

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

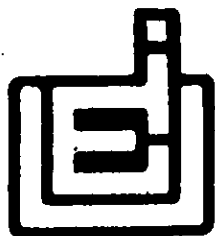
CAMPUS IZTACALA

DETERMINACION DE LA REACTIVIDAD CUTÁNEA
A LA HISTOPLASMINA, COCCIDIOIDINA Y PPD EN
ESTUDIANTES DE TRES INSTITUCIONES DEL
ESTADO DE MEXICO

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G A
P R E S E N T A:
RACHEL GONZALEZ GARCIA

DIRECTOR DE TESIS:

M. EN C. BERTHA ARGUERO LICEA



REYES IZTACALA, EDO. MEX.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

42
1
2ej
268943

1998



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

D E D I C A T O R I A S

Cuando te quise,
cerca estuviste no me dejate
y con tu potencia me sostuviste.

Listo estabas y nunca me abandonaste
y paz por tristeza siempre me diste.

Hora tras hora no me faltaste
con tus tiernos cuidados tu me guiaste.

Allí estuviste, con tu presencia me apoyaste
y broto tu fuente de gran solaz
cuando te quise más.

Gracias Señor

El presente trabajo se realizó con la participación de los estudiantes de la ENEP Iztacala, FES Zaragoza y FES Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México, a quienes les doy mi más sincero agradecimiento por su valiosa ayuda.

A ti mamá
porque sin tu apoyo y cariño
en el transcurso de mi carrera
y mi vida no pudiera ser quien
ahora soy.

A ti papá
por haberme brindado lo mejor
de tí cuando lo necesite y por
tu confianza en mí.

A ti Pedro
a quien amo tanto, por tu
apoyo, ayuda, comprensión,
y confianza en cada momento
que lo necesite.

A mis hermanos
de quienes he recibido lo mejor
de ellos y por el gran cariño
que nos ha mantenido unidos.

A ti Bertha
porque has sido una amiga a quien
respeto y admiro, ya que has estado
conmigo en todo momento brindandome
tus conocimientos y tu experiencia.

A mis suegros y cuñados
por sus palabras de aliento en
los momentos de angustia y por su
cariño.

A
Ruth Rosales y Fam.
Miguel Angel Lara y Fam.
por su valioso apoyo técnico
para la realización de este
trabajo.

I N D I C E

	PAGINA
INTRODUCCION	3
ANTECEDENTES	20
JUSTIFICACION	30
OBJETIVOS	33
MATERIAL Y METODOS	35
RESULTADOS	41
DISCUSION Y CONCLUSIONES	57
BIBLIOGRAFIA	66
ANEXOS	73
APENDICES	76

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

HISTOPLASMOSIS

La histoplasmosis es una enfermedad causada por el hongo dimórfico H. capsulatum, se inicia regularmente a nivel pulmonar y posteriormente puede diseminarse a diferentes órganos, es frecuente en los climas trópicos y subtropicales del mundo, en América las áreas conocidas con más altos índices de casos se localizan en la parte este de los Estados Unidos y América Latina, principalmente Panamá, Nicaragua, Honduras, Venezuela, Colombia, Brasil y las Antillas.^{1, 2, 3, 4} En México se conoce desde la época de la colonia como la fiebre de las cavernas o cuevas,⁵ y se localiza en los Estados de Guanajuato, Queretaro, San Luis Potosí, Tamaulipas, Guerrero, Colima, Durango, Morelos, Nayarit, Veracruz y Chiapas, Estados considerados zonas endémicas de esta micosis.^{6, 7}

Etiología

Histoplasma capsulatum tiene como habitat natural el suelo, donde existe en la forma micelial (fase vegetativa) compuesta por hifas de 1.2 a 1.5 μm de diámetro. Las hifas producen dos tipos de conidias: las macroconidias que miden 8-15 μm y, microconidias de 2-5 μm , las cuales al ser inhaladas por el hospedero, adquieren la forma de levadura (fase parasitaria) ovoide, uninucleada, de pared delgada; se localiza dentro de las células reticuloendoteliales y macrófagos y se reproducen por gemación con un cuello angosto entre la madre y la célula hija.

El cambio de la forma micelial a la levaduriforme de H. capsulatum se da por mecanismos dependientes de la temperatura, de la regulación de expresión de genes, producción de enzimas incluidas en el metabolismo de la cisteína y la función mitocondrial, además de alteraciones en el metabolismo del ácido nucleico y síntesis de proteínas.⁹

En diferentes áreas geográficas existen distintos tipos de cepas de H. capsulatum de suelo y muestras clínicas, se pueden determinar por medio de la técnica de patrones de fragmentos de restricción de DNA mitocondrial y DNA ribosomal específicos en los cuales se han encontrado seis clases, cada una con un patrón característico de DNA mitocondrial. En Estados Unidos se ha demostrado que la mayoría de las cepas aisladas tienen patrones idénticos de DNA mitocondrial y DNA ribosomal, por lo que se considera útil para el conocimiento de nuevas áreas endémicas para la histoplasmosis.^{10, 11, 12}

La infección por H. capsulatum se adquiere por la inhalación de polvo contaminado con esporas de este hongo, las cuales llegan a los espacios alveolares y los signos y síntomas que presentan en el hospedero dependen del número de esporas inhaladas y de su respuesta inmune.¹³ Una vez dentro de los pulmones uno de los mecanismos de inmunidad celular contra H. capsulatum es la participación de las células T CD4+, las cuales juegan un papel muy importante en la defensa del hospedero, se ha demostrado experimentalmente que ratones con células T CD4+ bajas e

infectados con el hongo en el laboratorio tenían un aumento progresivo de mortalidad del 50% a partir del 7o día y hasta el 100% en el 14o día y además presentaban un incremento en el número de unidades formadoras de colonias del hongo en el bazo de 58 a 256%, en comparación con los grupos de ratones control.¹⁴ Por otro lado, la inoculación intravenosa de células T CD4+ clonadas reactivas a *H. capsulatum* protegían a los ratones después de retarlos con la forma levaduriforme.¹⁵

Una enfermedad en humanos que favorece la infección por *H. capsulatum* es el SIDA porque semeja al ejemplo anterior y la histoplasmosis diseminada se presenta cuando las células T CD4+ bajan.¹⁶

De igual modo se ha demostrado que los receptores de adhesión de la familia de los linfocitos CD18 sobre la superficie de los macrófagos alveolares humanos son importantes en la ingestión de levaduras y microconidias de *H. capsulatum*.^{17, 18}

Recientemente se ha planteado que el grado de patogenicidad de la cepa de *H. capsulatum* depende del tiempo de transformación de la fase micelial a la levaduriforme en el interior de las células fagocitarias (polimorfonucleares y macrófagos alveolares); esta conversión "in vivo" tiene un papel muy importante en la resolución de la infección, puesto que la fase micelial se elimina fácilmente por los macrófagos alveolares.¹⁹

Cuadro clínico.

En la histoplasmosis se reconocen principalmente dos fases:

Histoplasmosis primaria	Asintomática	Leve
	Sintomática	Moderada Grave
Histoplasmosis secundaria	Aguda	
	Crónica	

En la histoplasmosis primaria asintomática se presentan la mayoría de los casos 95% con un ligero malestar a veces acompañado por fiebre o cefalea y solo es detectable por una prueba intradérmica a la histoplasmina; el resto 5% puede presentar una sintomatología variada con tres estadios: leve, moderada o grave.

La leve simula un resfrío común con febrícula, cefalea y dolores musculares; en las radiografías pueden observarse algunas lesiones micronódulares en uno o ambos campos pulmonares. La moderada es similar a una neumonía atípica con fiebre, malestar general, tos seca, dolor torácico y fatiga; en las placas radiográficas son mas abundantes las lesiones micronódulares y hay infiltración difusa. La grave se caracteriza por fiebre

con temperaturas de 39 a 41 °C, escalofríos, diaforesis profusa, cefalea, dolores musculares, tos seca, dolor torácico, disnea, cianosis y postración; en las radiografías de tórax se observan múltiples nódulos diseminados a ambos campos pulmonares, adenopatías hiliares, lesiones cavitarias y derrame pleural.^{4, 6.}

²⁰ En pacientes con evolución grave, se desarrolla un histoplasmosa, el cual es una lesión cavitaria, encapsulada y calcificada constituida por un foco central de necrosis; la calcificación se desarrolla en varios años y el calcio lo cubre en círculos concéntricos sobre la zona fibromatosa; radiológicamente aparecen como una sombra opaca nodular solitaria, bien circunscrita de más de 3 cm de diámetro. En muchos casos la lesión es más frecuente en los lóbulos inferiores y con lesiones satélites calcificadas.^{1, 4}

La infección secundaria presenta dos estadios diseminados, agudo y crónico; el agudo es raro en México, se disemina con un cuadro respiratorio febril con tos constante y poca expectoración; origina adenopatías hiliares múltiples, hepatomegalia y esplenomegalia. La crónica es frecuente en personas de 40-60 años en quienes la resistencia a la enfermedad disminuye; manifiesta un cuadro respiratorio con tos, escasa expectoración y sin hemoptisis, confundible con tuberculosis crónica. Cuando la enfermedad se disemina, se caracteriza por lesiones ulcerosas en la piel o mucosas de labio, lengua, faringe, intestinos y genitales y los síntomas dependen del órgano u órganos

afectados. *

Diagnóstico.

Para el diagnóstico de la histoplasmosis es necesario identificar a H. capsulatum por medio de un examen directo de muestras de esputo, secreciones o fragmentos de biopsia, aspirado bronquial y exudados teñidos con colorantes de PAS, GIEMSA, Gracott o Gridley; al microscopio se observan estructuras levaduriformes dentro de los polimorfonucleares, que miden 1-2 μm de diámetro con un halo refringente. Las muestras clínicas se siembran en agar Sabouraud y se incuban a 25° C durante 2-4 semanas; en donde crecen dos tipos de colonias, A y B, ambas al inicio son blancas, vellosas y secas; posteriormente las colonias de tipo A continúan su desarrollo con las mismas características, en cambio la B se torna de color amarillo y posteriormente café-pardo; al examen directo ambas colonias presentan micelio delgado, tabicado y hialino. De las hifas nacen directamente microconidias o aleuriosporas piriformes, de aproximadamente 2 μm (abundantes en la cepa A) y las típicas macroconidias que nacen de un conidioforo, con doble membrana, espículas, con aspecto de rondanas de reloj (abundantes en la cepa B). Los dos tipos de cepas se desarrollan en medios enriquecidos de gelosa sangre o infusión cerebro corazón, se incuban a 37 °C durante 4-6 semanas, en donde se obtienen colonias de aspecto brillante, limitadas, húmedas de color blanco sucio; las cuales al examen directo con una tinción

de Wrigth o Giemsa se observan levaduras ovales con gemas.^{1, 4}

Para el diagnóstico serológico de la histoplasmosis se dispone de una serie de pruebas como inmunodifusión, fijación de complemento, electroforesis e inmunofluorescencia;^{1, 4, 8} sin embargo las mas útiles actualmente son la prueba de ELISA y el Western blot por su capacidad de medir el nivel de inmunoglobulinas en el hospedero.²¹

Una prueba epidemiológica que puede ser útil en el diagnóstico de la histoplasmosis es la reacción cutánea de hipersensibilidad tardía; esta reacción aparece de 7-10 días después de la inhalación de las esporas de H. capsulatum; la prueba se realiza con dos antígenos compuestos por polisacáridos obtenidos, de la fase micelial del hongo (M), y de la fase parasitaria (L).^{1, 4, 22} Una prueba con resultado positivo significa infección pasada o reciente y por lo tanto revela exposición previa y reactividad al hongo.²³

COCCIDIOIDOMICOSIS

Otra micosis de gran importancia, por su alta endemicidad en nuestro país es la coccidioidomicosis, infección pulmonar benigna, asintomática o moderadamente grave que en general se resuelve con rapidez. Se presenta en forma endémicas en zonas de clima árido y semiárido con lluvias escasas, verano caluroso, escasas heladas invernales, baja altitud, suelo salino, con

flora y fauna poco abundantes.^{1, 2} En el continente Americano las zonas endémicas se extienden desde los 40'N, 120'W en el norte de Baja California a los 40'S, 65'W en Argentina. Dentro de estos parámetros, el área de mayor endemicidad de coccidioidomycosis se localiza entre el norte de México y sur de los Estados Unidos de América.^{8, 24, 25} En México se han descrito tres áreas: 1) Zona norte, que incluye los Estados de Baja California Norte, Sonora, Sinaloa, Nuevo León, Chihuahua, Coahuila y Tamaulipas; 2) Litoral del Pacífico, circunda parte de Sonora, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacan y parte de Guerrero; y 3) Zona Centro, que comprende la parte de los Estados de Coahuila y Nuevo León situadas al suroeste de la Sierra Madre Oriental, continua por Durango, San Luis Potosí, y termina en el Estado de Guanajuato.^{26, 27}

Etiología.

El agente etiológico de la coccidioidomycosis es Coccidioides immitis, hongo dimórfico con una fase parasitaria y otra saprofítica. En el suelo y en los medios de cultivo se desarrolla en forma de micelio (forma saprofítica) como hifas septadas de 2-4 μm de diámetro, las cuales de 5-7 días forman cadenas de artroconidios multinucleados, los cuales se desprenden y son llevados por el aire a otro sitio donde germinan y forman una nueva hifa o sirve como la forma infectante en humanos y otros hospederos.^{2, 28} Cuando los artroconidios son inhalados, se transforman en células redondas

con pared gruesa llamadas esférulas; estas estructuras son multinucleadas y alcanzan un diámetro de 30-60 μm en el tejido, en su maduración el protoplasma se divide en masas multinucleadas para formar endosporas uninucleadas (2-5 μm de diámetro), envueltas por una membrana delgada y cuando se completa su formación, la membrana y la pared de la esfera se rompen y las esporas son liberadas en los tejidos; las endosporas se agrandan y se convierten en esférulas para repetir otro ciclo de vida.²

Cuadro clínico.

Clínicamente la coccidioidomicosis se presenta en dos formas:

Coccidioidomicosis primaria	Asintomática
	Sintomática
Coccidioidomicosis secundaria o progresiva	Pulmonar
	Cutánea
	Generalizada

La coccidioidomicosis primaria asintomática puede presentar una enfermedad ligera parecida a un estado gripal solo detectable por una prueba cutánea positiva a la coccidioidina; la sintomática se manifiesta como una afección leve de vías respiratorias acompañada de síntomas como fiebre, anorexia,

sudoración, debilidad, artralgias, tos, producción de esputo y dolor torácico, manifestados de 1 a 3 semanas después de la exposición con el hongo.

La coccidioidomicosis secundaria o progresiva se origina por diseminación de un foco primario, los sitios mas comunes son meninges, huesos, coyunturas, piel y tejidos blandos. Los tipos de coccidioidomicosis secundaria son: la pulmonar, propia de pacientes con enfermedades o procesos debilitantes como tuberculosis, linfomas y embarazos, con manifestaciones muy variadas como neumonía, adenopatías hiliares y mediastinales; la cutánea puede presentar lesiones en cualquier parte del cuerpo, sin embargo la topografía mas común es la ganglionar (cuello, axilas e ingles), se caracteriza por abscesos fríos o lesiones gomosas no dolorosas con tendencia a fistulizarse, drenan un exudado seropurulento, el cual casi siempre contiene la forma parasitaria del hongo; la forma generalizada es común en pacientes inmunosuprimidos a partir de un foco miliar diseminado por vía linfática y hematógica a cualquier órgano e inclusive al sistema nervioso central.^{1, 4, 8}

La respuesta inmunológica contra la infección por C. immitis la inicia el complemento al opsonizar las esporas de este hongo, estas posteriormente son fagocitadas por los macrófagos alveolares los cuales al activarse liberan el factor quimiotáctico para polimorfonucleares, sin embargo la fagocitosis de las estructuras del hongo es difícil en los

tejidos.^{8, 24, 29} Los artroconidios, endosporas y especialmente las esférulas son resistentes a su eliminación por tales células,^{30, 31} esta resistencia puede relacionarse con la estructura de la pared externa del hongo y el material extracelular que la esférula elabora.³¹

La infección producida por el hongo estimula a los linfocitos T fundamentalmente durante la producción de la respuesta inmune y estas células estimulan activadores como las linfocinas y glicoproteínas de las células involucradas en la respuesta inflamatoria.^{32, 33, 34} Cuando la enfermedad progresa se manifiesta una deficiencia en los mecanismos de defensa del hospedero, posiblemente como respuesta a la deficiencia de las células supresoras, complejos inmunes o sustancias fúngicas inmunosupresivas.^{35, 36, 37, 38} El desorden en la inmunidad puede manifestarse por niveles elevados de Ig E en el suero; los cuales correlacionan con la progresividad de la enfermedad debido a los anticuerpos anticoccidioidales.³⁹

Diagnóstico.

Para el diagnóstico de la coccidioidomicosis se realiza un examen directo con KOH 10% de muestras de esputo, contenido gástrico, líquido pleural, pus de abscesos y exudados de lesiones cutáneas, las cuales al microscopio presentan esférulas que contienen endosporas. En cultivos de estas muestras clínicas, el hongo crece de 4-8 días a temperatura

ambiente en medios de agar Sabouraud y micosel agar; las colonias característica son vellosas, blancas, secas que se extienden radialmente sobre el medio, con el tiempo se tornan algodonosas y pueden tener un color pardo, en fases tempranas los artroconidios aparecen primero en las ramas laterales de las hifas vegetativas, las cuales son delgadas y tabicadas con una pared casi del doble de grueso con numerosas tabicaciones; cuando el hongo envejece se ven numerosos artroconidios de paredes gruesas que alternan con células de paredes delgadas, las cuales son liberadas al fragmentarse el micelio.^{1, 4, 24, 25}

Las pruebas serológicas mas útiles para el diagnóstico de la coccidioidomycosis son la precipitación en tubo y la fijación de complemento, estas proporcionan una fuerte evidencia de infección reciente o activa; sin embargo, para medir anticuerpos y antígeno fúngico circulante en el suero de pacientes infectados, se utiliza la prueba de ELISA.^{29, 40, 41}

En esta micosis la inmunidad celular se demuestra a partir de una intradermoreacción indicada por la reactividad a la coccidioidina antígeno extraído de la fase micelial del hongo o esferulina extraída de la fase levaduriforme en medios de cultivo, una prueba positiva significa infección pasada o reciente.^{1, 4, 22}

TUBERCULOSIS

Una de las infecciones pulmonares que se confunde con mucha frecuencia por su cuadro clínico y pruebas de gabinete con las dos micosis descritas anteriormente es la tuberculosis, infección bacteriana crónica generalmente de curso subagudo o crónico que afecta diversos órganos o tejidos principalmente a nivel pulmonar.⁴²

La tuberculosis afecta 1 722 millones de personas en el mundo, un tercio de la población mundial, y causa tres millones de muertes al año. En México se ha demostrado que ocupa el segundo lugar dentro de las causas de mortalidad y entre los factores que favorecen esta enfermedad se encuentran las condiciones socio-económicas, la sanidad y los recursos de salud.⁴³

Etiología.

El microorganismo causante de la tuberculosis humana es Micobacterium tuberculosis, bacilo sinuoso, recto o curvo que oscila entre 0.3 y 0.6 μm por 0.5-4.0 μm . Ocasionalmente se encuentra en forma de racimo o aislado; es ácidoresistente, inmóvil, no esporulado y sin capsula; en medio de Lowenstein-Jensen o el de Middlebrook e incubados a 37°C crece de 4 a 8 semanas.^{8, 44, 45}

M. tuberculosis se transmite de persona a persona por vía respiratoria por medio de gotitas expulsadas al toser, estornudar o hablar, estas gotitas permanecen poco tiempo en el

aire en donde son infectivas y luego caen al suelo o sobre ropas y objetos próximos donde mueren enseguida por desecación o por la acción de la luz solar.⁴³

Cuadro clínico.

La tuberculosis clínicamente se presenta en dos formas:

Tuberculosis primaria

Asintomática

Sintomática

Tuberculosis de reinfección

La tuberculosis primaria asintomática puede ser clínicamente aparente o silenciosa solo detectable por una prueba intradérmica con PPD y una radiografía de tórax.

La tuberculosis sintomática tiene un modo de inicio insidioso, que a veces solo se manifiesta por una fiebre vespertina, anorexia, palidez, pérdida de peso, astenia o sudoración nocturna. Otros focos iniciales se localizan en piel, tubo gastrointestinal, pleura, mucosa oral, amígdalas, oído medio, conjuntivas, vagina y tejido celular subcutáneo.⁴³

La tuberculosis de reinfección es a partir de un foco endógeno, el paciente presenta fatiga, anorexia, pérdida de peso, febrícula vespertina; a medida que la enfermedad progresa la tos se hace mas frecuente acompañada con estrias sanguinolentas; a nivel torácico las lesiones apicales acentúan

los estertores o se oyen únicamente después de la tos.⁴²

Diagnóstico.

En el diagnóstico de la tuberculosis la radiografía de tórax es importante en la localización, extensión y evolución de las lesiones, la enfermedad se establece cuando el bacilo tuberculoso es identificado en el esputo, expectoración, lavado gástrico, lavado bronquial obtenido por broncoaspiración, líquido de punción pleural o peritoneal. Al teñirse con Ziehl-Neelsen o material fluorescente (auramina-rodamina), el bacilo se observa delgado, a veces encorvado con esférulas policromáticas formando parejas o grupos. En cultivos con medios específicos (Lowenstein, Jensen y Middle Brokk) el crecimiento inicia de 4-8 semanas y hasta dos meses.^{44, 45}

Serológicamente para el diagnóstico de la tuberculosis se utiliza la prueba de aglutinación de látex, ELISA y recientemente el antígeno 5. Otros métodos son las sondas de DNA y monocitosis en sangre periférica.⁴³

La prueba intradérmica con PPD (derivado proteico purificado de la tuberculina) es el método mas eficaz para detectar personas que han tenido contacto con el bacilo. En general, la prueba se realiza en el antebrazo, la lectura se hace al medir el diámetro de induración percibido por palpación suave a las 48-72 horas.^{44, 45} Los enfermos de tuberculosis y los sujetos infectados, pero no enfermos, tienen una reacción que mide en promedio 17 mm, en personas que no presentan la enfermedad da

falsos positivos cuando han sido vacunadas con BCG. La reacción positiva del PPD es una prueba que sólo indica que probablemente hubo una infección por el bacilo anteriormente.⁴³

FACTOR INHIBIDOR DE LA MIGRACION

Existen investigaciones inmunológicas "in vitro" que coinciden con el estado "in vivo" de hipersensibilidad como es el factor inhibidor de la migración (FIM) el cual ha sido poco estudiado en las micosis profundas. El FIM es un factor soluble que retarda la migración de los macrófagos y otros leucocitos contenidos en tubos capilares el cual es liberado en el momento en que el antígeno se pone en contacto con los linfocitos T sensibilizados.^{46, 47, 48}

Las indicaciones para el uso del FIM corresponde a dos categorías: 1) la evolución de la función linfocitarias, la cual esta relacionada con la expresión de hipersensibilidad cutánea; 2) la determinación de leucocitos sensibilizados hacia antígenos tisulares o drogas, esta no se recomienda por la posibilidad de reacciones clínicas o de sensibilización de pacientes.⁴⁶

A N T E C E D E N T E S

El estudio de la histoplasmosis en México se inicia en 1948 por el Dr. González Ochoa en una investigación sobre la reactividad cutánea con histoplasmina, tuberculina y coccidioidina y su relación con el catastro torácico en 150 habitantes de Abala Yucatán, en quienes encontró una incidencia de 55.3% de reactivos a la histoplasmina, 23.3% a la tuberculina y ninguno a la coccidioidina y concluyó que deberían realizarse mas estudios para conocer la reactividad a la histoplasmina en otras regiones del país acompañada de catastro torácico para contribuir al esclarecimiento de cuadros pulmonares no tuberculosos.⁴⁹

Este mismo investigador en 1963 refiere el registro de brotes epidémicos de histoplasmosis pulmonar de 1948-1963 en personas que penetraban en minas, cuevas, cavernas, tuneles y lugares aledaños; en este estudio utilizó pruebas intradérmicas con histoplasmina en sujetos con infección sintomática. En el periodo de 1948-1955 encontró 20 epidemias y un caso aislado, y de 1956-1963 11 epidemias y 4 casos aislados; en este último los sitios de epidemia se localizaron en las grutas de Cacahuamilpa Gro, Querétaro Qro, San Luis Potosí SLP, Jiménez Tamp, Coatzala Gro, grutas de Michapan Mor, Orizaba Ver, San Francisco Nay, y San Cristóbal Chis, donde la tasa de ataque de infección fue en promedio de 88.1% y la de mortalidad de 8.1%. El autor concluye hipotéticamente que la histoplasmosis esta ampliamente

distribuida en México y que su frecuencia es amplia por la gran cantidad de minas existentes en el territorio nacional con abundante guano de murciélagos, lo cual favorece el desarrollo del hongo.^{5c}

Con base a lo reportado en el estudio anterior, Bustamante en 1964 en el Simpósium sobre histoplasmosis pulmonar primaria, consideró que esta enfermedad adquiere una importancia médica, económica y epidemiológica, señala que hasta 1963 se habían reportado 372 personas infectadas con Histoplasma capsulatum por haber estado en contacto con guano de murciélago y estableció que para contratar trabajadores extractores de guano de murciélago en minas, cuevas o túneles debían aplicarse la prueba intradérmica a la histoplasmina como requisito para su contratación.³

En el mismo Simpósium el Dr. González Ochoa comunica que con base a un estudio realizado con personas de 26 entidades de 15 Estados de la República Mexicana, en quienes se aplicaron pruebas cutáneas con histoplasmina, señaló que a diferencia con los Estados Unidos de América, en México la frecuencia de los brotes epidémicos de la forma grave y la distribución extensa de los focos de infección es mayor y que la mayoría de estas epidemias están asociadas con la presencia de guano de murciélago. Además afirma que la prueba cutánea es importante para detectar la enfermedad, pero tiene sus limitaciones igual que la tuberculino-reacción puesto que la

positividad significa contacto pasado o reciente con el hongo, y, a mayor inhalación de esporas, el tiempo de aparición de la reactividad cutánea a la histoplasmina es muy variable, oscilando entre los extremos de 3 días y 6 semanas, si bien en las formas clínicas leve y moderada ordinariamente la conversión hacia la positividad se hace a las dos semanas, pero los casos muy graves mueren sin presentar reactividad cutánea.⁶

En 1981 el mismo investigador reportó casos aislados de histoplasmosis pulmonar primaria por medio de la reactividad cutánea a la histoplasmina y por el aislamiento del hongo del suelo; concluyo que esta enfermedad tiene una amplia distribución en la República Mexicana y que las zonas de mayor incidencia están en el suroeste del país con numerosos casos mortales de donde se deduce que es verdaderamente un problema de salud pública.⁵¹

En 1985 Becerril y col investigaron sobre la incidencia de las micosis profundas en pacientes con enfermedades respiratorias y probar la reactividad y especificidad de antígenos crudos y purificados. Aplicaron pruebas intradérmicas con antígenos de histoplasmina, blastomicina, paracoccidioidina y coccidioidina en 98 pacientes hospitalizados en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias provenientes de diferentes regiones de la República Mexicana y encontraron un 1% de reactividad a la histoplasmina en personas provenientes de la zona centro del país y un 8.1% de reactividad a la coccidioidina en los

procedentes del Golfo centro y DF, así como 11.2% a la paracoccidioidina, 12.2% a la blatomicina. Los investigadores concluyeron que los antígenos crudos presentaron una mayor reactividad que los antígenos purificados, particularmente en pruebas de menor sensibilidad como la inmunodifusión en gel y la contraelectroforesis donde los antígenos purificados no fueron funcionales, sin embargo, estos antígenos son útiles en pruebas de mayor sensibilidad como la ELISA. Además el estudio indicó un probable contacto de los pacientes con los agentes etiológicos de las micosis estudiadas.⁵²

Taylor y col en 1994 con el fin de establecer un modelo de investigación para histoplasmosis en poblaciones susceptibles y aislar H. capsulatum en la naturaleza, desarrolló un proyecto en los municipios de Juchitán y Otilola en el Estado de Guerrero; aplicaron pruebas cutáneas con histoplasmina a 128 personas con actividad ocupacional relacionada con excretas de aves o de murciélagos y encontraron 87% de reactivos a la histoplasmina en Juchitán y 80% en Otilola. Se aislaron tres cepas de H. capsulatum a partir de muestras de suelo contaminado con guano y excretas de aves y otras tres especies de murciélagos insectívoros. Concluyen que la alta incidencia de reactivos a la histoplasmina y la presencia del hongo revelada por los aislamientos demuestran una alta incidencia de histoplasmosis en las áreas de estudio del Estado de Guerrero.⁵³

El estudio de la coccidioidomicosis se inicia en México por el Dr. González Ochoa a partir de 1944 con un estudio cuyo objetivo fue determinar las zonas de alta endemicidad en base a la reactividad cutánea a la coccidioidina y limito las áreas según el número de reactores entre 5-50% o más. Con este criterio encontró tres zonas: 1) Norte, correspondiente a los Estados de Baja California, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas; 2) del Pacífico, región limítrofe de Sinaloa, Nayarit, Jalisco y Colima; 3) Central, que incluye el suroeste de Coahuila y norte de Durango. Concluyo que la distribución geográfica de la sensibilidad a la coccidioidina mostro que la infección por Coccidioides immitis abarca una gran extensión del país e infirió que el problema es grave en México.^{26, 54}

En otro estudio realizado en la Universidad de Toluca de agosto a diciembre de 1979 con 4114 niños en quienes se aplicó pruebas intradérmicas con antígenos de histoplasmina y coccidioidina demostraron 52 reactores a la histoplasmina y 175 a la coccidioidina, ambos de 5 mm o mas de induración. Concluyeron que aún cuando las condiciones ecologicas de la zona estudiada son propicias para la presencia de H. capsulatum el número de reactores fue bajo. Además por la alta incidencia de reactores a la coccidioidina indico que C. immitis no esta limitado a las áreas desérticas y semidesérticas y que existen micro-áreas en el Estado de México.⁵⁵

Fredich en 1989 realizo un estudio sobre la prevalencia de la

coccidioidomicosis en 1128 residentes de la ciudad de Tijuana, el cual consistió en aplicar pruebas intradérmicas con antígenos de coccidioidina y esferulina a niños de primaria, secundaria y adultos trabajadores de maquiladoras. Encontró 113 personas positivas a los antígenos y concluyo que las zonas de residencia como mesetas, valles o cañones no se relacionaban con las reacciones intradérmicas positivas.⁵⁶

En 1991 Benavides publico un trabajo realizado en Nuevo León con revisión de archivos clínicos e información de neumólogos y dermatólogos de algunos centros hospitalarios; encontró 150 pacientes: 50 del Hospital de Especialidades 25 del IMMS, 5 de la Clínica Cuauhtemoc y Famosa, 82 del Hospital Universitario "Dr Jose E. González" y 13 del Hospital 25 del IMMS, de los cuales 112 tenían localización pulmonar, 33 en piel, 6 en tejido óseo y 5 en meninges. De los 33 casos cutáneos solo uno correspondia a la forma cutánea primaria y no se encontró ni radiológicamente ni por estudio de laboratorio manifestaciones de coccidioidomicosis pulmonar activa. En este mismo estudio, de los 50 casos pulmonares encontrados en el IMSS, 36 fueron diagnosticados y tratados inicialmente contra tuberculosis; los investigadores concluyen que ante un tratamiento antifímico es necesario pensar en una coccidioidomicosis y hacer todos los estudios para obtener el diagnóstico correcto, así como ampliar la información entre los médicos sobre esta micosis para hacer un diagnóstico correcto.⁵⁷

Laniado y col en 1991 para determinar la prevalencia de infección por medio de la intradermoreacción con antígeno de C. immitis y aislar e identificar este hongo a partir del aire ambiente en la zona central de Tijuana y el reporte de casos clínicos confirmados en los habitantes del área, seleccionaron 1 142 sujetos sanos de la ciudad de Tijuana en el Estado de Baja California Norte a quienes aplicaron pruebas intradérmicas con antígenos de esferulina y coccidioidina. Detectaron 113 reactores a los antígenos, se aislo el hongo del suelo de la zona centro de la Ciudad de Tijuana y en un periodo de dos años fueron diagnosticados siete casos de coccidioidomicosis. Concluyeron que el aislamiento del agente casual a partir del suelo, la prevalencia de la infección del 10% en una muestra representativa de la población y además el diagnóstico confirmado de siete casos de coccidioidomicosis en humanos, son elementos para considerar a la ciudad de Tijuana como área endémica de la coccidioidomicosis.⁵⁸

En cuanto al Factor Inhibidor de la Migración (FIM), los pocos estudios en micosis pulmonares se han reportado en la paracoccidioidomicosis donde se han hecho estudios para evaluar el FIM con la inmunidad celular, humoral y hallazgos histopatológicos.

En esta micosis Peracoli y col en 1982 describen el comportamiento de la inmunidad humoral y celular durante la

paracoccidioidomicosis inducida testicularmente en 130 hámster machos y comparo la respuesta inmune con la morfología de las lesiones; encontró que el FIM se manifiesta a partir del 15avo día en el 50% de los ratones con una respuesta mayor entre los 60-90 días. Concluyeron que la diseminación de la paracoccidioidomicosis en los hámster esta asociada con una depresión de inmunidad celular con cambios en el patrón de los granulomas y una intensa proliferación fúngica y amiloidosis.⁵⁹

En ese mismo año Defaveri y col hicieron un estudio sobre la respuesta del FIM en una infección experimental a 100 ratones inoculados intratráquealmente con Paracoccidioides brasiliensis en los cuales encontró que la infección se presentaba desde el 30avo día y la respuesta al FIM a partir del 15avo día. Concluyeron que la vía intratraqueal representa un método altamente efectivo de infección a ratones con P. brasiliensis y que esta infección experimental tiene una forma granulomatosa con una respuesta inmune humoral y celular específicas.⁶⁰

Los mismos investigadores en 1992 estudiaron la respuesta del FIM en ratones inmunizados y no inmunizados a la paracoccidioidomicosis y encontraron una reacción positiva al FIM desde el primer día en los ratones inmunizados y en los no inmunizados entre los 8-30 días. Por lo tanto en este modelo la resistencia pulmonar contra P. brasiliensis parece estar relacionada a una reacción de hipersensibilidad tardía local y

sistémica.⁶¹

En 1993, Peracoli y col estudiaron el efecto del extracto de leucocitos dializados obtenidos de hámster inmunizados y no inmunizados con Paracoccidioides brasiliensis durante el curso de paracoccidioidomicosis experimental, evidenciaron que el FIM en presencia de antígeno paracoccidioidina o fitohemaglutinina inician la migración a partir del octavo día de la infección en ambos grupos de animales, y concluyeron que la inmunoterapia con extractos de leucocitos dializados inmune o no inmune pueden ser útiles como una terapia adicional en paracoccidioidomicosis y en otras infecciones con depresión en la inmunidad mediada por células.⁶²

J U S T I F I C A C I O N

Por lo antes citado, es evidente que desde los estudios realizados por el Dr. González Ochoa son muy pocas las investigaciones que se han realizado con el objetivo de actualizar la epidemiología de la histoplasmosis y la coccidioidomicosis en nuestro país por medio de la intradermoreacción con histoplasmina y coccidioidina para la evaluación "in vivo" de la hipersensibilidad tardía por lo tanto es difícil saber nuevos sitios de riesgo donde se puedan contraer estas micosis y además en estas micosis no se ha realizado el Factor Inhibidor de la Migración (FIM) el cual es liberado en el momento en que el antígeno se pone en contacto con los linfocitos T sensibilizados por el hongo e inhibir las actividades migratorias de macrófagos y otros leucocitos, esta producción de FIM antígeno-inducida "in vitro" coincide con el estado "in vivo" de hipersensibilidad tardía; por lo tanto es importante conocer la reacción de los linfocitos estimulados por acción de los antígenos de histoplasmina y coccidioidina en relación con los macrófagos, tanto "in vivo" como "in vitro".

Actualmente los estudiantes de carreras que salen al campo como son biólogos, médicos veterinarios zootécnicos, geólogos, antropólogos, quienes están expuestos a una serie de infecciones causadas por virus, bacterias u hongos; pueden presentar una sintomatología clínica que va desde una ligera urticaria hasta una infección severa o grave. Realizan actividades en todos los climas de la República Mexicana desde el semidesértico hasta el

tropical, con actividades muy variadas: colecta de plantas sobre superficies de rocas, arboles, pequeñas cavernas o cuevas, así como colecta de animales de todos géneros y especies; actividades que realizan en contacto directo con el material de colecta y por lo tanto están expuestos a la inhalación de las esporas de H. capsulatum y C. immitis sin ninguna protección. Por esto la importancia de difundir el conocimiento sobre la histoplasmosis y la coccidioidomicosis a estos grupos de estudiantes y concretar medidas de seguridad para prevenir la infección. Al dar a conocer los resultados obtenidos del presente estudio, se hará conciencia de los lugares considerados como sitios de riesgo para estas micosis y se propondrán medidas de seguridad para evitar en lo posterior el contacto masivo con las esporas de dichos hongos.

Es importante señalar que por la similitud en el cuadro clínico de estas micosis con la tuberculosis se aplicó una prueba con PPD para descartar una infección con el bacilo tuberculoso.

O B J E T I V O S

OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia de la reactividad cutánea a la histoplasmina, coccidioidina y PPD en estudiantes de alto riesgo de tres instituciones a nivel licenciatura en el Estado de México.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

Preparar antígenos de histoplasmina y coccidioidina con sus pruebas específicas de esterilidad, potencia y estandarización.

Difundir por medio de pláticas el conocimiento de la histoplasmosis y la coccidioidomicosis en estudiantes considerados de alto riesgo como biólogos y médicos veterinarios.

Comprobar la reacción de hipersensibilidad cutánea por medio de una prueba piloto de detección de respuesta inmune "in vitro" como el factor inhibidor de la migración (FIM) en una muestra de la población de estudiantes.

MATERIAL Y METODOS

POBLACION.

Se realizó un estudio prospectivo en 1 078 estudiantes entre 18-25 años de uno y otro sexo que pertenecían a la carrera de biología y médico veterinario zootécnista de tres instituciones del Estado de México pertenecientes a la Universidad Nacional Autónoma de México, se les impartió 14 conferencias sobre la importancia clínica de la histoplasmosis y la coccidioidomicosis, su epidemiología, la utilidad de la aplicación de los antígenos estandarizados de histoplasmina y coccidioidina y sobre medidas de prevención. Estos grupos de estudio fueron considerados grupos de riesgo debido a que salieron a prácticas de campo a algunos poblados de los Estados de Veracruz, Oaxaca, Guerrero, Hidalgo, México, Puebla y Chiapas sitios designados como endémicos por el Dr. González Ochoa desde 1964 para ambas micosis.

Del total de estudiantes 278 aceptaron participar en la investigación firmando un documento de aceptación para la aplicación de la prueba. Se les pidió llenar un cuestionario con el objetivo de recopilar datos generales: lugar de nacimiento, residencia y lugares de prácticas de campo. Anexo 1, 2

La distribución de los grupos fue: 156 del Campus Iztacala, 66 de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza (FES Zaragoza) y 56 de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FES Cuautitlán).

Dentro de los 278 estudiantes se seleccionaron 10 reactores y 10 negativos a la histoplasmina pertenecientes al Campus Iztacala a quienes se les determino en suero la prueba inmunológica del Factor Inhibidor de la Migración (FIM) para detectar in vitro la respuesta inmune celular.

ELABORACION DE LOS ANTIGENOS

La elaboración de los antígenos de histoplasmina y coccidioidina se realizó en el laboratorio de micología Dr. González Ochoa del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE) utilizando la técnica de preparación y estandarización que se efectúa en los Centros de Control de Enfermedades (CCE) de los Estados Unidos ⁶³ y el antígeno de PPD fue proporcionado por el Instituto Nacional de Higiene de la Secretaria de Salubridad y Asistencia (SSA).

A. CEPAS

Se utilizaron las cepas de Histoplasma capsulatum (fase micelial) No.: 5037, 5020, 5040, y Coccidioides immitis No.: 5432, 5247, 5215, 5235, ambas probadas en el laboratorio ya mencionado como buenas productoras de antígeno.

Los cultivos de H. capsulatum y C. immitis se conservaron en agar Sabouraud glucosa inclinado y se transfirieron a intervalos de un mes a temperatura ambiente, para su posterior uso en la preparación de los antígenos.

B. PREPARACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO Y ANTIGENOS DE PRUEBA

En 100 ml de medio de cultivo modificado Dorset-Henley (ver apéndice A) se transfirió un fragmento de micelio de aproximadamente 5-10 mm de diámetro de H. capsulatum y C. immitis por medio de un asa de nicromel y se dejó flotar en la superficie del medio. Se incubó a 25 °C por 3 meses y se observaron diariamente.

- Se examinaron los cultivos y se desecharon los atípicos y aquellos en los cuales la película no cubría la superficie del medio y se esterilizaron a 121°C por 60 min; y aquellos que al observar al microscopio el medio líquido presentara contaminación bacteriana. El uso de mascarilla y campana fue importante para evitar la inhalación de las esporas y la contaminación del aire en la zona de trabajo.

- Los cultivos puros de cada botella se filtraron en papel filtro (Wathman 2V) colocado en un embudo de acero inoxidable a un matraz de un litro de fondo plano como lo indica el diagrama I.

- Se tomaron 25 ml del medio para la prueba de esterilidad para cultivo (ausencia de patógenos). - ver apéndice B., I-

- Una muestra de 50 ml se tomó para la prueba de esterilidad in vitro y la prueba de potencia (ver apéndice B I, II y III).

Si el filtrado era libre de patógenos y tenía la potencia adecuada se embasaron los antígenos en frascos con tapón de hule, se etiquetaron y almacenaron a $3^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

C. PREPARACION DE ANTIGENOS PARA LA INTRADERMOREACCION

Se tomaron 250 ml del diluyente de glicerina, glicerol y cloruro de sodio (ver apéndice C) y se le agrego un volumen igual de la histoplasmina o coccidioidina de prueba para hacer el antígeno de las intradermoreacciones equivalente en potencia a una dilución 1:100 de la histoplasmina y coccidioidina de standard de referencia, se mezclo bien, tapo y etiqueto.

APLICACION DE LAS INTRADERMOREACCIONES

Después de limpiar perfectamente la cara anterior del los antebrazos con una torunda con alcohol al 70%, se inyectó intradérmicamente con una jeringa estéril de 1 ml, 0.1 ml. del antígeno: en el antebrazo derecho: en la parte superior se aplicó coccidioidina, y en la parte inferior PPD; y en el antebrazo izquierdo histoplasmina. Una buena aplicación se noto al observar un pequeña ámpula en la epidermis de 2 mm de altura. La lectura se tomo a las 48 horas, una reacción de 5 mm o mas de induración se considero positiva.^{22, 64}

La lectura de la prueba se realizó tomando un cuadro de papel celofán de 4 cm², se colocó en la prueba cutánea, se

copió con una pluma la zona indurada y el eritema y se pego en el cuestionario de la persona en el espacio correspondiente al resultado de la prueba.

El llenado de la jeringa así como la aplicación se realizo por la misma persona para evitar errores de procedimiento.

FACTOR INHIBIDOR DE LA MIGRACION (FIM)

En los estudiantes que presentaron reacción positiva a la histoplasmina, se les tomo 15 ml de sangre por punción venosa con una jeringa de 20 ml con 5 ml de gelatina al 3% en alsever, se mezcló bien y se dejo sedimentar en posición horizontal a 37°C por 45 minutos. El método utilizado fue el que se realiza en el laboratorio de inmunología del Campus Iztacala (ver apéndice D).

R E S U L T A D O S

Se impartieron un total de 18 platicas (previo arreglo administrativo con los jefes de departamento) a 1 078 estudiantes con el objetivo de informarles sobre la importancia clínica de la histoplasmosis y la coccidioidomicosis, su epidemiología, la utilidad de la aplicación de los antígenos estandarizados de histoplasmina y coccidioidina y sobre medidas de prevención.

De los 1 078 estudiantes que asistieron a las pláticas solo 278 aceptaron participar en el estudio de los cuales 75 casos equivalente al 27% presentaron reactividad a los antígenos distribuido de la siguiente forma: 31 (11.2%) reactores a la histoplasmina, 2 (0.7%) reactores a la coccidioidina y 42 (15.1%) reactores al PPD. Cuadro 1

La frecuencia mas alta a la histoplasmina correspondió en primer lugar al grupo del Campus Iztacala con 20 alumnos que corresponde a un 12.8%, en segundo lugar la FES Zaragoza con 6 alumnos que representa el 12.2% y en tercer lugar la FES Cuautitlán con 3 equivalente al 5.4%. Cuadro 2

La reactividad a la coccidioidina se observó unicamente en dos estudiantes de biología del Campus Iztacala con una frecuencia de 1.3%. Cuadro 1

En cuanto a los reactores al PPD los estudiantes del Campus Iztacala ocuparon el primer lugar con 22.5%, el segundo lugar la

FES Cuautitlan con 12.5% y en los estudiantes de la FES Zaragoza no se aplico. Cuadro 3

En el lugar de nacimiento y residencia de los 20 estudiantes reactivos a la histoplasmina del Campus Iztacala, se observo que 8 no cambiaron de residencia y los lugares de asistencia a prácticas se localizaron en los Estados de Veracruz, Hidalgo, Guerrero, México, Oaxaca, Michoacán y Chiapas; los 12 restantes manifestaron un cambio de residencia: 8 cambiaron de residencia al Estado de México y los lugares de práctica fueron a los Estados de Veracruz, Hidalgo, Colima, Oaxaca, México, Guerrero y San Luis Potosí; uno cambio de residencia al Estado de Puebla y el lugar de prácticas fue en el Estado de Oaxaca; dos provenian de Estados del sur del país al DF y los lugares de práctica se localizaron en los Estados de Veracruz, México, Campeche y Puebla; y uno proveniente del Estado de Oaxaca al Estado de México con practicas en Veracruz, Oaxaca, Puebla y Guerrero. Cuadro 4, 5

De los ocho estudiantes de biología de la FES Zaragoza reactivos a la histoplasmina: tres no cambiaron de residencia y los lugares de práctica pertenecian a los Estados de Hidalgo, Guanajuato, Guerrero y Puebla; cinco manifestaron cambio de residencia, tres del DF al Estado de México con lugares de práctica en el Estado de Puebla y dos provenientes uno de Chiapas y el otro de la República de El Salvador sitios

considerados endémicos para la histoplasmosis con residencia en el Estado de México y lugares de práctica en el Estado de Hidalgo. Cuadro 5, 6

Los tres estudiantes de carrera de médico veterinario de la FES Cuautitlan citaron no haber tenido cambio de residencia en toda su vida y que los lugares de prácticas de encontraban en los Estados de México, Veracruz, Guerrero, Colima y Quintana Roo. Cuadro 5, 7

De acuerdo con lo anterior se observo que los Estados con mayor frecuencia de asistencia por los reactivos a la histoplasmina son aquellos localizados en la parte centro y sur del país como son: Veracruz, Oaxaca, Guerrero, Hidalgo, México y Puebla. Cuadro 8

La asistencia de los estudiantes reactivos a la histoplasmina a las diferentes localidades en los Estados de la República Mexicana muestra que los sitios más visitados fuerón: Veracruz, Tecolutla Ver., Cerro de oro, Rio manso Oax., Zihuatanejo, Juxtlahuaca Gro., El Chico, Ixmiquilpan Hgo., Tlacualpican Pue., y Zempoala Méx. Cuadro 9, 9a

Los reactivos a la coccidioidina reportaron no haber tenido cambio de residencia y los lugares de prácticas fueron en Veracruz, Oaxaca, México, Morelos, Guerrero, Hidalgo y Michoacán estos dos últimos considerados endémicos para la coccidioidomicosis.

La producción de FIM realizada en 10 estudiantes histoplasmina positivo y 10 histoplasmina negativo del Campus Iztacala mostró un índice de migración menor a 0.8 en los capilares de estudiantes histoplasmina positivos y un índice mayor a 0.8 en los estudiantes histoplasmina negativos. Cuadro 10

Cuadro 1

Frecuencia de reactivos a la histoplasmina coccidioidina y PPD en los grupos de estudiantes de tres instituciones de la UNAM.

Grupo de estudiantes	A n t í g e n o s					
	Histoplasmina		Coccidioidina		PPD	
	No.	(%)	No.	(%)	No.	(%)
Campus Iztacala	20/156	(12.8)	2/156	(1.3)	35/156	(22.4)
FES Zaragoza	8/66	(12.1)	0/66	(0.0)	0/66	(0.0)
FES Cuautitlán	3/56	(5.4)	0/56	(0.0)	7/56	(12.5)
Total	31/278	(11.2)	2/278	(0.7)	42/278	(15.1)

Cuadro 2

Frecuencia de estudiantes reactivos a la histoplasmina en los grupos de estudio.

Grupos de estudio	Estudiantes			
	Positivos		Negativos	
	No./Total	(%)	No./Total	(%)
Campus Iztacala	20/156	(12.8)	136/156	(87.2)
FES Zaragoza	8/66	(12.1)	58/66	(87.9)
FES Cuautitlán	3/56	(5.4)	53/56	(94.6)
Total	31/278	(11.2)	247/278	(88.8)

Cuadro 3

Frecuencia de estudiantes reactivos al PPD
en los grupos de estudio.

Grupos de estudio	Estudiantes			
	Positivos		Negativos	
	No./Total	(%)	No./Total	(%)
Campus Iztacala	35/156	(22.4)	121/156	(77.6)
FES Cuautitlán	7/56	(12.5)	49/56	(87.5)
Total	42/212	(19.8)	170/212	(80.2)

Cuadro 4

Lugar de nacimiento, residencia y lugar de prácticas de los estudiantes de biología reactivos a la histoplasmina de la UNAM Campus Iztacala.

No. Alumnos	Lugar de Nacimiento	Residencia	Lugar de Práctica
8	D.F.	D.F.	Ver, Hgo, Gro, Méx, Oax, Mich, Chis
8	D.F.	Edo. Méx.	Ver, Hgo, Col, Oax, Méx, Gro, SLP
1	D.F.	Huauchinango Puebla.	Oax
1	Villa hermosa Tabasco.	D.F.	Ver, Méx
1	Tapachula Chiapas.	D.F.	Pue, Camp
1	Chazumba Oaxaca.	Edo. Méx.	Ver, Oax, Pue, Gro
----- 20	Total		

Cuadro 5

Lugares de práctica de campo, por localidad y Estado de la República Mexicana, de los estudiantes reactivos a la histoplasmina en los tres grupos de estudio.

Grupos de estudio	No. de estudiantes	Lugar de prácticas
Campus Iztacala	2	San Cristobal Chis, Colotlipa
	8	Juxtlahuaca Quechultenango Gro
	6	Zihuatanejo Acapulco Gro, Tecolutla Veracruz Morro de la mancha Ver, Ixtapan del oro y Zempoala Méx
	3	Juxtlahuaca Quechultenango Colotlipa Gro, Catemaco Ver, Colima Col
FES Zaragoza	9	
	6	Río manso Cerro de Oro Oax, Veracruz Tecolutla Ver, Acapulco Zihuatanejo Gro, Ixtapan del oro Zempoala Méx, El chico Molango Hgo
	3	Tulancingo Molango Hgo, Irapuato Gto, Zihuatanejo Gro Tlacualpican Pue
FES Cuautitlán	3	Jolalpan Tlacualpican Pue
	2	Hidalgo
FES Cuautitlán	3	Veracruz Ver, Acapulco Gro, Villa del carbón Almaraz Méx, Tapachula Chis, Manzanillo Col

Cuadro 6

Lugar de nacimiento, residencia y lugar de prácticas de campo de los estudiantes de biología reactivos a la histoplasmina de la FES Zaragoza.

No. Alumnos	Lugar de Nacimiento	Residencia	Lugar de Prácticas
1	D.F.	D.F.	Hgo, Gto, Gro.
2	Edo. Méx.	Edo. Méx.	Pue
3	D.F.	Edo. Méx.	Pue
1	Comitán, Chiapas	Edo. Méx.	Hgo
1	San Vicente, El Salvador	Edo. Méx.	Hgo
----- 8	Total		

Cuadro 7

Lugar de nacimiento, residencia y lugar de prácticas de los estudiantes de medicina veterinaria reactivos a la histoplasmina de la FES Cuautitlán.

No. Alumnos	Lugar de Nacimiento	Residencia	Lugar de Prácticas
2	D.F.	D.F.	Méx, Ver, Gro, Col, Q.Roo
1	Edo. Méx.	Edo. Méx.	México
----- 3	Total		

Cuadro 8

Asistencia los Estados de la República Mexicana por estudiantes de biología y medicina veterinaria reactivos a la histoplasmina.

ESTADO	I N S T I T U C I O N		
	Iztacala	Zaragoza	Cuautitlán
Veracruz	9/20	-	1/3
Oaxaca	8/20	-	-
Guerrero	7/20	1/8	1/3
Hidalgo	4/20	3/8	-
México	4/20	-	2/3
Puebla	2/20	4/8	-
San Luis Potosí	2/20	-	-
Michoacán	1/20	-	-
Chiapas	1/20	-	1/3
Colima	1/20	-	1/3

Cuadro 9

Asistencia de estudiantes de biología y medicina veterinaria reactivos a la histoplasmina en los Estados y localidades de la República Mexicana.

Estado	Localidad	I N S T I T U C I O N		
		Iztacala	Zaragoza	Cuautitlan
Veracruz	Veracruz	5/9	-	1/1
	Tecolutla	4/9	-	-
	Alvarado	2/9	-	-
	Morro mancha	2/9	-	-
	Catemaco	1/9	-	-
Oaxaca	Rio manso	3/8	-	-
	Cerro de oro	3/8	-	-
	Tuxtepec	2/8	-	-
	Pochutla	1/8	-	-
Guerrero	Zihuatanejo	5/7	1/1	-
	Juxtlahuaca	3/7	-	-
	Colotlipa	2/7	-	-
	Acapulco	2/7	-	1/1

Cuadro 9a

Asistencia de estudiantes de biología y medicina veterinaria reactivos a la histoplasmina en los Estados y localidades de la República Mexicana.

Estado	Localidad	I N S T I T U C I O N		
		Iztacala	Zaragoza	Cuautitlán
Hidalgo	Chico	2/4	-	-
	Molango	1/4	1/4	-
	Tolantongo	1/4	-	-
	Frailes	-	1/4	-
	San Jerónimo	-	1/4	-
	Ixmiquilpan	1/4	2/4	-
	Mextitlán	1/4	-	-
Puebla	Puebla	1/2	-	-
	Tehuacán	1/2	-	-
	Tlacualpican	-	3/3	-
	Jolalpan	-	1/3	-
México	Ixtapan del oro	2/4	-	-
	Zempoala	3/4	-	-
	Villa del carbón	-	-	1/2
	Almaraz	-	-	1/2
S.L.P.	Real 14	1/2	-	-
Michoacán	Sierra	1/1	-	-
Chiapas	Tapachula	-	-	1/1
	San Cristóbal	1/1	-	-
Colima	Manzanillo	-	-	1/1
	Colima	1/1	-	-

Cuadro 10

Indice de migración del Factor Inhibidor de la Migración (FIM) en una muestra de reactores a la histoplasmina del Campus Iztacala.

INDICE DE MIGRACION	
Histoplasmina Positivos	Histoplasmina Negativos
0.36	0.90
0.55	0.84
0.33	0.89
0.23	1.00
0.42	0.91
0.32	0.87
0.48	0.86
0.42	0.85
0.47	1.10
0.42	0.88

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Debido a la poca difusión del conocimiento de la histoplasmosis y la coccidioidomicosis en la población estudiantil sobre todo en medidas de prevención se impartieron 18 conferencias a 1 078 estudiantes de biología y medicina veterinaria zootécnica de los cuales únicamente 278 decidieron participar en el estudio quizá por la falta de información, desconfianza por algo hasta el momento desconocido por ellos, al dolor por la aplicación de una inyección intradérmica o por el resultado de las pruebas.

La diferencia cuantitativa entre los reactores a la histoplasmina en los grupos de estudio (cuadro 1,2) pudo deberse a que las actividades de los biólogos en las prácticas de campo, radican en la colecta para clasificar plantas y animales de todo género y especie, además de rocas y fósiles de pequeñas y grandes cuevas habitadas por murciélagos donde las esporas de H. capsulatum se localizan en el guano de estos animales, mientras que los estudiantes de medicina veterinaria tienen como actividad principal la visita a granjas de animales, sin embargo su frecuencia de reactividad (5.4%) se consideró importante al tomar en cuenta que no visitan cuevas y cabe la posibilidad que adquirieran la inmunidad celular por la inhalación de esporas de H. capsulatum en el manejo de aves contaminadas durante su visita a las granjas.

Además se observó una similitud en la frecuencia de reactividad entre los estudiantes del campus Iztacala y la FES Zaragoza

(12.8% y 12.2% respectivamente) debido a que ambos grupos pertenecen a la carrera de biología y las actividades que realizan en las prácticas de campo son similares.

En cuanto a los reactores a la coccidioidina solo se encontraron dos estudiantes del Campus Iztacala UNAM, quienes mencionaron que desde su niñez residen en el Distrito Federal y el Estado de México y que los lugares de práctica que visitaron fueron en el Estado de Hidalgo específicamente en el área de Ixmiquilpan, zona semiárida con las características semejantes a las reportadas en el norte del país donde existe C. immitis,^{6,7} pero dicha zona no ha sido reportada como endémica, y donde probablemente inhalaron las esporas del hongo, por lo que convendría hacer estudios al respecto en dicha área. La frecuencia de reactividad obtenida, 0.7% (cuadro 1) fue menor a la reportada por González Ochoa^{26, 27, 54} Fredich⁵⁶ y Laniado⁵⁸ quienes reportaron una incidencia de 5% o más a la coccidioidina al basar sus estudios en poblaciones cerradas, es decir, poblaciones que jamás habían salido de su lugar de origen, dato que coincide con el resultado de esta investigación.

Las intradermoreacciones al PPD se aplicaron en los estudiantes del Campus Iztacala y FES Cuautitlán con una frecuencia de reactividad de 22.4% y 12.5% respectivamente (cuadro 3), reactividad elevada en comparación con la obtenida con los antígenos de histoplasmina y coccidioidina; esta diferencia puede explicarse por el hecho de que la tuberculosis se

encuentra más ampliamente distribuida en el territorio nacional, como se observa en las estadísticas de mortalidad del país donde la tuberculosis se localizo en el 15, 16 y 17avo lugar en los años de 1993, 1994 y 1995 respectivamente,^{65,66,67} sin embargo los casos de tuberculosis han ido en aumento en los últimos años lo cual representa nuevos retos para su control.

De los 20 estudiantes reactivos a la histoplasmina del Campus Iztacala, ocho reportaron no haber tenido cambio de residencia (cuadro 4), dos de los cuales refirieron haber visitado San Cristobal Chiapas y Juxtlahuaca Quechultenango y Colotlipa Guerrero (cuadro 5) zonas publicadas como endémicas por González Ochoa^{7,49} y Taylor;^{53,68,69} los seis restantes asistieron a Zihuatanejo y Acapulco Gro, Tecolutla Veracruz y Morro de la mancha Ver, Ixtapan del oro y Zempoala Méx, aspecto importante pues estos lugares han sido reportados como no endémicos para la histoplasmosis⁷ y en donde probablemente existen fuentes de infección hasta el momento no reportadas, dato que se apoya con estudios previos donde H. capsulatum ha sido aislado del suelo de parques,⁷⁰ cerca de edificios o casas viejas,⁷¹ excavaciones de un nuevo subterráneo⁷² y ciudades como Indianapolis;⁷³ además cabe la posibilidad que los dos estudiantes que asistieron a zonas endémicas hayan sido portadores de las esporas de H. capsulatum en el material de colecta por ignorar las medidas mínimas de prevención contra dicho hongo.

Nueve mencionaron cambio de residencia del Distrito Federal (cuadro 4): ocho al Estado de México y uno al Estado de Puebla;

tres de estos nueve (cuadro 5) citaron haber visitado Juxtlahuaca Quechultenango y Colotlipa Gro, Catemaco Ver, y Colima Col, zonas reportadas por González Ochoa⁷ y Taylor^{53,67,68} endémicas para la histoplasmosis; y los seis restantes estuvieron en una situación similar a la mencionada anteriormente.

Los tres estudiantes restantes (cuadro 4) citaron haber nacido en Villa hermosa Tab, Tapachula Chis y Chazumba Oax, zonas reportadas no endémicas para la histoplasmosis,⁷ sin embargo cabe la posibilidad que en su niñez visitaran zonas endémicas aledañas a su lugar de origen como Tuxtla Gutierrez y San Cristóbal Chis, y Oaxaca Oax donde tuvieron un primo-contacto con las esporas de H. capsulatum y adquirieron la inmunidad celular y tal vez desarrollaron una enfermedad asintomática, la cual paso inadvertida, ya que como ellos mencionaron su cambio de residencia lo realizaron pasada la edad de adolescencia.

De los ocho estudiantes de biología reactivos a la histoplasmina de la FES Zaragoza (cuadro 6) tres manifestaron no haber cambiado de residencia y las prácticas de que realizaron fueron a Tulancingo y Molango Hgo, Irapuato Gto, Zihuatanejo Gro, y Tlacualpican Pue (cuadro 5), zonas reportadas no endémicas para la histoplasmosis;⁷ los siguientes tres (cuadro 6) cambiaron su residencia del Distrito federal al Estado de México y tuvieron prácticas en Jolalpan y Tlacualpican Puebla. Cabe señalar que estos estudiantes mencionaron que los sitios

visitados tenían cuevas habitadas por murciélagos los cuales colectaron, así como el guano de los mismos para estudios posteriores en el laboratorio de la institución, donde adquirieron la inmunidad celular por la inhalación de las esporas del hongo. Los dos estudiantes restantes (cuadro 6) revelaron proceder Comitán Chis y San Vicente en la República de El Salvador y aunque manifestaron no haber visitado cuevas habitadas por murciélagos durante su estancia en estos sitios, si reportaron visitas al Estado de Hidalgo.

Los tres estudiantes reactivos a la histoplasmina de medicina veterinaria de la FES Cuautitlán refirieron no haber tenido cambio de residencia (cuadro 7) y sus prácticas de campo fueron a Veracruz Ver, Acapulco Gro, Villa del carbón y Almaras Méx, Tapachula Chis, y Manzanillo Col (cuadro 5), zonas consideradas no endémicas para la histoplasmosis ⁷ lo que hace pensar que existen animales contaminados con las esporas de H. capsulatum en las granjas que ellos visitan.

Con base a los resultados obtenidos se observó que los lugares de práctica más visitados por los estudiantes de biología y medicina veterinaria (cuadro 8) se localizaron en algunos Estados del centro y sur del país donde como señaló González Ochoa ^{6,7} el medio ambiente favorece el desarrollo de H. capsulatum. Además se consideraron significativos tomando en cuenta que las poblaciones visitadas por los estudiantes (cuadro 9, 9a) a excepción de Catemaco Ver, San Cristóbal Chis,

Colima Col, Juxtlahuaca Quechultenengo y Colotlipa Gro, son zonas no estudiadas, lo cual amerita una investigación en población abierta en los Estados de Hidalgo, Puebla, Michoacán y México principalmente con el objetivo de actualizar la epidemiología de estas micosis, hacer estudios de aislamiento del hongo en esas zonas para identificar las fuentes de infección e informar a la población estudiantil que va con frecuencia a esos lugares; además de concientizarlos sobre la importancia de la aplicación de pruebas intradérmicas con los antígenos antes de asistir a esos lugares y las formas de prevención.

Es importante mencionar que existió una respuesta mixta en seis estudiantes del Campus Iztacala con los antígenos de histoplasmina y PPD, hecho interesante ya que si los estudiantes llegaran a desarrollar histoplasmosis podría ser tratada en un inicio como tuberculosis por su similitud en el cuadro clínico si el estudiante no hace referencia de su reactividad a la histoplasmina.

En cuanto a la determinación de la respuesta inmune "in vitro" realizadas a una muestra del Campus Iztacala, la producción de FIM coincide con el estado "in vivo" de hipersensibilidad celular del dador de linfocitos; esto es, los linfocitos de los individuos normales que manifestaron hipersensibilidad cutánea tardía hacia el antígeno de histoplasmina produjeron "in vitro" FIM frente al mismo antígeno, en tanto que los linfocitos

FIM frente al mismo antígeno, en tanto que los linfocitos de individuos que no presentaron hipersensibilidad tardía hacia este antígeno no lograron elaborar FIM al ser estimulados in vitro. Esto, debido a que la histoplasmina bloqueó la migración de los macrófagos que se encontraban en las poblaciones celulares de los individuos sensibles a dicho antígeno. Estos resultados concuerdan con los hallazgos obtenidos por Peracoli y col^{59,62} y Defaveri y col^{60,61} quienes demostraron una actividad FIM en sueros de ratones infectados con Paracoccidioides brasiliensis, y en piel de cobayos, con reacción de hipersensibilidad tardía, identificaron factores quimiotácticos para macrófagos, aunque no es comparable con este estudio por ser trabajos experimentales, apoya que lo encontrado in vitro tienen realmente efecto in vivo.

Por lo antes expuesto se concluye que:

Existen reactores a la histoplasmina, coccidioidina y PPD en los estudiantes de las carreras de biología y medicina veterinaria zootecnista que tienen prácticas de campo en las tres instituciones estudiadas.

Existe un alto riesgo de contraer histoplasmosis y coccidioidomicosis en los Estados de México, Hidalgo, Puebla y Michoacán, sitios reportados como no endémicos para estas micosis.

La prueba in vitro del Factor Inhibidor de la Migración confirma a una prueba in vivo de reactividad cutánea para la detección de hipersensibilidad tardía.

B I B L I O G R A F I A

1. Rippon JW. Micología médica. 3a ed. México: Interamericana 1990; 402-506
2. Ellis HD. Clinical mycology. The human opportunistic mycoses. Australia: Guillaingham printers 1994;
3. Bustamante ME. Syposium sobre histoplasmosis primaria en México. Epidemiología. Gac Méd Méx 1964; 29(3):179-196
4. Bonifaz A. Micología médica básica. México: Mendez Cervantes 1991; 215-50
5. González OA. Las micosis pulmonares en México y Centro América. Rev Invest Salud Pública 1969; 29(3):179-96
6. González OA. Symposium sobre histoplasmosis primaria en México. Generalidades. Aspectos del problema en México. Gac Méd Méx 1964; 95(5): 509-18
7. González OA, Felix D. Distribución geográfica de la reactividad cutanea a la histoplasmina en México. Rev Invest Salud Publ 1971; 31(2):74-77
8. Mandell GL, Douglas R, Bennet JE. Principles and practice of infectious disease. Vol II. 5a ed. USA: Churchill livingstone 1995; 2340-74
9. Maresca B, Kobayashi GS. Dimorphism in Histoplasma capsulatum: a model for the study of cell diferentiation in pathogenic fungi. Microbiol Rev 1989; 53:186-209
10. Spitzer ED, et al. Use of mitochondrial and ribosomal DNA polymorphisms to classify clinical and soil isolates of Histoplasma capsulatum. Infect Immun 1989; 57: 1409-12
11. Keat EJ, et al. Classification of Histoplasma capsulatum by restriction fragment length polymorphisms in a nuclear gene. J Clin Microbiol 1992; 30:2104-07
12. Vincet RD, et al. Classification of Histoplasma capsulatum isolates by restriction fragment polymorphisms. J Bacteriol 1986; 165(3): 813-18
13. Medoff G, et al. Morphogenesis and pathogenicity of Histoplasma capsulatum. Infect Immun 1987; 55: 1355
14. Gomez AM, et al. Role of L3T4+ cells in host defense against Histoplasma capsulatum. Infect Immun 1988; 56: 1685-91

15. Allendoerfer R, et al. Transfer of protective immunity in murine hystoplasmosis by a CD4+ T cell clone. Infect Immun 1993; 61: 714-18
16. Wheat LJ, et al. Disseminated histoplasmosis in the acquired immune deficiency syndrome: clinical findings, diagnosis and treatment, and review of the literature. Medice 1990; 69: 361-74
17. Newman SL, et al. Phagocytosis of Histoplasma capsulatum yeast and microconidia by human cultured macrophages and alveolar macrophages. J. clin Invest 1990; 85: 223-30
18. Deepe GS. Role of CD18+ T cells in host resistance to systemic infection with Histoplasma capsulatum in mice. J Immunol 1994; 152: 3491-500
19. Kimberlin CL, et al. Interaction between Histoplasma capsulatum and macrophages from normal and treated mice: comparison of the mycelial and yeast phases in alveolar macrophages and peritoneal macrophages. Infect Immun 1981; 34: 6-10
20. Vargas OF. Histoplasmosis. Salud Pública de México 1987; 29(3): 201-5
21. Torres M, Diaz T, Sada E. Evaluation of enzyme linked immuno sorbet-assay and western blot for diagnosis of histoplasmosis. Rev Invest Clin 1993; 45(2): 155-60
22. Sarosi G, et al. Clinical usefulness of skin testing in histoplasmosis, coccidioidomycosis and blastomycosis.
23. Margini RA. Inmunología e inmunoquímica. 4a ed. Argentina: Panamericana 1989
24. Drutz DJ, Catanzaro A. Coccidioidomycosis. Am Rev Respir Dis 1978; 117(parte I): 559-85
25. Youmans GP, Summer HM. The biologic and clinical basis of infectious diseases. 4a ed. Philadelphia: W.B. Saunders company 1992; 208-14
26. González OA. La importancia médica de la coccidioidomycosis en la frontera entre México y Estados Unidos de América. Salud Pública de México 1968; 10(3): 319-26
27. González OA. Epidemiología de la coccidioidomycosis en México. Invest Salud Pública; 97(11): 1383-91

28. Warren KS, Mahwoud AF. Tropical and geographical medicine. España: Mc Graw-Hill, Inc 1984; 916-20
29. Pappagianis D, Zimmer BL. Serology of coccidioidomycosis. Clin Microbiol Rev 1990; 3: 247-68
30. Galgiani JN. Inhibition of different phases of Coccidioides immitis by human neutrophils or hydrogen peroxide. J Infect Dis 1986; 153(2): 217-22
31. Frey CL, Drutz DJ. Influence of fungal surface components on the interaction of Coccidioides immitis with polymorphonuclear neutrophils. J Infect Dis 1986; 153(5): 933-43
32. Beaman L, Benjamini E, Pappagianis D. Activation of macrophages by lymphokines: enhancement of phagosome-lysosome fusion and killing of Coccidioides immitis. Infect Immun 1983; 39(3): 1201-07
33. Kirkland TN, et al. Coccidioides immitis fraction which are antigenic for immune T lymphocytes. Infect Immun 1991; 59(11): 3952-61
34. Dugger KO, et al. An immunoreactive apoglycoprotein purified from Coccidioides immitis. Infect Immun 1991; 59(7): 2245-51
35. Catanzaro A. Suppressor cell in coccidioidomycosis. Cell Immunol 1981; 64: 235-45
36. Harvey RP, Stevens DA. In vitro assays of cellular immunity in progressive coccidioidomycosis. Am Rev Respir Dis 1981; 123: 665-69
37. Cox RA, Pope RM, Stevens DA. Immune complexes in coccidioidomycosis. Am Rev Respir Dis 1982; 126: 439-43
38. Brass C, Levine HB, Stevens DA. Stimulation and suppression of cell-mediated immunity by endospore antigens of Coccidioides immitis. Infect Immun 1982; 35(2): 431-36
39. Cox RA, Backer BS, Stevens DA. Specificity of immunoglobulin E in coccidioidomycosis and correlation with disease involvement. Infect Immun 1982; 37(2): 609-16
40. Galgiani JN, Grace GM. New serologic test for early detection of coccidioidomycosis. J Infect Dis 1991; 163: 671-74

41. Martins TB, et al. Comparison of commercially available enzyme immunoassay with traditional serological test for detection of antibodies to Coccidioides immitis. J Clin Microbiol 1995; 33(4): 940-43
42. Isselbaker KJ, et al. Principios de medicina interna. Vol I. 13a ed. Madrid: Mc Graw Hill Interamericana 1994; 827-36
43. Torales TA, González SN, Hernández PM. Tuberculosis. En Infectología clínica pediátrica. 5a ed. Editada por González SN, Torales TA, Gómez BD. México: Trillas 1993; 129-63
44. Pelzcar MJ, Chan EC. Elementos de microbiología. México: Mc Graw Hill 1984; 489-91
45. Smith DT, et al. Microbiología de Zinser. 3a ed. México: Union topográfica editorial hispano americana 1967; 595-628
46. Rose BN, Friedman H. El laboratorio en inmunología clínica. 2a ed. Argentina: Panamericana 1984; 246-60
47. Eisen HN. Inmunología. España: Salvat editores 1979; 598
48. Gordon BL. Lo esencial de la inmunología. 2a ed. México: Manual moderno 1975; 20-24
49. González OA. Investigación de la reactividad cútanea a la histoplasmina, tuberculina y coccidioidina relacionada con catastro torácico en Yucatán. Rev Inst Salubr y Enf Trop 1948; 9(1):55-63
50. González OA. Epidemiología de la histoplasmosis primaria en México. Rev Inst Salubr Enf Trop 1963; 23: 65-80
51. González OA. Panorama de las micosis profundas. Rev Invest Salud Pública de México 1981; 35: 85-96
52. Becerril M, et al. Investigación de la respuesta inmune a antígenos fúngicos en pacientes de un hospital de enfermedades respiratorias. Rev Mex Mic 1985; 1: 211-26
53. Taylor M. Histoplasmosis in the state of Guerrero, Mexico: a biological approach. Rev Mex Mic 1994; 10: 49-62
54. González OA. La coccidioidomicosis en México. Rev Invest Salud Públ Méx 1966; 26(3): 245-62
55. Alvarez RM, Diaz MH, Sánchez A. Intradermorreacción para determinar la tasa de infección primaria de H. capsulatum y C. immitis, en la población escolar de los municipios de Zinacantepec y Toluca. Tesis, UAEM Toluca México.

56. Fredich BE. A skin test survey or valley fever in Tijuana, Mexico. Soc Mex Med 1989; 29(10): 1217-27
57. Benavides GS. Panorama de la coccidioidomycosis en Nuevo León de 1978 a 1988. Gac Méd Méx 1991; 127(5): 427-433
58. Laniado LB, et al. Tijuana: zona endémica de infección por Coccidioides immitis. Salud Pública de México 1991; 33(3): 235-39
59. Peracoli MT, Mota NG, Montenegro MR. Experimental paracoccidioidomycosis in the Syrian hamster. Morphology and correction of lesions with humoral and cell mediated immunity. Mycopathologia 1982; 79: 7-17
60. Defaveri J, Rezkallah IM, Franco MF. Experimental pulmonary paracoccidioidomycosis in mice: morphology and correlation of lesions whit humoral and celular immune respons. Mycopathologia 1982; 77: 3-11
61. Defaveri J, Rezkallah IM, Franco MF. Pulmonary Paracoccidioidomycosis in immuniced mice. Mycopathologia 1992; 119: 1-9
62. Peracoli MT, Rezkallah IM, Mota NG, Montenegro MR. Dialysable leukocyte extracs modify the course of experimental paracoccidioidomycosis in the Syrian hamster. Mycopathologia 1993; 149-56
63. Production and testing methods for histoplasmin. Bacterial vacciones section. Divition of biologic products Michigan department of public healt. Michigan 48; 914-1917
64. Criepp MD. Clinical immunology and allergy. USA: Grune & Stratton 1962
65. Dirección General de Información y Estadística. Mortalidad 1993. México, D.F. Secretaría de Salud 1994
66. Dirección General de Información y Estadística. Mortalidad 1994. México, D.F. Secretaría de Salud 1995
67. Dirección General de Información y Estadística. Mortalidad 1995. México, D.F. Secretaría de Salud 1996
68. Taylor ML, Pérez MA, Yamamoto FJ, Granados J. Immunogic, genetic and social human risk factors associated to histoplasmosis: Studies in the State of Guerrero, Mexico. Mycopathology 1997; en prensa

69. Taylor ML, Granados J, Toriello C. Biological and sociocultural approaches of histoplasmosis in the State of Guerrero, Mexico. *Mycoses* 1996; 39: 375-79
70. Emmons CH. Isolation of Histoplasma capsulatum from soil in Washington, D.C. *Public Health Rep* 1961; 76:591-96
71. Di Salvo AF, Johnson WJ. Histoplasmosis in South Carolina: support for the microfocuss concept. *Am J Epidemiol* 1979; 109(4):480-92
72. Leznoff A, Frank H, Telner P, Rosensweig J, Brandt JL. Histoplasmosis in Montreal during the fall of 1963, with observations on erythema multiforme. *Canad Med Ass J* 1964; 91:1154-60
73. Wheat LJ, col. A large urban outbreak of histoplasmosis: clinical features. *Ann Inter Med* 1981; 94:331-37
74. Morton R, Hebel J, Mc Carter R. *Bioestadística y epidemiología*. México: Interamericana 1993
75. López LC. *Salud pública*. México: Interamericana 1993
76. Velázquez JL. *Redacción del escrito médico*. 3a ed. México: Prado 1995

A N E X O S

A N E X O 1

ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO CON HISTOPLASMINA COCCIDIOIDINA Y PPD

Fecha de estudio _____

Nombre _____ No. _____

Edad _____ Sexo _____

Escuela _____ Carrera _____ Semestre _____

Tipo de Alergias _____

Lugar de Nacimiento _____ Tiempo _____

Lugar de Residencia _____ Tiempo _____

Ultimas prácticas al campo _____

Próximas prácticas de campo (Lugar y tiempo de estancia) _____

Resultados de las pruebas con la medición
en mm de induración

HISTOPLASMINA

COCCIDIOIDINA

PPD

A N E X O 2

CARTA DE CONSENTIMIENTO PARA EL ESTUDIO INMUNOLOGICO
DE HISTOPLASMOSIS Y COCCIDIOIDOMICOSIS

Fecha _____

A QUIEN CORRESPONDA:

El suscrito _____ hace constar que la Dra. _____ ha explicado en forma clara y sin dejar duda alguna, el motivo de esta investigación.

Hizo énfasis en el beneficio que el estudio pueda aportar a los conocimientos actuales sobre el campo.

Firma del alumno

Nombre _____

Domicilio _____

Télefono _____

Testigo

Testigo

Nombre _____

Nombre _____

Domicilio _____

Domicilio _____

Teléfono _____

Teléfono _____

A P E N D I C E

A P E N D I C E A

PREPARACION DEL MEDIO DE CULTIVO MODIFICADO
DORSET-HENLEY

Reactivos.

L-Asparagina	14.00 g
Fosfato dipotásico	1.31 g
Citrato de sodio	0.74 g
Sulfato de magnesio	1.50 g
Citrato férrico	0.30 g
Dextrosa	10.00 g
Glicerol	25.00 g
Agua destilada	1 000 ml

Se diluyen 100 ml en matraz con tapón de algodón o 250 ml en matraz Erlenmeyer y se esteriliza en autoclave 11-12 libras de presión durante 25 minutos.

A P E N D I C E B

PRUEBAS UNICAS PARA EL PROCEDIMIENTO

I. *Pruebas del cultivo para determinar ausencia de hongos patógenos.*

- Añadir 1 ml de antígeno crudo en medio con agar Sabouraud inclinado.
- Incubar a 25°C por cuatro semanas.
- Examinar y anotar los resultados a intervalos semanales.

II. *Prueba "in vitro" para la demostración de ausencia de hongos patógenos.*

- Inyectar 0.5 ml del antígeno intraperitonealmente a ocho ratones de 16-20 grs de peso cada uno.
- Revisar la condición de los mismos diariamente por cuatro semanas.
- Se realiza necropsia a todos los animales moribundos durante la observación periódica y a los sobrevivientes a las cuatro semanas al finalizar la prueba, sembrar de la necropsia un fragmento de hígado y bazo en placas de gelosa sangre cisteina glucosada y agar Sabouraud inclinado.
- Incubar a 35° C por siete semanas.
- Examinar el desarrollo de hongos patógenos semanalmente.

III. *Prueba de potencia.*

Prueba cútanea en conejillos de india sensibilizados.

- Preparación del antígeno.

Adicionar una cantidad igual de adjuvante de Freud completo al antígeno concentrado justo antes de la inyección.

- Meclar bien.

- Sensibilización de conejillos de india: en conejillos de india hembras de 600 - 700 grs de peso inyectar aproximadamente 0.25 ml de la mezcla adjuvante-antígeno, dentro del tejido muscular en cada lado del cuello posterior a nivel de las orejas. Usar una jeringas hipodérmica de 2 ml y agujas de 3/4" de longitud.

Un mes después probar la sensibilidad en cada conejillo por inyección intradérmica sobre el costado con 0.1 ml de solución del antígeno, equivalente en potencia a 0.1 ml de una dilución 1:100 del antígeno de referencia.

Examinar el sitio de la inyección 20-24 horas después y medir la longitud y el diámetro transversal de cada reacción.

Los conejillos que muestran eritema de 10-20 mm se emplearan para la prueba con los antígenos de referencia y los de prueba.

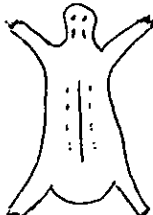
- Procedimiento de pruebas. Prueba preliminar

Rasurar los conejillos tan cerca como sea posible de la espalda y los costados a 3 conejillos sensibilizados.

Preparar una serie de diluciones del antígeno de referencia por duplicado con el diluyente del antígeno para

la primera dilución y en salina para las diluciones restantes, empezar en 1:100; 1:200; 1:400 y 1:800; o empezar 1:200; 1:400; 1:800 y 1:1600, dependiendo de la sensibilidad de los animales. Preparar una serie similar de diluciones de los antígenos de prueba, i.e., 1:100; 1:200; 1:400 y 1:800 ó 1:200; 1:400; 1:800 y 1:1600.

Sujetando al animal, se marcar la espalda de cada uno de ellos para localizar la posición de cada una de las cuatro inyecciones intradérmicas. Estas posiciones quedan cerca de 2 cm sobre cualquier de los dos lados de la columna vertebral como lo muestra el bosquejo.

Antígeno de referencia			Antígeno de prueba	
1:100	1:200		1:100	1:200
1:200 ó	1:400	1:200 ó	1:400	
1:400	1:800	1:400	1:800	
1:800	1:1600	1:800	1:1600	

Sostener los animales e inyectarles 0.1 ml de cada solución intradérmicamente en la posición dada en el bosquejo. Usar jeringas para tuberculina se 1 ml y agujas de tamaño 3/8" (intradérmica).

En el lado izquierdo del animal inyectar la serie de diluciones de los antígenos de referencia y en el derecho la serie de diluciones de los antígenos de prueba.

Después de 20-24 horas medir la reacción. Anotarlas con un número de registro.

Medir a las 40-48 horas después de la inyección para confirmar las reacciones de los antígenos de prueba.

A las 24 horas de reacción se determina si los antígenos fueron equivalentes o ligeramente mas potentes que los antígenos de referencia y por lo tanto según los cálculos se diluyeron 1:200 para su aplicación.

- Procedimiento de pruebas. Prueba final.

Los antígenos obtenidos estuvieron entre 1:100 y 1:300 con los de referencia por lo tanto se hicieron diluciones 1:200 para su aplicación.

A P E N D I C E C

PREPARACION DE SOLUCION PARA INTRADERMOREACCION

Reactivos

Glicina	6.0 g
Glicerol	15.0 ml
Cloruro de sodio	3.0 g
Agua destilada	1 000 ml

Se ajusta el pH a 7.3 con NaOH al 1N con un contador Beckman G, se filtra y esteriliza con dos hojas de papel aluminio grueso para evitar la contaminación con pelusas a 121°C por 30 minutos.

Esterilizado se reemplaza el tapón de aluminio por uno de goma estéril.

Se adiciona timerosal 10% para hacer una concentración final de 0.0025% y el volumen perdido se reemplaza con agua esteril y se mezcla bien.

A P E N D I C E D

INHIBICION DE LA MIGRACION CELULAR

Técnica directa para leucocitos
periféricos humanos.

1. Recolectar sangre periférica sobre 5 ml de gelatina en alsever al 3% heparina (15 ml de sangre) mezclar bien y dejar sedimentar a 37°C por 30-45 min.
2. Sin mover la jeringa y con ayuda del capuchon, doblar la aguja hacia abajo para formar un ángulo de más o menos 50°. Apoyar el embolo sobre la mesa y presionar suavemente para extraer el plasma rico en leucocitos (las primeras gotas se eliminan para impedir la contaminación con eritrocitos). Recibir el plasma en un tubo cónico con tapón de rosca estéril gota por gota.
3. Lavar los leucocitos en alsever por centrifugación a 2 000 rpm durante 5 minutos dos veces. Si es necesario se da un choque osmótico para eliminar los eritrocitos con agua destilada durante 20-30 segundos. Lavar nuevamente y resuspender en 1 ml de medio de cultivo para hacer un conteo de las células en la cámara de Neaubauer y ajustar a una concentración de 4×10^6 células/ml.
4. Con la suspensión anterior llenar tubos capilares hasta 3/4 de su capacidad, sellar por un extremo a la flama del mechero y

centrifugar a 2 000 rpm durante 3 minutos para empaquetar las células. Cada capilar se corta en la interfase células-sobrenadante y colocar la porción que contiene las células en el fondo de una cámara de Bloom, previamente sellada una de sus caras con un portaobjetos con parafina. Fijos los capilares, cubrir las cámaras en su otra cara con un porta objetos y sellar con parafina.

5. Llenar las cámaras por los orificios superiores, una con medio de cultivo y la otra con medio y 0.1 ml de antígeno. Hacer el llenado con cuidado para no afectar a las células de los capilares y no dejar burbujar. Sellar los orificios con parafina e incubar en una caja de petri en posición horizontal a 37°C por 48 horas.

6. A las 48 horas medir el área de migración, para lo cuál se proyectan las cámaras directamente sobre el papel por medio de una amplificadora fotográfica o proyector de acetatos. Dibujar las áreas de migración sobre el papel, recortar y pesar.

Calcular el índice de migración:

$$IM = \frac{\text{Peso promedio de las áreas de migración con antígeno}}{\text{Peso promedio de las áreas de migración sin antígeno}}$$

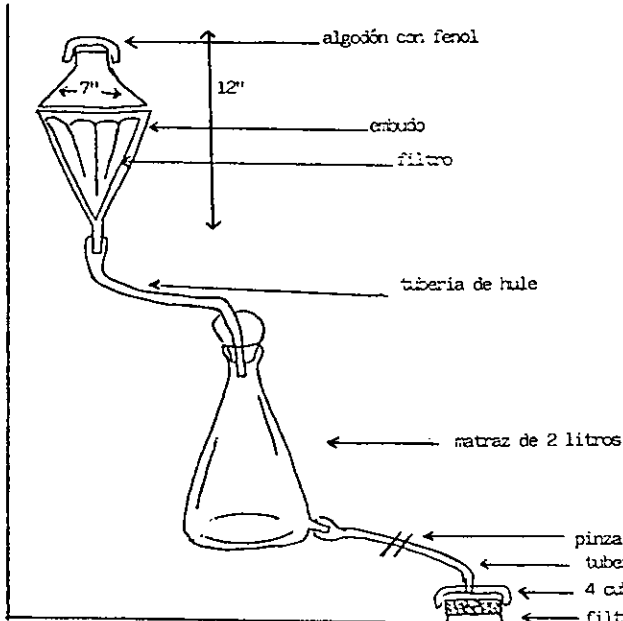
Si los capilares incubados con antígeno presentan un índice de migración menor a 0.8 indica que hubo producción de FIM y por lo tanto el individuo tiene una buena respuesta inmune de tipo

D I A G R A M A I

Filtración de los cultivos de Histoplasma capsulatum
y Coccidioides immitis

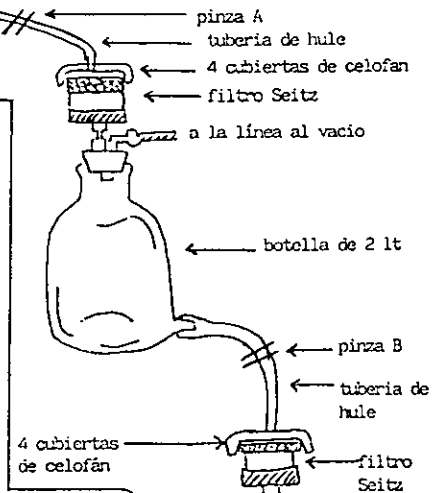
Paso 1:

Cerrar con pinza A
mientras se filtra
a través del papel
por gravedad.



Paso 2: Filtración para clarificar

Cerrar pinza B
Abrir y cerrar pinza B cuando sea necesario
El nivel de filtrado se observa a través del
celofán.



Paso 3: Filtración final

Abrir y cerrar pinza B cuando sea necesario
el nivel se puede observar a través del
celofán.

