul de lactofenol
24. Solución salina amortiguada con fosfatos (PBS a pH 7.2)
25. Histoplamina micelial estandarizada por la Secretaría de Salud
26. Medios de cultivo Sabouraud (Difco Michigan), Micosel (Bioxon Becton-Dikinson), BHI(Bioxon Becton-Dikinson), Extracto de Tierra.
27. Penicilina (Lakeside)
28. Estreptomina (Lakeside)
29. Rosa de Bengala (Sigma de México)
30. Formol
31. Campana de Flujo laminar
32. Centrifuga
33. Mascarillas de protección
34. Lentes de protección
35. Autoclave
36. Microscopio
37. Trajes de protección
38. Guantes de látex



II) ESTUDIO DE LA
REACTIVIDAD
CUTÁNEA



DESARROLLO EXPERIMENTAL

ÁREA DE ESTUDIO

Este trabajo se desarrolló en la zona ecoturística de Carrizal que se encuentra a 45 Km de la ciudad de Jalapa, en el estado de Veracruz, y en la cual se ofrece, entre otras actividades recreativas, el ingreso a cuevas; y que además cuenta con gran difusión, ya sea por la distribución de volantes (figura 3), las propagandas que se reparten en los hoteles de las ciudades aledañas (figura 4) o bien por la página de Internet <http://www.dpc.com.mx/veraventuras/>. En esta zona se reporta la existencia de diversas cuevas de características y dimensiones variadas y algunas de ellas de fácil acceso a la población. De este conjunto de cuevas se eligió una, la cual se encuentra ubicada a un lado de uno de los caminos transitados por los habitantes de la zona, razón por la cual sirve como refugio para personas y animales durante los periodos de lluvias o calor intenso.

DESCRIPCIÓN DE LA CUEVA

La cueva está constituida de una sola cámara de aproximadamente 20 metros de profundidad por 12 metros de ancho, con una entrada al nivel del suelo de aproximadamente 6 metros de ancho por 2.5 de alto y otra más pequeña a unos 2 metros del suelo. En la primera porción la cueva tendría unos 3.5 metros de altura la cual disminuye a medida que aumenta la profundidad. Las condiciones ambientales registradas en el interior correspondían a una temperatura de entre 25 y 30 °C, una humedad relativa de entre 60 y 90 % con un pH del suelo en los depósitos de guano de 9. Se encontraron 3 depósitos con cantidades discretas de guano de los cuales se tomaron muestras en recipientes de plástico estériles, los cuales se sellaron e identificaron para su posterior análisis.

Figura 3. Propaganda de la zona ecoturística de Garrizal, Veracruz.



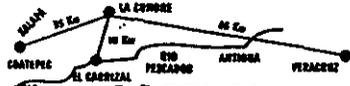
**LA PRIMAVERA LO ESPERA EN
AGUAS TERMALES DE
EL CARRIZAL**

**EL PARQUE BALNEARIO CON MAYOR TRADICION
EN VERACRUZ, CON SUS FAMOSAS Y UNICAS
AGUAS TERMALES EN LAS GRILLAS DEL RIO
PESCADOS-LA ANTIGUA.**

**CONOZCA SUS NUEVOS SERVICIOS Y
REMEDIACIONES:**

- RANCHO HOTEL, SALONES DE JUEGOS DE MESA,
CAMPAMENTO, TRAILER PARK, LAS 24 HORAS.
- ALBERCA TERNAL 75x25 METROS CON NACIMIENTO DE 1000
Lts./seg A 39.5 GRADOS DE TEMPERATURA, HIDROMASAJE
TERNAL.
- 4 ALBERGAS MAS, DOS CON RESBALADILLAS, AGUA
TEMPLADA.
- VESTIDORES PRIVADOS Y GENERALES, REGADERAS,
LOCKERS.
- CANCHAS DEPORTIVAS PARA BASQUET-BALL, VOLEI-BALL DE
ARENA, FUTBOLITO, APARATOS EXTERIORES DE GIMNASIA,
LIANAS EN EL RIO.
- AREAS VERDES Y AMPLIO ESTACIONAMIENTO.
- JUEGOS INFANTILES, DRAGON, MESAS Y ASADORES.
- RESTAURANTE, BAR CON T.V., BAR EN ALBERCA TERNAL.

HORARIO DE 6:00 AM A 9:00 PM



RAFTING

- DESCENSO EN LOS RAPIDOS DE LOS RIOS ANTIGUA,
PESCADOS, ACTOPAN Y FILOBOBOS, BALSAS, EQUIPOS,
GUIAS PROFESIONALES Y TRANSPORTE: RAPPEL, ESCALADA,
BICI DE MONTAÑA, CAMINATAS, CUEVAS.

**POR SU SEGURIDAD NO SE PERMITEN
TANQUES DE GAS, ENVASES DE VIDRIO NI MASCOTAS**

INFORMES Y RESERVACIONES To. (28) 18 97 79
SANTOS DEGOLLADO 81-INT. 8 18 82 96
XALAPA, VER. Fax (28) 18 96 80

"ABIERTO TODO EL AÑO"



Figura 4. Propaganda encontrada en los hoteles de Xalapa.

**Círculo
Cultura y Aventura**

Veracruz
...El Estado con Ambiente

CARRIZAL

Se encuentra a 45 km. de Xalapa. Para aquellos que buscan descansar y relajarse, Carrizal es el lugar adecuado ya que cuenta con un rancho hotel, espacio para acampar, juegos infantiles, restaurante-bar, y diferentes albercas con toboganes, pero lo más importante son sus aguas termales, que lo hace un verdadero lugar de salud. SPA natural que otorgado por la mano del hombre forma una excelente área de hidromasaje. A unas escasas metros se encuentra el río Apaxtapan en el cual se practican los famosos descensos en río.

Es un lugar donde puedes degustar ricos langostinos de río, lo cual es un detalle para ti papá.

DESCRIPCIÓN DE LOS MURCIÉLAGOS ENCONTRADOS

Se encontró un tipo de murciélagos de color café-rojizo, pequeños de aproximadamente 10 cm de largo por unos 25-30 cm con las alas extendidas.

AISLAMIENTO FÚNGICO E IDENTIFICACIÓN

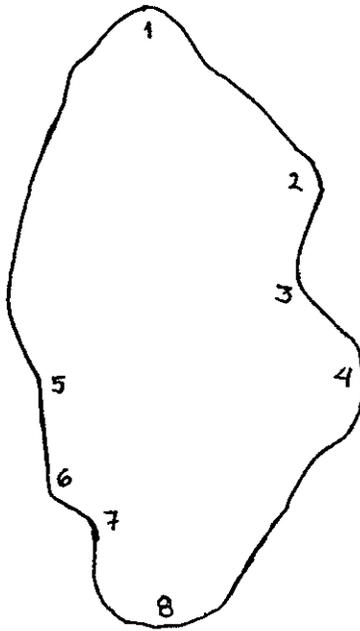
a) De placas de monitoreo ambiental

Se colocaron 7 placas descubiertas de medio Sabouraud y 7 de Micosel en los puntos 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 del interior de la cueva (figura 5), las cuales se sellaron para su posterior análisis, tras un periodo de incubación a temperatura ambiente de entre 3 días y 4 semanas se realizó la identificación macro y micromorfológica a las diversas colonias obtenidas.

b) De superficies contaminadas en el interior de la cueva

Se tomaron muestras mediante el uso de 12 hisopos estériles de las diferentes áreas del interior de la cueva, las cuales se transportaron en Solución Salina Isotónica estéril para su estudio en el laboratorio, donde se inocularon en medios de cultivo Sabouraud y Micosel y se incubaron a temperatura ambiente durante un periodo de 4 semanas durante las cuales se realizó la identificación macro y micromorfológica de las diversas colonias crecidas.

Figura 5. Esquema del interior de la cueva estudiada.



c) De muestras de guano y suelo

Se tomaron 3 muestras de guano y suelo de los depósitos encontrados en el interior de la cueva, las cuales se colectaron en recipientes estériles para su análisis en el laboratorio.

i) Técnica de diluciones

Se tomó 1 g de cada muestra y se llevó a 10 mL de Solución Salina Isotónica estéril, de la suspensión resultante se tomó 1 mL y se aforó a 10 mL y así sucesivamente hasta completar una serie de 10 diluciones.

De cada uno de los tubos resultantes se inoculó 0.1 mL en cajas Petri con medios de cultivo Sabouraud y Micosel, las cuales se incubaron a temperatura ambiente durante 4 semanas, durante las cuales se hizo el análisis macro y micromorfológico de las colonias resultantes.

ii) Por centrifugación

De cada muestra se tomó 1 g y se mezcló con 10 mL de PBS suplementado con 50 µg/mL de estreptomina y 100 U/mL de penicilina. Se centrifugó a 300 g durante 5 minutos, se inoculó 0.1 mL del sobrenadante en cajas Petri con medios Sabouraud y BHI. Además se incluyó un duplicado de cada caja al que se adicionaron 3.5 µg de rosa de Bengala para reducir el crecimiento de contaminantes. Todos los medios se incubaron a temperatura ambiente durante 4 semanas, tras las cuales se realizó el estudio macro y micromorfológico de las colonias.

RESIEMBRA DE COLONIAS SOSPECHOSAS

Una vez realizada la identificación macro y micromorfológica de las colonias fúngicas filamentosas, se procedió a resembrar en medio extracto de tierra aquellas que resultaban sospechosas, se incubaron por 10 días a temperatura ambiente, tras lo cual se les practicó un nuevo examen directo, con lo que se confirmó o descartó la identidad de tales colonias.

DIMORFISMO

Se resembraron en agar BHI aquellas colonias cuya identidad correspondía con *Histoplasma capsulatum*, y se incubaron a 37 °C durante 15 días.

ADMINISTRACIÓN DE IDR CON HISTOPLAMINA A LA POBLACIÓN

Población:

Se aplicó el antígeno de histoplasmina a 112 individuos voluntarios habitantes de la zona en estudio, de los cuales 38 fueron niños menores de 15 años, y el resto adultos.

Antígeno:

El antígeno empleado fue histoplasmina micelial estandarizada y aprobada por la Secretaría de Salud, con una dilución 1:2000.

Administración y lectura:

Se inyectaron 0.1 mL del antígeno diluido por vía intradérmica en uno de los antebrazos. La lectura de la prueba se realizó a las 48 hrs después de la aplicación. Se consideró como respuesta positiva la aparición de una pápula (induración) y eritema con un diámetro ≥ 5 mm.

IV. RESULTADOS

a) Monitoreo ambiental

Tras la incubación de las placas de medios Sabouraud y Micosel para el muestreo del medio ambiente en el interior de la cueva se realizó la identificación de las colonias fúngicas filamentosas encontradas. (Gráfica 1)

Tabla 1. Hongos filamentosos aislados tras el monitoreo ambiental del interior de la cueva seleccionada.

#	Especie	Punto de aislamiento
1	<i>Absidia sp</i>	3
2	<i>Alternaria sp</i>	1, 4
3	<i>Aspergillus flavus</i>	1, 7
4	<i>Aspergillus niger</i>	4, 3
5	<i>Aspergillus terreus</i>	1,2,3,4,5,6,7,8
6	<i>Cladosporium sp</i>	3
7	<i>Cunninghamella sp</i>	2
8	<i>Fusarium sp</i>	1, 3
9	<i>Monilia sp</i>	2
10	<i>Mucor sp</i>	1, 2, 5
11	<i>Penicillium sp</i>	1, 2, 3, 6, 7, 8
12	<i>Rhizopus oryzae</i>	2, 3
13	<i>Scopulariopsis sp</i>	6
14	<i>Syncephalastrum sp</i>	5

b) Superficies contaminadas

Después de la incubación de las placas inoculadas con las muestras tomadas de las superficies del interior de la cueva se encontraron las siguientes especies: (Gráfica 2)

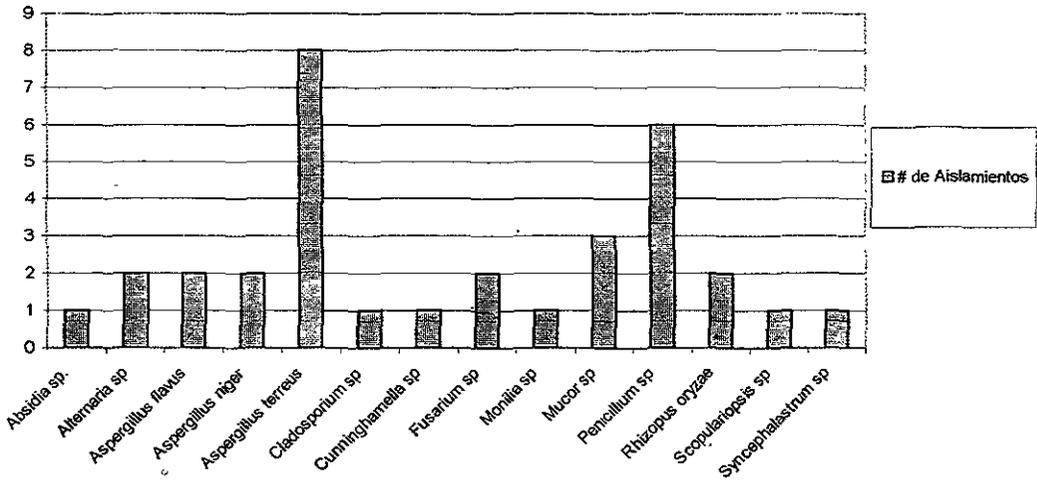
Tabla 2. Hongos filamentosos aislados de superficies contaminadas en el interior de la cueva.		
#	Especie	Punto de aislamiento
1	<i>Aspergillus terreus</i>	5, 6, 8
2	<i>Aspergillus niger</i>	3
3	<i>Fusarium sp</i>	1
4	<i>Monilia sp</i>	1, 2, 3, 4, 6
5	<i>Mucor sp</i>	2, 4, 7
6	<i>Penicillium sp</i>	1, 2, 4, 6, 7, 8
7	<i>Rhizopus oryzae</i>	5

c) De muestras de guano y suelo

i) Técnica de diluciones

Tras la incubación de las placas inoculadas con muestras de guano y suelo diluidas decimalmente, se identificaron las especies fúngicas de las tablas siguientes. (Gráficas 3, 4 y 5)

Gráfica 1. Hongos filamentosos aislados tras el monitoreo ambiental de la cueva



Gráfica 2. Hongos filamentosos aislados de superficies contaminadas

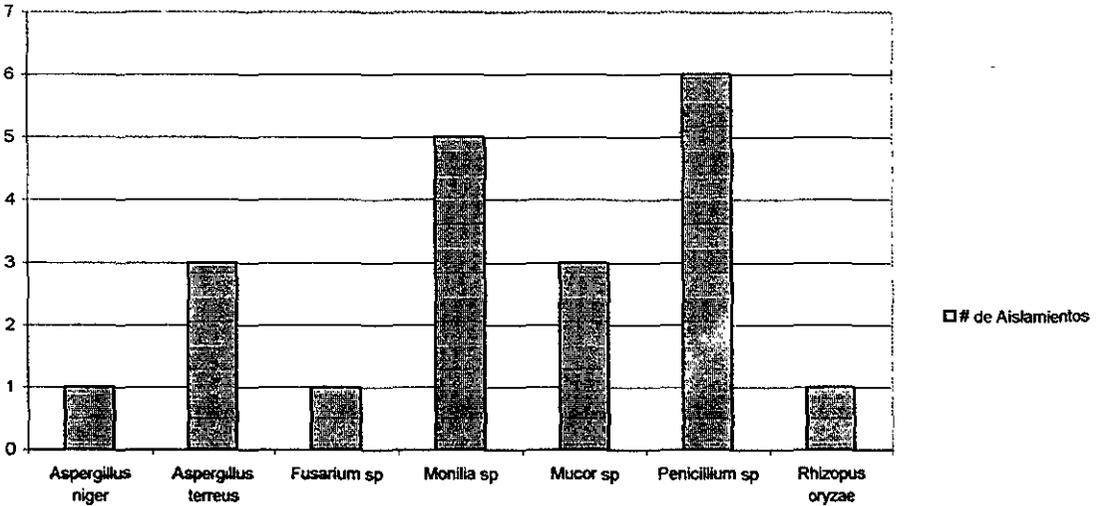


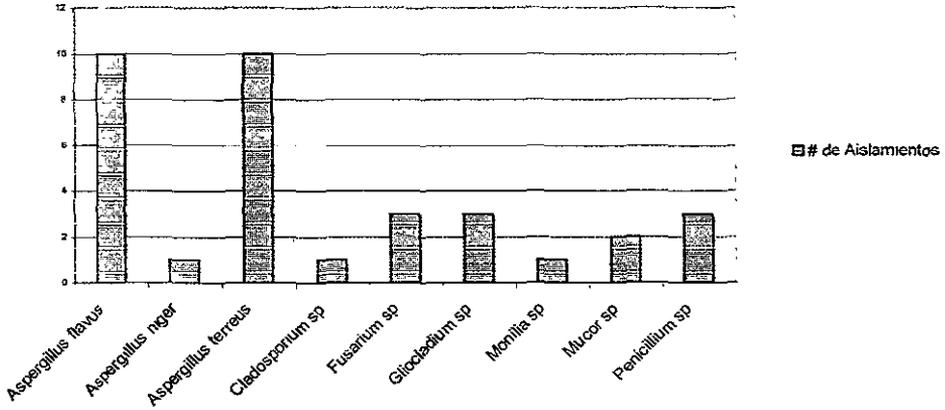
Tabla 3. Hongos filamentosos aislados de la muestra de guano y suelo colectada del punto 3.

#	Especie	Dilución
1	<i>Aspergillus flavus</i>	10^{-1} a 10^{-10}
2	<i>Aspergillus niger</i>	10^{-10}
3	<i>Aspergillus terreus</i>	10^{-1} a 10^{-10}
4	<i>Cladosporium sp</i>	10^{-6}
5	<i>Fusarium sp</i>	10^{-5} , 10^{-9} , 10^{-10}
6	<i>Gliocladium sp</i>	10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9}
7	<i>Monilia sp</i>	10^{-4}
8	<i>Mucor sp</i>	10^{-5} , 10^{-10}
9	<i>Penicillium sp</i>	10^{-5} , 10^{-9} , 10^{-10}

Tabla 4. Hongos filamentosos aislados de la muestra de guano y suelo colectada del punto 4.

#	Especie	Dilución
1	<i>Absidia sp.</i>	10^{-4}
2	<i>Alternaria sp</i>	10^{-10}
3	<i>Aspergillus flavus</i>	10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-8}
4	<i>Aspergillus niger</i>	10^{-1} , 10^{-3}
5	<i>Aspergillus terreus</i>	10^{-1} a 10^{-10}
6	<i>Cladosporium sp</i>	10^{-9}
7	<i>Monilia sp</i>	10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} a 10^{-10}
8	<i>Penicillium sp</i>	10^{-5}

Gráfica 3. Hongos filamentosos aislados de muestras de guano y suelo en el punto 3.



Gráfica 4. Hongos filamentosos aislados de muestra de guano y suelo en el punto 4.

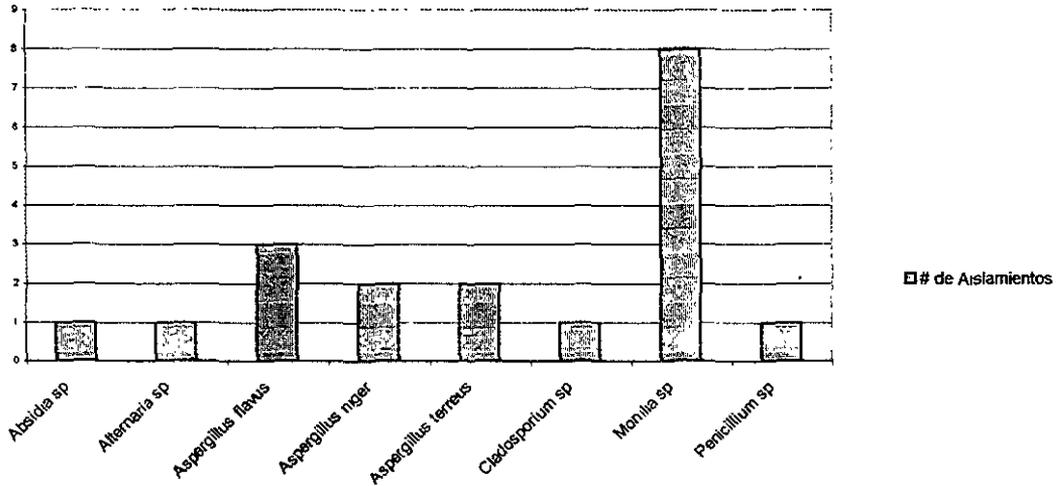


Tabla 5. Hongos filamentosos aislados de la muestra de guano y suelo colectada del punto 8.

#	Especie	Dilución
1	<i>Absidia sp</i>	10^{-5}
2	<i>Aspergillus niger</i>	10^{-9}
3	<i>Aspergillus terreus</i>	10^{-3}
4	<i>Cladosporium sp</i>	10^{-5}
5	<i>Monilia sp</i>	10^{-1} a 10^{-3} , 10^{-7} , 10^{-10}
6	<i>Mucor sp</i>	10^{-3}
7	<i>Paecilomyces sp</i>	10^{-4}
8	<i>Penicillium sp</i>	10^{-1} a 10^{-3} , 10^{-7} , 10^{-8}
9	<i>Scopulariopsis sp</i>	10^{-1}
10	<i>Ulocladium sp</i>	10^{-6} , 10^{-8}

ii) Por centrifugación

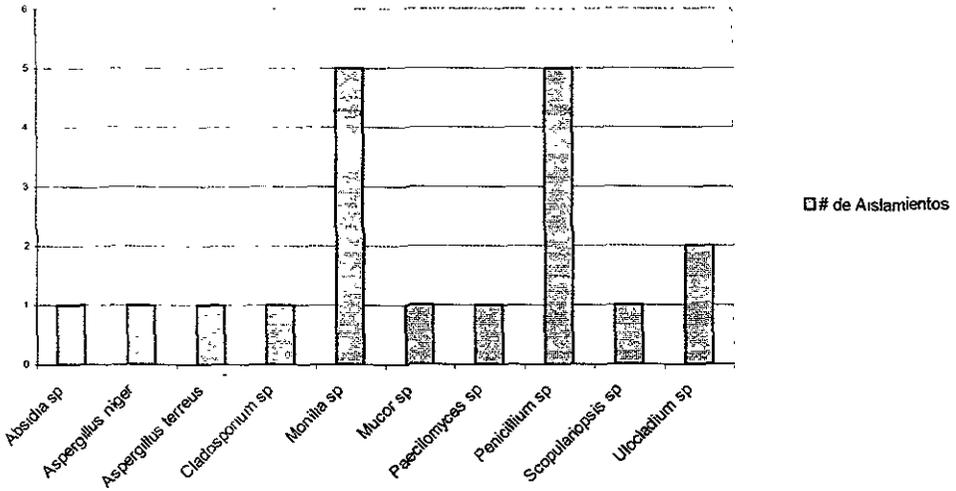
De las placas inoculadas con el sobrenadante obtenido por centrifugación de las muestras de guano y suelo se aislaron las especies fúngicas de la tabla 6.

Tabla 6. Hongos filamentosos aislados mediante centrifugación con antibióticos de las muestras de guano y suelo de los puntos 3, 4 y 8.

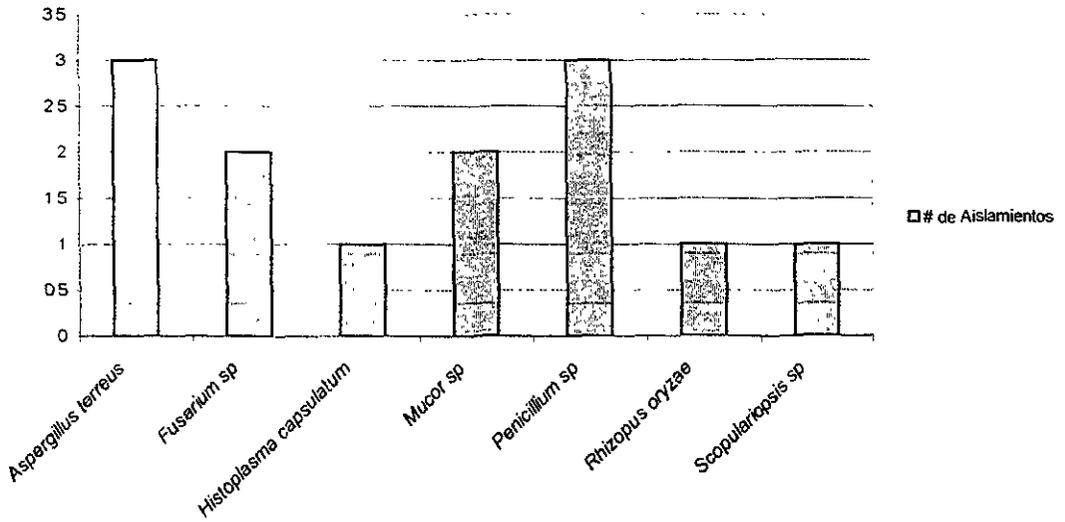
#	Especie	Punto de aislamiento
1	<i>Aspergillus terreus</i>	3, 4, 8
2	<i>Fusarium sp</i>	3, 8
3	<i>Histoplasma capsulatum</i>	4
4	<i>Mucor sp</i>	3, 4
5	<i>Penicillium sp</i>	3, 4, 8
6	<i>Rhizopus oryzae</i>	4
7	<i>Scopulariopsis sp</i>	8

Mediante la técnica de centrifugación con antibióticos se aisló una cepa de *Histoplasma capsulatum* proveniente del punto 4. (Gráfica 6)

Gráfica 5. Hongos filamentosos aislados de muestra de guano y suelo en el punto 8.



Gráfica 6. Hongos filamentosos aislados de las muestras de guano y suelo mediante centrifugación con antibióticos.



Descripción de la colonia

Macromorfología

Anverso

- a) Tamaño: Ilimitado, tiende a cubrir todo el medio.
- b) Color: Blanco a ligeramente beige.
- c) Forma y Aspecto: Aterciopelado

Reverso

- a) Pigmento: No presenta.

Micromorfología

- a) Tipo de micelio: macrosifonado, hialino.
- b) Reproducción asexual: Por medio de microconidias o aleurioconidias que nacen de la hifa, y macroconidias equinuladas con doble pared, características, que nacen de un conidióforo.
- c) Fase sexual: *Emmonsia capsulata* (Kwon-Chung 1972)⁵⁹ o *Ajellomyces capsulatus*. Es un ascomiceto heterotálico que produce cleistotecios con características de la familia *Gymnoascaceae*.

Dimorfismo.

El dimorfismo de la cepa se demostró tras incubar durante 15 días a 37 °C en medio BHI.

Descripción de la colonia

Macromorfología

Anverso

- a) **Tamaño:** Limitado.
- b) **Color:** . Blanco a ligeramente crema.
- c) **Forma y Aspecto:** Húmeda, cremosa, convexa.

Reverso

- a) **Pigmento:** No presenta.

Micromorfología

- a) **Reproducción asexual:** Por gemación.

Frecuencia de aislamiento fúngico.

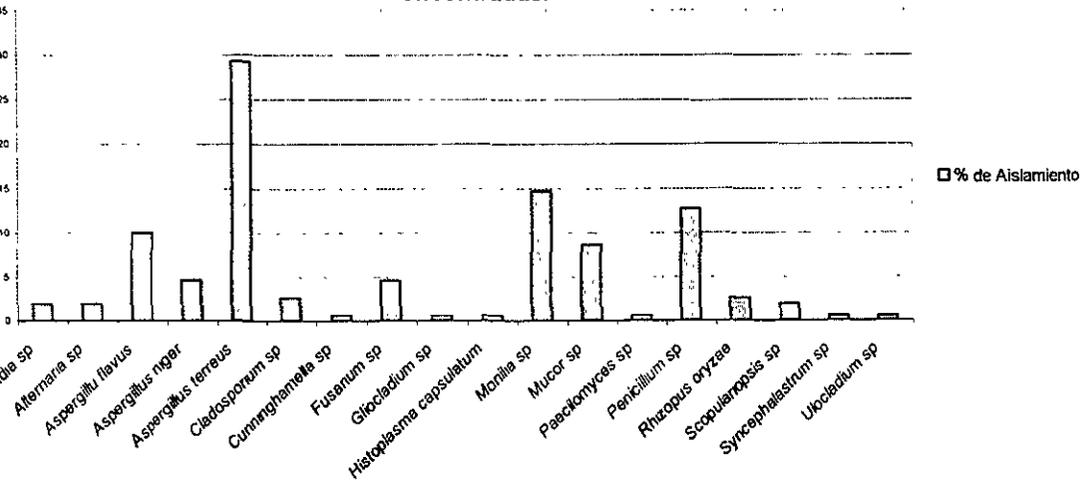
Se aislaron 18 especies fúngicas filamentosas de la totalidad de muestras obtenidas del interior de la cueva en estudio (tabla 7), entre ellas se encontraron hongos Zigomicetos, dematiáceos y otros hialinos de los cuales sobresalió por el gran número de aislamientos la especie *Aspergillus terreus* mientras que otras aparecieron con frecuencia mucho menor como ocurrió con *Histoplasma capsulatum* que únicamente se aisló en una ocasión con una incidencia del 0.66 % (tabla 8, gráfica 7)

	Especie	Número de aislamientos
1	<i>Absidia sp</i>	3
2	<i>Alternaria sp</i>	3
3	<i>Aspergillus flavus</i>	15
4	<i>Aspergillus niger</i>	7
5	<i>Aspergillus terreus</i>	44
6	<i>Cladosporium sp</i>	4
7	<i>Cunninghamella sp</i>	1
8	<i>Fusarium sp</i>	7
9	<i>Glocladium sp</i>	1
10	<i>Histoplasma capsulatum</i>	1
11	<i>Monilia sp</i>	22
12	<i>Mucor sp</i>	13
13	<i>Paecilomyces sp</i>	1
14	<i>Penicillium sp</i>	19
15	<i>Rhizopus oryzae</i>	4
16	<i>Scopulariopsis sp</i>	3
17	<i>Syncephalastrum sp</i>	1
18	<i>Ulocladium sp</i>	1
	Total	150

Tabla 8. Porcentaje de aislamiento con respecto a las especies aisladas

#	Especie	Porcentaje (%)
1	<i>Absidia sp</i>	2.00
2	<i>Alternaria sp</i>	2.00
3	<i>Aspergillus flavus</i>	10.00
4	<i>Aspergillus niger</i>	4.67
5	<i>Aspergillus terreus</i>	29.33
6	<i>Cladosporium sp</i>	2.67
7	<i>Cunninghamella sp</i>	0.66
8	<i>Fusarium sp</i>	4.67
9	<i>Glocladium sp</i>	0.66
10	<i>Histoplasma capsulatum</i>	0.66
11	<i>Monilia sp</i>	14.67
12	<i>Mucor sp</i>	8.67
13	<i>Paecilomyces sp</i>	0.66
14	<i>Penicillium sp</i>	12.67
15	<i>Rhizopus oryzae</i>	2.67
16	<i>Scopulariopsis sp</i>	2.00
17	<i>Syncephalastrum sp</i>	0.66
18	<i>Ulocladium sp</i>	0.66

Gráfica 7. Porcentaje de aislamiento de las diferentes especies fúngicas encontradas.



Determinación de la frecuencia de reactores positivos a histoplasmina.

48 horas después de la administración de la intradermorreacción con histoplasmina se realizaron las lecturas de las pruebas a los individuos voluntarios de la zona aledaña a la cueva en estudio, esta vez acudieron 89 de los 112 individuos iniciales, entre ellos se encontraban niños menores de 15 años y adultos (tabla 9, gráfica 8)

Tabla 9. Reactores positivos a la histoplasmina en relación a la edad.

GRUPO	# INDIVIDUOS	# REACTORES POSITIVOS	%
Niños < 15 años	32	18	56.25
Adultos > 15 años	57	21	36.84
Total	89	39	43.82

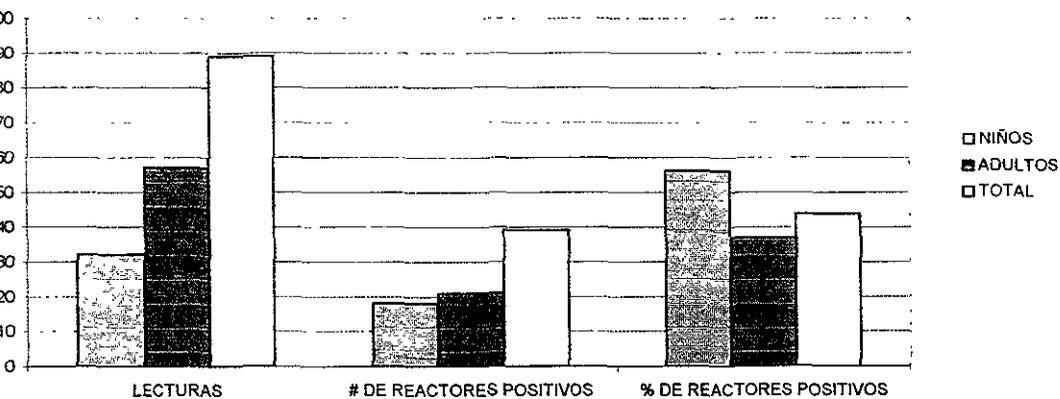
Dentro de la población en estudio se encontraron 4 casos de individuos hiperérgicos con respuesta de más de tres centímetros de pápula (induración) y eritema, de los cuales 3 fueron niños y 1 adulto de 19 años, además se reportaron algunos malestares como fiebre y vómito entre los infantes de este estudio.

De entre los adultos positivos a la prueba se observó una relación de 2 hombres por una mujer (tabla 10, gráfica 9)

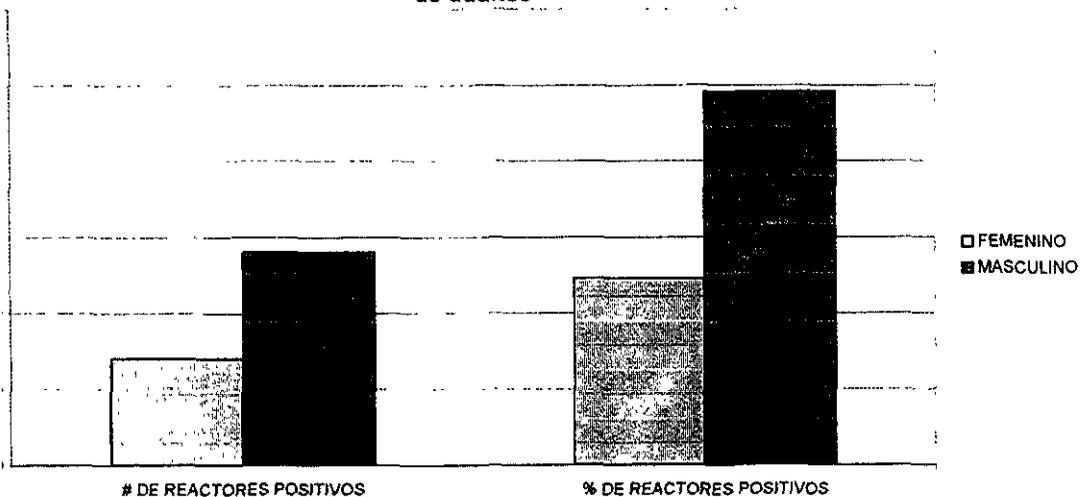
Tabla 10. Reactores positivos a la histoplasmina dentro del grupo de adultos en relación al sexo.

SEXO	# REACTORES POSITIVOS	%
Femenino	7	12.28
Masculino	14	24.56

Gráfica 8. Reactores positivos a la histoplasmina en relación a la edad.



Gráfica 9. Reactores positivos a la histoplasmina en relación al sexo dentro del grupo de adultos



V. DISCUSIÓN.

El diagnóstico de histoplasmosis en pacientes que reportaron el ingreso a cuevas de la zona ecoturística de Carrizal, en el estado de Veracruz, nos hizo pensar que la población circundante al sistema de cuevas de este lugar estaba en riesgo para la adquisición de la enfermedad, así como para el primocontacto con el hongo, principalmente si dentro de la población se encontraban individuos realizando actividades relacionadas con el hábitat de *Histoplasma capsulatum*.

Para la realización del presente trabajo se localizaron algunas de las cuevas de la zona. De éstas se eligió una, cuya ubicación, a un lado de uno de los caminos principales, le brinda una gran accesibilidad para el ingreso de la población tanto animal como humana, que vive en los alrededores y que le da uso de refugio y centro de reunión, a pesar de la colonia de murciélagos que habita en su interior.

Las cuevas detectadas alrededor de la elegida mostraban diferentes características de ubicación y accesibilidad lo cual las hacía más difíciles de ingresar, ya sea por necesidad de equipo especial, como el usado para el rapeleo o bien porque las entradas se encontraban en sitios altos u ocultos por la maleza, o por ser muy estrechas para el ingreso humano, lo que restringe el acceso a la población en general, aunque no lo impide del todo para los individuos que practican el ecoturismo y cuentan con equipo e intenciones para realizarlo.

Se encontró que las condiciones en el interior de la cueva corresponden a una temperatura de entre 25 y 30 °C, una humedad relativa de entre 60 y 90 % que junto con los depósitos de guano, los cuales fungen como fuente de nitrógeno para el hongo y cuyo pH resultó ser de 9, coinciden con las condiciones reportadas en la literatura.^{5,14,17}

Se aisló una cepa de *Histoplasma capsulatum* la cual corresponde a una cepa A, cuya morfología es aterciopelada, de color blanco a ligeramente beige, y que presenta una gran cantidad de macroconidias equinuladas en el examen directo después de ser cultivada en medio extracto de tierra.

Se observó que a pesar del uso de diferentes técnicas, sólo con una de ellas se logró el objetivo de aislar a *Histoplasma capsulatum* del lugar.

La técnica de monitoreo ambiental indicó la diversidad fúngica encontrada en el interior de la cueva, permitiendo constatar la influencia de las corrientes de aire tanto en el tipo de flora microbiana como en la concentración de la misma, cabe mencionar que además de las especies fúngicas filamentosas reportadas en este trabajo se encontraron colonias bacterianas, de levaduras y actinomicetos, algunos de ellos productores de metabolitos inhibidores del crecimiento de otras especies que a pesar de que no fueron identificadas forman parte del hábitat de *Histoplasma capsulatum* en esta particular ubicación, primordialmente en las entradas, donde dichas corrientes de aire combinan la flora externa a la cueva con la interna.

El muestreo de superficies contaminadas con guano en el interior de la cueva mostró las especies que aparecieron con mayor frecuencia durante el estudio, lo que hace pensar en una mayor concentración de conidias de estas especies en el ambiente, así como en una mejor adaptabilidad y competitividad de las mismas.

Las muestras colectadas de los depósitos de guano se trataron por dos técnicas diferentes, la primera de ellas, la de diluciones decimales, había mostrado previamente su efectividad en el aislamiento de *Sporothrix schenckii* del medio ambiente, en un trabajo también realizado en el Laboratorio de Micología de la Unidad de Dermatología del Hospital General de México,⁶² sin embargo, no fue lo suficientemente eficaz como para lograr el aislamiento de *Histoplasma capsulatum*. No obstante lo anterior, demostró la ubicación de las diferentes especies en los puntos del interior de la cueva, señalando la ubicuidad de algunas de ellas con respecto a las otras.

La segunda técnica, la de centrifugación con antibióticos, ha sido reportada como específica para el aislamiento de *Histoplasma capsulatum* por el grupo de Taylor y cols.^{12,13,14} En ésta la adición de penicilina, estreptomycinina y rosa de bengala, inhibe el crecimiento de un gran número de contaminantes que, en las otras técnicas, pudieran interferir con el crecimiento de *Histoplasma capsulatum* y con lo cual se disminuye la competencia por nutrientes y el crecimiento de las especies poco competitivas se ve favorecido.

Las diferentes técnicas empleadas revelaron la existencia de al menos 18 especies fúngicas filamentosas, de las cuales *Histoplasma capsulatum* es evidentemente patógeno, tanto para el humano como para otros mamíferos, otras como *Aspergillus niger*, *Fusarium sp*, *Mucor sp* y *Rhizopus oryzae*, son potencialmente patógenas, principalmente para individuos inmunocomprometidos, y otras inocuas como es el caso de *Monilia sp*.

Con los resultados obtenidos se puede aceptar que el ingreso, al menos a la cueva estudiada, es potencialmente riesgoso para la adquisición de histoplasmosis, a pesar de la baja concentración en que se encuentra este hongo con respecto a otras especies, la cual es sin embargo, suficiente para ocasionar el primocontacto y

elevar el índice de individuos con reactividad cutánea positiva hacia la histoplasmina administrada.

La administración de histoplasmina a individuos voluntarios habitantes de la zona demostró la existencia de un porcentaje considerable de reactores positivos (43.89 %). Fue digno de llamar la atención, la incidencia entre niños menores de 15 años que resultó ser más alta que entre los adultos (53.25 % contra 36.89 %), además de la detección de tres casos de infantes hiperérgicos, con una respuesta mayor a los tres centímetros, que en conjunto con los malestares reportados entre algunos de ellos, como fueron vómito y fiebre, hace evidente la mayor susceptibilidad de este grupo poblacional con respecto al grupo de adultos.

En cuanto al grupo de adultos, se observó una relación de dos hombres por cada mujer con respuesta positiva, lo cual no sólo concuerda con la mayor incidencia entre varones en relación a la reportada para mujeres en la literatura,¹³ sino que además se asocia a las actividades ocupacionales, las cuales según se pudo constatar durante este estudio son primordialmente, el campo entre los varones y el hogar o el comercio entre las mujeres. Lo anterior permite la observación de un mayor riesgo para los hombres quienes al estar desarrollando sus labores, ingresan al hábitat de *Histoplasma capsulatum*, usándolo como refugio contra las inclemencias del clima, cosa que no sucede con frecuencia con las mujeres.

Otro aspecto, que aunque en menor grado, promueve la infección con histoplasmosis es la difusión que este sitio tiene en diversos medios de comunicación como lo es el Internet, lo cual hace aún más importante el señalar esta zona como endémica para histoplasmosis con el fin de que los pobladores del lugar tomen medidas precautorias cuando tengan la necesidad de ingresar a alguna de las cuevas, y que los visitantes procuren sustituir el ingreso a cuevas por alguna otra de las tantas actividades que este lugar ofrece.

VI. CONCLUSIONES

La histoplasmosis es un padecimiento que ha ido adquiriendo mayor importancia con el paso del tiempo convirtiéndose en la micosis respiratoria más común del mundo. Su asociación con el Virus de Inmunodeficiencia Humana la han colocado entre las infecciones que más se encuentran en los individuos afectados por este virus.

El surgimiento de tratamientos contra la histoplasmosis epidémica como es el caso del itraconazol ha permitido el control de la enfermedad en un gran número de pacientes alrededor del mundo, incluso en pacientes de VIH-SIDA, además de no ser tóxico. Por otro lado no se ha descartado el uso de la anfotericina B, a pesar de su enorme toxicidad, pues sigue siendo la elección en los casos más graves, y su nueva presentación en liposomas promete hacerla mucho más efectiva y disminuir sus efectos colaterales.

Histoplasma capsulatum comparte hábitat con una enorme variedad de especies fúngicas, bacterianas y de parásitos que interactúan y compiten por nutrientes. Al ser poco competitivo *Histoplasma capsulatum* crece en mucho menor grado que otros hongos filamentosos asociados con el suelo, como es el caso de *Aspergillus terreus*.

La exposición a este hongo patógeno es un riesgo inherente a ciertas ocupaciones, razón por la cual los varones, quienes al realizar actividades relacionadas con el campo, ingresan al hábitat del hongo, son los que en su

mayoría presentan reactividad positiva hacia la histoplasmina con respecto a las mujeres.

Por otro lado, en los niños, los cuales son más susceptibles a la enfermedad, aparece también una alta incidencia de reactividad positiva, incluso mayor que la encontrada en los adultos, además de mostrar efectos colaterales a la administración de histoplasmina, como lo son la fiebre y el vómito, cosa que no sucede en adultos.

La reciente difusión de las actividades ecoturísticas, como las ofrecidas por el Carrizal, puede favorecer un incremento en la tasa de primocontactos con *Histoplasma capsulatum*, o en el peor de los casos, representar la aparición de brotes epidémicos de histoplasmosis, preferentemente en su variedad pulmonar primaria.

Esto hace apremiante el trazar un mapa epidemiológico preciso para la histoplasmosis en nuestro país, con el fin de tomar medidas precautorias, o bien evitar lo más posible el ingreso al hábitat del hongo.

Finalmente, con base en los resultados obtenidos en este trabajo, se puede concluir que el diagnóstico de histoplasmosis en pacientes, aunado al aislamiento de *Histoplasma capsulatum* de las muestras de guano colectadas en el interior de una de las cuevas que se localizan en los alrededores de la zona ecoturística de Carrizal en el estado de Veracruz, así como la presencia de un número importante de individuos, habitantes del lugar, con reactividad positiva hacia el antígeno de la histoplasmina (43.89 %), son hechos irrefutables que nos permiten señalar esta zona en específico como endémica para histoplasmosis.

VII. APÉNDICES

APÉNDICE A: MEDIOS DE CULTIVO.

1) AGAR DEXTROSA SABOURAUD (SABOURAUD SIMPLE)

Es un medio utilizado para el aislamiento, identificación y mantenimiento de la gran mayoría de los hongos patógenos.

Peptona	10 g
Glucosa	20 g
Agar	20 g
Agua destilada	1000 mL

Disolver los ingredientes en el agua. Dejar reposar durante 10 minutos. Ajustar el pH a 5.6 y esterilizar por 15 minutos a 121° C.

2) MEDIO DE CULTIVO PARA HONGOS CON ANTIBIÓTICO MICOSEL O AGAR MICOBIÓTICO

Peptona	10 g
Glucosa	10 g
Agar	15.5 g
Cicloheximida	0.4 g
Cloramfenicol	0.05 g
Agua	1000 mL

Disolver los ingredientes en el agua. Dejar reposar durante 10 minutos. Cuando el medio haya hervido por 1 o 2 minutos agregar los antibióticos, la cicloheximida se agrega en 1 mL de acetona y el cloramfenicol en 1 mL de alcohol etílico. Ajustar el pH a 6.5 y esterilizar por 15 minutos a 121° C.

3) AGAR EXTRACTO DE TIERRA (PARA MANTENIMIENTO DE *Histoplasma capsulatum*).

Tierra	500 g
Glucosa	2 g
Extracto de levadura	1 g
Fosfato de potasio	0.5 g
Agar	15 g
Agua de la llave	1000 mL

Mezclar 500 g de tierra de jardín y 1 L de agua de la llave. Esterilizar a 15 lb durante 3 hrs. Filtrar a través de papel filtro (Whatman No. 2).

Preparación de la infusión de tierra.

Añadir los ingredientes y llevar a un volumen de 1000 ml. Llevar a ebullición. Vaciar en tubos de ensaye. Esterilizar a 15 lb durante 15 minutos. Inclinar los tubos.

4) AGAR INFUSIÓN CEREBRO CORAZÓN

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

Esterilizar en autoclave a 121° C durante 15 minutos. Ajustar el pH 7.4

APÉNDICE B: REACTIVOS y COLORANTES.

1) SOLUCIÓN SALINA ISOTÓNICA

Agua destilada	100 ml
Cloruro de Sodio	4 g

2) SOLUCIÓN SALINA AMORTIGUADA CON FOSFATOS (PBS)

PH 7.2 a 25 ° C	
NaCl	150 mM
Na ₂ PO ₃	150 mM

3) SOLUCIÓN DE KOH AL 10 %

KOH	10 g
Agua destilada	100 mL

4) AZUL DE LACTOFENOL

Azul de algodón (de anilina)	0.05 g
Glicerol	40 mL
Fenol (cristales)	20 g
Ácido láctico	20 mL
Agua destilada	20 mL

Preparación: disolver el fenol en ácido láctico, posteriormente se agrega agua y glicerol, calentando ligeramente; por último se adiciona el azul de algodón.

5) CRISTAL VIOLETA

SOLUCIÓN A	
Cristal violeta	2 g
Alcohol etílico (95%)	20 mL
SOLUCIÓN B	
Oxalato de amonio	0.9 g
Agua destilada	80 mL

Preparación: mezclar las soluciones A y B, dejar reposar por 24 hrs. , filtrar.

6) LUGOL

Yoduro de Potasio	1 g
Cristales de yodo	1.5 g
Agua destilada	100 mL

7) ERITROCINA

Eritrocina	1 g
Alcohol etílico	1 mL
Agua destilada	98 mL

Preparación: disolver el colorante en el alcohol etílico, agregar el agua destilada.

8) SAFRANINA.

SOLUCIÓN A	
Safranina O	25 g
Alcohol etílico	100 mL
SOLUCIÓN B	
Solución A	10 mL
Agua destilada	90 mL

APÉNDICE C: TÉCNICAS Y TINCCIONES.

1) EXAMEN DIRECTO CON CINTA ADHESIVA TRANSPARENTE.

- Esterilizar a la flama el asa micrológica y dejar enfriar.
- Pegar al asa micrológica un fragmento de cinta adhesiva transparente.
- Introducir el asa con la cinta en el tubo o caja Petri, hasta tocar la colonia a investigar por la parte adhesiva de la cinta.
- Desprender el fragmento de cinta adhesiva, con ayuda de una aguja de disección, sobre un portaobjetos con una gota de colorante (azul de lactofenol o lugol)
- Colocar un agota del mismo colorante sobre la cinta y posteriormente poner un cubreobjetos.
- Si se quiere sellar la preparación, se coloca alrededor del cubreobjeto barniz de uñas.

2) SIEMBRA DE MICROCULTIVOS.

Material: Cajas Petri estériles con dos portaobjetos y un triángulo de vidrio cada una; medio de cultivo en caja Petri (Agar extracto de Tierra).

- a) Fragmentar con ayuda de un bisturí el medio de cultivo en cuadros de aproximadamente 1.5 X 1.5 cm.
- b) Colocar uno o dos cubos del medio fragmentado en uno de los portaobjetos.
- c) Sembrar el hongo a estudiar por los cuatro lados del medio de cultivo.
- d) Colocar el segundo portaobjetos sobre el medio de cultivo.
- e) Agregar a la caja Petri de 10 a 15 mL de agua glicerinada estéril al 10 %.
- f) Sellar la caja Petri con cinta adhesiva.
- g) Incubar de 10 a 15 días.
- h) Realizar una tinción especial para microcultivo.

3) TINCIÓN DE MICROCULTIVOS CON ERITROCINA.

- a) Retirar el exceso de agar con ayuda de un bisturí.
- b) Fijar la preparación con metanol hasta evaporación.
- c) Teñir con eritrocina durante 10 a 15 minutos en emisiones de baño de agua o por calentamiento directo a la flama.
- d) Retirar el exceso de colorante con etanol.
- e) Depositar en baño de acetona por 10 minutos.
- f) Depositar en baño de xilol-acetona (1:2) durante 10 minutos.
- g) Baño de xilol 10 minutos.
- h) Montar la laminilla con bálsamo de Canadá.

4) TINCIÓN DE GRAM.

- a) Fijar la preparación directamente a la flama.
- b) Teñir con cristal violeta por 1 minuto.
- c) Lavar ligeramente con agua destilada.
- d) Cubrir la preparación con lugol por 1 minuto.
- e) Lavar ligeramente con agua destilada.
- f) Decolorar con alcohol-acetona.
- g) Teñir de contraste con safranina por 1 minuto.
- h) Lavar ligeramente con agua destilada y dejar secar.

APÉNDICE D: HONGOS CONTAMINANTES.

A continuación se describen los hongos contaminantes que se aislaron con mayor frecuencia durante el desarrollo de este trabajo.

Hongos Zigomicetos.

Rhizopus sp.

Macromorfología

Anverso

- a) Tamaño: Ilimitado, tiende a llenar los tubos y cajas Petri.
- b) Color: En los primeros 3 días es blanco, posteriormente se torna gris oscuro.
- c) Forma y Aspecto: Velloso-algodonoso, seco.

Reverso

- a) Pigmento: No presenta.

Micromorfología

- a) Tipo de micelio: Macrosifonado de aproximadamente 5-10 μm de diámetro, hialino, cenocítico.
- b) Modalidad de micelio: Presenta rizoides y estolones.
- c) Reproducción asexual: Es por esporangiosporas o endosporas redondas que miden de 6-8 μm de diámetro.
- d) Estructuras especializadas: Presenta esporangióforos largos que nunca se ramifican. Tiene una columnela pequeña en forma ovoide. El esporangio llega a medir de 100-200 μm de diámetro.
- e) Fase sexual: Por medio de zigosporas.

Mucor sp.

Macromorfología

Anverso

- a) Tamaño: Ilimitado, tiende a llenar los tubos y cajas Petri.
- b) Color: Los primeros 3 días es blanco, después se torna blanco-grisáceo.
- c) Forma y Aspecto: Velloso-algodonoso, seco.

Reverso

- a) Pigmento: No presenta.

Micromorfología

- a) Tipo de micelio: Macrosifonado de aproximadamente 4-8 μm de diámetro, hialino y cenocítico.
- b) Reproducción asexual: A base de esporangiosporas o endosporas redondas de 3-5 μm de diámetro.
- c) Estructuras especializadas: Presenta esporangióforos ramificados. El esporangio llega a medir 20-80 μm de diámetro. Tiene columnela pequeña ovoide.
- d) Fase sexual: Por medio de zigosporas.

***Absidia* sp.**

Macromorfología

Anverso

- a) **Tamaño:** Ilimitado, tiende a llenar tubos y cajas Petri.
- b) **Color:** Los primeros 3 días es blanco, posteriormente toma una tonalidad blanco-grisácea.
- c) **Forma y Aspecto:** Velloso-algodonoso.

Reverso

- a) **Pigmento:** No presenta.

Micromorfología

- a) **Tipo de micelio:** Macrosifonado de aproximadamente 4-8 μm de diámetro, hialino y cenocítico.
- b) **Modalidad de micelio:** Raras veces presenta rizoides rudimentarios.
- c) **Reproducción asexual:** Por esporangiosporas o endosporas redondas de 2-4 μm de diámetro.
- d) **Estructuras especializadas:** Presenta esporangióforos largos; lo característico es la columnela que es grande en forma de pera. El esporangio es redondo y mide 10-70 μm de diámetro.
- e) **Fase sexual:** Por medio de zigosporas.

Cunninghamella sp.

Macromorfología

Anverso

- a) **Tamaño:** Ilimitada, tiende a llenar los tubos y cajas Petri.
- b) **Color:** Los primeros días es blanco, posteriormente toma una tonalidad blanco-grisácea.
- c) **Forma y Aspecto:** Velloso-algodonoso, seco.

Reverso

- a) **Pigmento:** No presenta.

Micromorfología

- a) **Tipo de micelio:** Macrosifonado de aproximadamente 3-7 μm de diámetro, hialino y cenocítico.
- b) **Modalidad de micelio:** Raras veces presenta hifas pectinadas.
- c) **Reproducción asexual:** Por esporangiosporas redondas, cuando están internas miden 2-4 μm y al liberarse son de 8-12 μm de diámetro.
- d) **Estructuras especializadas:** Presenta esporangióforos, columnela ovoide y pequeña. Lo característico es su esporangio, mide 20-50 μm de diámetro y es espiculado, cuando alcanza la madurez toma el aspecto de una "flor de margarita".
- e) **Fase sexual:** Por medio de zigosporas.

Sycephalastrum sp.

Macromorfología

Anverso

- a) Tamaño: Ilimitado, tiende a llenar los tubos y las cajas Petri.
- b) Color: En un inicio es blanco, después se torna blanco-grisáceo.
- c) Forma y Aspecto: Velloso-algodonoso.

Reverso

- a) Pigmento: No presenta.

Micromorfología

- a) Tipo de micelio: Macrosifonado de aproximadamente 4-8 μm de diámetro hialino y cenocítico.
- b) Reproducción asexual: Por esporangiosporas tubulares en forma de "bastos"; son septadas y miden 8-12 μm de largo por 2-4 μm de ancho.
- c) Estructuras especializadas: Tiene esporangióforos largos que terminan en una vesícula de aproximadamente 20-30 μm de diámetro de donde nacen las esporangiosporas tubulares.
- d) Fase sexual: Por medio de zigosporas.
- e) Es un hongo que se confunde fácilmente con *Aspergillus sp.*

Hongos Filamentosos Hialinos.

Penicillium sp.

Macromorfología

Anverso

- a) Tamaño: Ilimitado, ocupa todo el medio de cultivo.
- b) Color: Verde con un halo blanquecino en la periferia.
- c) Forma y Aspecto: Plana, polvosa, aterciopelada.

Reverso

- a) Pigmento: La mayoría de cepas no presenta.

Micromorfología

- a) Tipo de micelio: Macrosifonado, 2-4 μm de diámetro, hialino y septado.
- b) Reproducción asexual: Por microconidias redondas de 1-3 μm de diámetro.
- c) Estructuras especializadas: Presenta conidióforos de 5-10 μm de largo y esterigmas de 3-6 μm de diámetro.
- d) Fase sexual: La mayoría de las especies son asexuadas.

Aspergillus niger.

Macromorfología

Anverso

- a) Tamaño: Ilimitado, tiende a cubrir todo el medio.
- b) Color: Al inicio forma una colonia blanca-amarillenta y posteriormente se torna negra.
- c) Forma y Aspecto: Pulverulenta.

Reverso

- a) Pigmento: No presenta.

Micromorfología

- a) Tipo de micelio: Nutritivo: es macrosifonado de 2-4 μm , hialino y septado.
Reproductivo: macrosifonado de 4-8 μm de diámetro, hialino y generalmente cenocítico.
- b) Reproducción asexual: A base de microconidias redondas o elípticas de 2-5 μm de diámetro.
- c) Estructuras especializadas: La cabeza aspergilar mide 80-100 μm de diámetro y está compuesta por conidióforos largos de 100-200 μm , vesícula redonda de 10-15 μm , de donde nacen alrededor y en ángulo de 360° dos series de esterigmas.
- d) Fase sexual: No ha sido reportada.

Aspergillus flavus.

Macromorfología

Anverso

- a) Tamaño: Ilimitado, tiende a cubrir todo el medio.
- b) Color: Verde-amarillento, con halo micelial blanco.
- c) Forma y Aspecto: Plana, polvosa, aterciopelada.

Reverso

- a) Pigmento: No presenta.

Micromorfología

- a) Tipo de micelio: Macrosifonado de 2-4 μm de diámetro, hialino y septado.
- b) Reproducción asexual: A base de microconidias redondas de 2-3 μm de diámetro.
- c) Estructuras especializadas: La cabeza aspergilar mide de 100-200 μm de diámetro, está compuesta por conidióforos largos de 80-100 μm , vesícula redonda de 20 μm de donde nacen en ángulo de 360° dos series de esterigmas.
- d) Fase sexual: No ha sido reportada.

Aspergillus terreus.

Macromorfología

Anverso

- a) Tamaño: Ilimitado, tiende a cubrir todo el medio.
- b) Color: En un inicio es blanca y posteriormente toma un color beige.
- c) Forma y Aspecto: Plana, granulosa o pulverulenta.

Reverso

- a) Pigmento: No presenta.

Micromorfología

- a) Tipo de micelio: Macrosifonado de 2-4 μm de diámetro, hialino y tabicado.
- b) Reproducción asexual: A base de microconidias redondas de 2-3 μm de diámetro.
- c) Estructuras especializadas: La cabeza aspergilar mide 40-60 μm de diámetro, está compuesta por conidióforos largos de 80-100 μm , vesículas redondas de 20 μm de diámetro de donde nacen en ángulo de 180° dos series de esterigmas.
- d) Fase sexual: No se ha reportado.

Scopulariopsis sp.

Macromorfología

Anverso

- a) Tamaño: Ilimitado, tiende a cubrir todo el medio.
- b) Color: En un inicio es blanca y posteriormente se torna beige.
- c) Forma y Aspecto: Aterciopelada, polvosa, seca, cerebriforme.

Reverso

- a) Pigmento: No presenta.

Micromorfología

- a) Tipo de micelio: Macrosifonado de 3-5 μm de diámetro, hialino y septado.
- b) Reproducción asexual: Por microconidias redondas y espiculadas de 4-6 μm de diámetro.
- c) Estructuras especializadas: Tiene conidióforos cortos y esterigmas de 1-4 μm de diámetro.
- d) Fase sexual: No ha sido reportada.

Fusarium sp.

Macromorfología

Anverso

- a) **Tamaño:** Ilimitado, tiende a cubrir todo el medio.
- b) **Color:** En un inicio es blanca posteriormente se torna naranja o lila.
- c) **Forma y Aspecto:** Velloso, seca.

Reverso

- a) **Pigmento:** Presenta color naranja o violeta difusible al medio.

Micromorfología

- a) **Tipo de micelio:** Macrosifonado de 1-2 μm de diámetro, hialino, septado.
- b) **Modalidad de micelio:** En ocasiones se organiza en coremium.
- c) **Reproducción asexual:** A base de macroconidias fusiformes de 5-8 μm de largo por 1-2 μm de ancho y microconidias fusiformes de 1-3 μm de largo por 1 μm de ancho.
- d) **Estructuras especializadas:** Presenta conidióforos delgados de 5-10 μm de largo.
- e) **Fase sexual:** No se ha reportado.

Monilia sp.

Macromorfología

Anverso

- a) Tamaño: Ilimitado tiende a cubrir todo el medio.
- b) Color: Amarillo-naranja; algunas cepas son blanco-amarillentas.
- c) Forma y Aspecto: Velloso, polvoso y seco.

Reverso

- a) Pigmento: Naranja poco difusible.

Micromorfología

- a) Tipo de micelio: Macrosifonado de 4-8 μm hialino y tabicado; presenta membrana gruesa refringente.
- b) Reproducción asexual: A base de artroconidias de 4-6 μm con membrana gruesa y refringente, blastoconidias y artroblastoconidias.
- c) Fase sexual: No ha sido reportada.

Hongos Filamentosos Dematiáceos.

Alternaria sp.

Macromorfología

Anverso

- a) Tamaño: Ilimitado, tiende a cubrir todo el medio.
- b) Color: Color negro con tonalidades café oscuro.
- c) Forma y Aspecto: Plana, aterciopelada, seca.

Reverso

- a) Pigmento: Café oscuro difusible.

Micromorfología

- a) Tipo de micelio: Macrosifonado, de 2-4 μm de diámetro, oscuro y septado.
- b) Modalidad de micelio: Algunas cepas forman cuerpos nodulares.
- c) Reproducción asexual: Por dictioconidias de 10-20 μm de largo por 5-8 μm de ancho, dispuestas en cadenas.
- d) Fase sexual: No se ha reportado.

Ulocladium sp.

Macromorfología

Anverso

- a) Tamaño: Ilimitado, cubre todo el medio.
- b) Color: Negro con tonalidades café.
- c) Forma y Aspecto: Plana, seca, aterciopelada, con algunos surcos.

Reverso

- a) Pigmento: Café oscuro difusible.

Micromorfología

- a) Tipo de micelio: Macrosifonado de 2-4 μm de diámetro, septado y oscuro.
- b) Modalidad de micelio: Algunas cepas presentan cuerpos nodulares.
- c) Reproducción asexual: Por dictioconidias independientes, de 8-15 μm de largo por 3-5 μm de ancho.
- d) Fase sexual: No se ha reportado.
- e) Otras: Las colonias son similares a las de *Alternaria sp.*, pero las dictioconidias con más pequeñas, redondeadas y nunca se disponen en cadenas.

Cladosporium sp.

Macromorfología

Anverso

- a) Tamaño: Ilimitado, cubre todo el medio.
- b) Color: Verde oscuro.
- c) Forma y Aspecto: Plana, seca, aterciopelada, con algunos surcos.

Reverso

- a) Pigmento: Negro difusible.

Micromorfología

- a) Tipo de micelio: Macrosifonado de 2-4 μm de diámetro, septado y oscuro.
- b) Modalidad de micelio: Algunas cepas presentan cuerpos nodulares.
- c) Reproducción asexual: Por microconidias dispuestas en hormodendrum corto.
- d) Estructuras especializadas: Conidióforo corto.
- e) Fase sexual: No se ha reportado.

APÉNDICE E: FÁRMACOS EMPLEADOS EN EL TRATAMIENTO DE LA HISTOPLASMOSIS.

La terapia sistémica es sumamente útil en el tratamiento de las micosis profundas, como es el caso de la histoplasmosis; sin embargo, también puede generar reacciones adversas como problemas gástricos, teratogénicos, nefrotóxicos y hepáticos.¹

POLIENOS

Anfotericina B

Es un macrólido poliénico, que contiene 7 dobles ligaduras conjugadas, es sintetizada por *Streptomyces nodosus*, es insoluble en agua por lo que para su uso por administración intravenosa (IV) se prepara en complejos de desoxicolato, una sal biliar. La adición de electrolitos a la solución para venoclisis causa agregación, por lo cual no debe administrarse.

La anfotericina B ha tenido utilidad clínica contra especies de *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitides*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, especies de *Aspergillus*, *Penicillium marneffeii* y los agentes de la mucormicosis. Por otra parte, posee escasa actividad contra *Leishmania brasiliensis* y *Naegleria fowleri*, así como nula actividad antibacteriana.⁵⁶

Su mecanismo de acción se basa en la unión a la fracción colesterol, en particular al ergosterol, que está en la membrana de los hongos sensibles, donde forma poros, resultando en un aumento en la permeabilidad de la membrana.⁶⁴

La dosis terapéutica usual es de 0.5 a 0.6 mg/Kg de peso en solución glucosada al 5 % durante un lapso de 4 horas. A pesar de que los imidazoles son útiles en el tratamiento de padecimientos como la histoplasmosis, se prefiere el uso de anfotericina B cuando el cuadro muestra evolución rápida, cuando el paciente está inmunosuprimido y cuando afecta al Sistema Nervioso Central, además se puede administrar una vez por semana a los pacientes de SIDA que se han recuperado de criptococosis o histoplasmosis, con lo que se evitan las recaídas.

Su eliminación es por orina y se acumula en hígado y bazo principalmente, en pulmón y riñón en menor grado, puede pasar la barrera hemato-encefálica, y su tiempo de vida media es de 15 días. Entre los efectos adversos que produce se encuentran cefalea, náuseas, vómito, malestar general, flebitis en el sitio de venoclisis, nefrotoxicidad, anemia normocítica hipocrómica,⁵⁶ hipocalcemia e hipomagnesemia.⁵³

Anfotericina B liposomal

La encapsulación de anfotericina B en liposomas incrementa su índice terapéutico, le brinda una alta afinidad por las células de hígado, bazo, pulmón, riñón, médula espinal, combinando una baja toxicidad con una alta especificidad, permitiendo la administración de dosis altas sin fuertes efectos colaterales. Sin embargo, esta presentación sigue bajo estudio.

ANTIMICÓTICOS AZÓLICOS

Este tipo de agentes terapéuticos se dividen en dos clases que son los imidazoles y los triazoles. Ambas comparten el mismo mecanismo de acción contra hongos, aunque los triazoles se metabolizan más lentamente. Como grupo, los

azoles han presentado actividad eficaz contra *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitides*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, y dermatofitos.

Los derivados azólicos inhiben la esteroil 14 α -desmetilasa en hongos, una enzima que depende del citocromo P450 de los microsomas, impidiendo así la biosíntesis de ergosterol en la membrana.⁵⁶

Ketoconazol

Imidazol eficaz en blastomicosis, histoplasmosis, coccidioidomicosis, paracoccidioidomicosis, tiñas, candidosis mucocutánea crónica, vulvovaginitis por *Candida*. Tiene eficacia escasa en individuos inmunodeficientes y en meningitis. La dosis habitual en el adulto es de 400 mg orales por día. Sus efectos adversos más frecuentes son náuseas, anorexia y vómito, los cuales disminuyen si se consume con alimentos, además presenta efectos hormonales como irregularidad menstrual, ginecomastia, decremento en la libido y potencia sexual en varones,⁵⁶ caída del cabello y en raras ocasiones hepatitis.⁵³ Tras ser metabolizado se elimina por heces y su vida media llega a 7-8 hrs a dosis de 800 mg /día.

Itraconazol

Molécula triazólica cuyo uso se prefiere al ketoconazol para el tratamiento de la histoplasmosis no meníngea, diseminada, inicial y asociada a SIDA, es útil en esporotricosis cutánea en pacientes que no toleran el yoduro, en candidosis bucofaringea y vaginal, así como onicomosis, tiñas resistentes a griseofulvina y pitiriasis versicolor,⁵⁶ además de ser mejor tolerado.⁵³ Se debe administrar con los alimentos a razón de 200 mg una o dos veces al día. Sus efectos adversos son

generalmente molestias gastrointestinales. Se metaboliza en hígado, y se excreta por la orina y su tiempo de vida media es de 30 hrs.⁵⁶

Fluconazol

Triazol cuya principal aplicación es en el tratamiento de la candidosis en dosis de 50-100 mg / día, aunque también tiene efecto en criptococosis en dosis de 200 mg / día, y en otras micosis como la coccidioidomicosis, histoplasmosis, blastomicosis, esporotricosis y tiñas,⁵⁶ pero la respuesta es menor que la observada con itraconazol y ketoconazol.⁵³ Sus efectos adversos son náuseas y vómito. Se elimina por orina y su vida media es de 25 a 30 hrs.⁵⁶

VIII. BIBLIOGRAFÍA.

1. Bonifaz A. *Histoplasmosis* En: Micología Básica, Méndez editores, México 1990, pp 235-250
2. Davies S. *Histoplasmosis: Update 1989*, Sem. Resp. Infect. 1990; 5(2): 93-104
3. Brandsher R. W, *Histoplasmosis and Blastomycosis*, Clin. Infect. Dis. 1996; 22(suppl 2):S102-S111
4. Goodwin R.A, DesPrez R.M. *Histoplasmosis*, Am. Rev. Resp. Dis. 1978; 117: 929-956
5. Vaca-Marín M. A, Martínez-Rivera M. A, et. al. *Histoplasmosis en México, Aspectos Históricos y Epidemiológicos*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx. 1998; 11(3): 208-215
6. Emmons C. W, Binford C. H. et. al. *Histoplasmosis* En: Medical Mycology, Ed. Lea & Febiger, 3ª edición, Philadelphia 1979, pp 305-341
7. Zuñiga-Ramos J, Hernández-Martínez B, et. al. *Inmunogenética de la Histoplasmosis*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx. 1998; 11(3):226-228
8. Gurney J. W, Dewey J, et.al. *Pulmonary Histoplasmosis*, Radiology 1996; 199 :297-306
9. Smith G. K. *Are you exposing yourself to Histoplasmosis?* Aust. Cav. 1994; 136: 6-8
10. Dupont B. *Exotic Pulmonary Mycoses*, Rev. Pneumol. Clin. 1998; 54: 301-308

11. Kaufman L. *Laboratory Methods for the Diagnosis of Systemic Micoses*, Clin. Inf. Dis 1992; 14(Suppl 1): S23-S29
12. Taylor M. L, Toriello C. et.al. *Histoplasmosis in the State of Guerrero, Mexico: A Biological Approach*. Rev. Mex. Mic.1994; 10: 49-62
13. Taylor M. L, Perez-Mejía A. et.al. *Immunologic, Genetic and Social Human Risk Factors Associated to Histoplasmosis: Studies of Guerrero*, Mycopathologia 1997; 138:137-141
14. Taylor M. L, Granados J, et.al. *Biological and Sociocultural Approaches of Histoplasmosis in the State of Guerrero, Mexico*. Mycoses 1996; 39: 375-379
15. Contreras C, Shibayama H, et.al. *Aportaciones del Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica a la Histoplasmosis*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx. 1998; 11(3): 216-220
16. Velasco-Castrejón O. *La Histoplasmosis Pulmonar Primaria en México*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx. 1998; 11(3): 221-225
17. Lappe P, Ulloa M, et.al. *Levaduras Asociadas con el Hábitat de Histoplasma capsulatum en Guerrero, México*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx. 1998; 11(3): 162-172
18. Taylor M. L, Reyes-Montes M. R, et.al. *Histoplasmosis en México, Aportaciones Inmunológicas y Moleculares sobre su Epidemiología*, Ciencia y Desarrollo 1997; 23(136): 58-63
19. Vargas-Yañez R, Peña-Sandoval G, et. al. *Infección natural por Histoplasma capsulatum en animales silvestres*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx 1998; 11(3): 192-194
20. Chavéz-Tapia C. B, Vargas-Yañez R, et.al. *I. El murciélago como reservorio y responsable de la dispersión de Histoplasma capsulatum en la naturaleza. II. Papel de los marcadores moleculares del hongo aislado de murciélagos infectados*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx. 1998; 11 (3): 187-191

21. Tewar R, Pand-Capmbell C. C. *Isolation of Histoplasma capsulatum from feathers of chickens inoculated intravenously and subcutaneously with the yeast phase of the organisms*, Sabuoradia 1965; 4: 17
22. Ulloa M, Lappe P, et.al. *Hongos filamentosos asociados con el hábitat natural de Histoplasma capsulatum en Guerrero, México*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx. 1998; 11(3): 173-182
23. Hoffman A. *Los ácaros asociados a hongos, su papel en la naturaleza*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx 1998; 11(3): 183-186
24. Vaca-Ocampo F, *Histoplasmosis*, Salud Pública Méx 1987; 29: 201-205
25. González M. *Trabajo monográfico de actualización en histoplasmosis*, Tesis de licenciatura, Facultad de Química, UNAM, 2000
26. Arenas R, *Histoplasmosis* En: *Micología Médica Ilustrada*, Ed. Interamericana McGraw-Hill, 1ª edición, México 1993, pp 201-208
27. Climent- Beltrán J.B, *Ley federal del trabajo, Comentario y jurisprudencia*, Ed. Esfinge, 4ª edición, México D.F. 1990, pp 331-387
28. Salas-Rios M, Reyes-Montes M.R, et. al, *Genotipificación de cepas de Histoplasma capsulatum aisladas de pacientes con histoplasmosis asociada al SIDA, mediante el polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx. 1998; 11(3): 202-207
29. Sarosi G.A, Johnson P.C, *Disseminated histoplasmosis in patients infected with human immunodeficiency virus*, Clin. Infect. Dis 1992; 14(Suppl 1): S60-S67
30. Graybill J.R, *Histoplasmosis and AIDS*, J. Infect. Dis 1988; 158(3): 623-626
31. Levitz S.M, *Overview of host defenses in fungal infections*, Clin. Infect. Dis 1992; 14(Suppl 1): S37-S42
32. Taylor M.L, Duarte-Escalante E, et. al. *Fagocitosis opsónica de Histoplasma capsulatum*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx. 1998; 11(3): 229-231
33. Gorocica P, Duarte-Escalante E, et. al. *Fagocitosis no opsónica, lectinofagocitosis de Histoplasma capsulatum*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx. 1998; 11(3): 232-236

34. Zinsser, *Histoplasmosis* En: Microbiología, Editorial Médica Panamericana, 20ª edición, México 1998, pp 1462-1471
35. Rippon J. W, *Histoplasmosis and histoplasmosis duboisii* En: Medical mycology, the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes, Ed. W.B. Saunders Co, 3rd edition, USA 1988, pp 381-432
36. González-Ochoa A, *Peculiaridades de la Histoplasmosis en México* En: Desarrollo y estado actual de la micología en México, Simposio Syntex, Ediciones del Instituto Syntex, Diciembre 1979, pp 139-149
37. Tay J, López-Martínez R, *Histoplasmosis* En: Microbiología y parasitología médica, Cervantes Méndez editores, 2ª edición, México 1995, pp 472-479
38. Zapater R.C, *Histoplasmosis* En: Micología médica, diagnóstico y tratamiento, Ed. El Ateneo, Buenos Aires 1981, pp 170-179
39. Wheat L.J, *Histoplasmosis in Indianapolis*, Clin. Infect. Dis 1992; 14(Suppl 1): S91-S99
40. Sarosi G. A, Davies S.F, *Clinical manifestations and management of histoplasmosis in the compromised patient* En: Fungal infection in the compromised patient, Ed. John Wiley & Sons, U.K. 1982, pp 187-215
41. La-Rocco M. T, Burget S. J, *Fungal infection in the transplant recipient and laboratory methods for diagnosis*, Rev. Iberoam. Micol. 1997; 14: 143-146
42. Roberts S, Hay R, Mackenzie D, *Histoplasmosis* En: Clinician's guide to fungal disease, Ed. Dekke, New York 1984, pp 137-146
43. Yuosef A.D, *Histoplasmosis* En: Laboratory medical mycology, Lea & Febinger, Philadelphia 1980, pp 206-207
44. McGinnis M. R, *Histoplasmosis* En: Laboratory handbook of medical mycology, Ed. Academic press, USA 1980, pp 504-521
45. Martín-Abreu L, *Fundamentos del diagnóstico*, Méndez Cervantes editores, 5ª edición, México 1982, pp 181, 188-190
46. Moss and Mcquown, *Atlas of Medical Mycology*, Ed. The Williams & Wilkins Co. Baltimore 1969, pp 115-127

47. Toriello C, Reyes-Montes M. R, Taylor M. L, *Producción de antígenos fúngicos autóctonos en el inmunodiagnóstico de micosis en México*, Rev. Invest. Clin. 1997; 49: 501-505
48. Ssa, *Histoplasmina* En: Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 7ª edición 2000, pp 1800
49. López-González J. S, *Reacciones de Hipersensibilidad* En: Manual de prácticas de Inmunología aplicada, UNAM 1995, pp 67-69
50. López-Martínez R, *Histoplasmosis* En: Micología médica, Procedimientos para el diagnóstico de laboratorio, Ed. Trillas, 1ª edición, México 1995, 83-87
51. Wheat L. J, Kohler R.B, Tewari R. P, *Diagnosis of disseminated histoplasmosis by detection of Histoplasma capsulatum antigen in serum and urine specimens*, New Eng. J. Med. 1986; 314(2): 83-88
52. Angel G. *Histoplasmosis* En: Interpretación clínica de laboratorio, Ed. Panamericana 5ª edición, México 1996, pp 73, 377-379
53. Wheat J, *Histoplasmosis: recognition and treatment*, Clin. Infect. Dis. 1994; 19(Suppl 1): S19-S27
54. Kirchner J. T, *Opportunistic fungal infections in patient with HIV disease, combating Cryptococcosis and Histoplasmosis*, Postgraduate 1996; 99(6): 209-216
55. Sarosi G. A, Davies S. F, *Concise review to primary care physicians, Therapy for fungal infections*, Mayo Clin. Proc. 1994; 69: 1111-1117
56. Goodman, Gilman, *Fármacos antimicóticos* En: Las bases farmacológicas de la terapéutica, Vol. II, Ed. MacGraw-Hill 9ª edición, México 1996, pp 1247-1256
57. Reyes-Montes M. R, Bobadilla del Valle M, et. al. *Tipificación de aislados clínicos de Histoplasma capsulatum por métodos fenotípicos y genotípicos*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx. 1998; 11(3): 195-201

58. Reyes-Montes M. R, Bobadilla del Valle M, et. al. *Relatedness analysis of Histoplasma capsulatum isolates from mexican patients with AIDS associated histoplasmosis by using electrophoretic profiles and ramdomly amplified polimorphic DNA patterns*, J. Clin. Microb. 1999; 37(5): 1404-1408
59. Kwon-Chung K. J, *Emmonsella capsulata: perfect state of Histoplasma capsulatum*, Science 1972; 177: 368-369
60. Pereyra-Morales M. A, de Merchant M. T, et. al. *Inmunolocalización del complejo polisacárido-proteína en ultraestructuras de la fase micelial de Histoplasma capsulatum*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx. 1998; 11(3): 237-242
61. Rodríguez-Arellanes G, Pérez-Mejía A. et. al. *Organización de la colección de cepas de Histoplasma capsulatum de el laboratorio de Inmunología de Hongos, Facultad de Medicina, UNAM*, Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Méx. 1998; 11(3): 243-246
62. Sánchez-Alemán M.A, *Investigación de esporotricosis en una comunidad de la sierra sur de Oaxaca*, Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM 1999, pp 28
63. López Martínez, et.al, *Formulario de Medios de Cultivo para Hongos y Actinomyces* 2° Diplomado en Micología Medica, Laboratorio de Micología Médica, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM, pp 17-18
64. Katzung B. G, *Fármacos antimicóticos* En: Farmacología básica y clínica, Ed. Manual moderno, 5ª edición, México 1994, pp 837-844