

Estudio Epidemiológico de la Coccidioidomicosis en el Valle de Comayagua

Edmundo R. Poujol - Carlos A. Javier ()*

INTRODUCCIÓN

La coecidioidomicosis, enfermedad producida por el hongo *Coccidioides immitis*, parece estar restringida al Nuevo Mundo (1) y aún en este continente existe principalmente en forma endémica sólo en determinadas áreas geográficas, tal como se puede ver en la tabla N° 1.

TABLA N° 1

Áreas endémicas de coecidioidomicosis

País	Estado o región
Estados Unidos (2)	Valle de San Joaquín (California). Zonas fronterizas con México.
México (2)	Zonas fronterizas con Estados Unidos
Guatemala (9)	Valle del Río Motagua
Venezuela (3)	Falcón, Lara, Zulia
Bolivia (1)	Santa Cruz
Paraguay (1)	Boquerón y Olimpo
Argentina (1)	Catamarca, Córdoba, La Pampa, La Rioja, Mendoza, San Luis, Santiago del Estero, Tucumán

Todas estas regiones se caracterizan por tener un clima caliente, terreno seco y árido, estar situados a poca altura sobre el nivel del mar y porque la vegetación es de tipo semidesértico. En estos lugares el hongo se encuentra en la tierra en su forma filamentosa y produce un tipo especial de esporas (artrosporas, clamido-artrosporas) muy livianas, fácilmente arrastradas por el viento y que son las formas infectantes del hombre al ser inhaladas.

Condiciones similares se encuentran en el Valle de Comayagua: situado a 700 metros sobre el nivel del mar. La temperatura media en los meses de marzo a octubre es de 25°C, con una máxima de 34.8°C; de noviembre a febrero la temperatura media es de 21 °C y la mínima no baja de 15.5°C. Lluève de mayo a junio y de septiembre a octubre (192 mm de precipitación pluvial, promedio); llueve poco en julio y agosto y no llueve de noviembre a abril. Vientos de 10 a 12 millas por hora soplan durante todo el año, especialmente de febrero a mayo. La mayor parte del territorio del valle (375 Kms² entre los departamentos de Comayagua y La Paz) no está cultivado y abunda la vegetación de tipo desértico, como espinos y cactus (Figs. 1 y 2).

(*) Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Médicas
Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

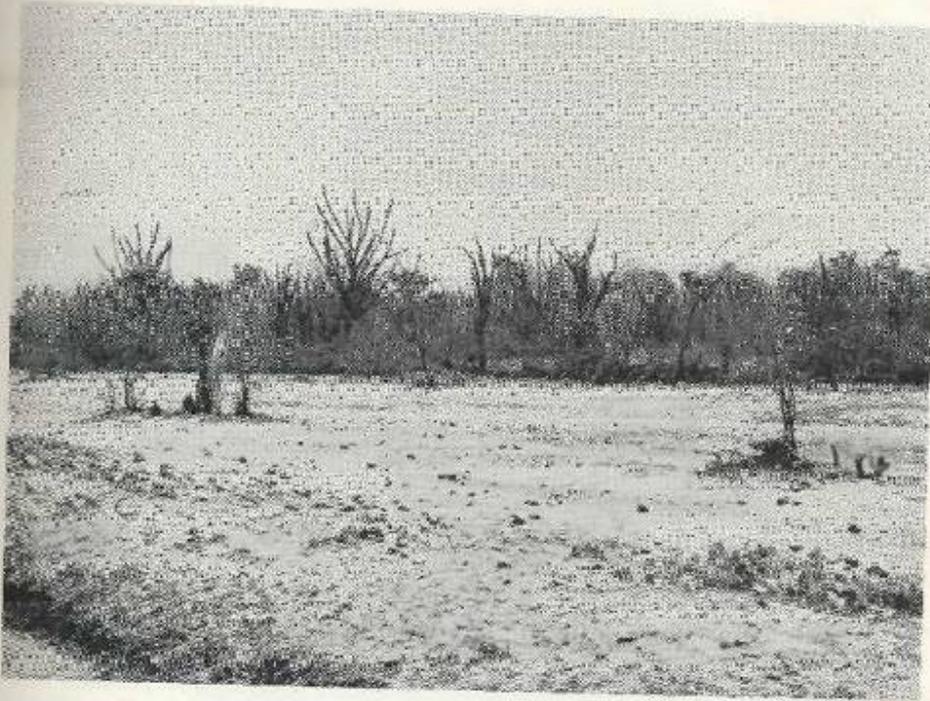


Fig. 1



Fig. 2

Los primeros estudios sobre la existencia de la coccidioidomicosis en Honduras fueron realizados por los médicos norteamericanos Hoeckenga y Tucker (1950) (8) en La Lima Nueva, Departamento de Cortés y por Scott (1951) (12) en Tela, Departamento de Atlántida, quienes realizaron encuestas sobre la reacción cutánea a 3a coccidioidina en la población general, obteniendo los primeros 4.1% de reacciones positivas y el segundo 1%. En 1955, Corrales Padilla comunicó el primer caso centroamericano de coccidioidomicosis, diagnosticado clínica y micológicamente en Tcugucigalpa, en 1951, en un paciente originario de Nacaome y residente en el valle de Comayagua. Posteriormente este mismo caso fue reevaluado por Castro y Trejos (4) en San José? Costa Rica. Ante este hallazgo y conociendo las características climáticas del Valle de Comayagua, Trejos realizó una encuesta epidemiológica en diferentes localidades del valle y en 1957 pruebas de coccidioidina practicadas a individuos de toda edad encontró 15.1% de reacciones positivas (9); los intentos para aislar el hongo de la tierra resultaron negativos. En 1967, Cueva (6) presentó en el XII Congreso Médico Centroamericano dos casos de coccidioidomicosis pulmonar, uno originario de La Ceiba, Atlántida, y el otro de Lamani, localidad del Sur del Valle de Comayagua. Además de lo anterior, Alvarado (2) en colaboración con la División de Tuberculosis del Ministerio de Salud Pública, realizó entre 1963 y 1965 una encuesta epidemiológica en diferentes lugares del departamento de Francisco Morazán y en 8.052 personas estudiadas obtuvo sólo 3% de reacciones positivas. Por los datos anteriores, desde hace ya varios años se considera al Valle de Comayagua como una de las pocas áreas endémicas de coccidioidomicosis que existen en América.

El propósito de este trabajo es doble: 1. Comprobación (por personal hondureño) de los trabajos realizados por Trejos y 2. Tratar de aislar *Coccidioides immitis* de la tierra del valle.

MATERIAL Y MÉTODOS

Reacción a la coccidioidina

Se practicó la prueba de la coccidioidina a un total de 1.022 escolares de 6 a 21 (la mayor parte entre 7 y 11), de ambos sexos, originarios del Valle de Comayagua y residentes en la ciudad de Comayagua; por circunstancias especiales sólo pudo hacerse la lectura en 490, que son los que constituyen el material humano de este estudio. Se prefirió hacer el trabajo con escolares porque son los individuos que con más probabilidad han permanecido en el valle sin viajar a otros lugares, no habiendo tenido la oportunidad de adquirir la infección fuera del área en estudio.

Se inyectó 0.1 ml de coccidioidina diluida 1:100 en la cara anterior del antebrazo. La lectura se hizo a las 48 horas, considerándose positiva una induración de 5 mm o más, con o sin eritema; el eritema solo no se consideró como reacción positiva.

Aislamiento del hongo

Se obtuvieron muestras de tierra de quince lugares diferentes del valle. De cada lugar se tomó una muestra de la superficie del terreno y otra a 30 cms. de profundidad. Todas las muestras provenían de la parte Norte del Valle de Comayagua: terrenos cultivados, terrenos no cultivados, terrenos baldíos, corrales, potreros y polvo de la carretera. Se recorrió una extensión de aproximadamente 100 Kms². Estas muestras fueron trasladadas al laboratorio en bolsas plásticas.

Se siguió el método propuesto por Omieczynski y Swatek (11) con algunas modificaciones. Se pesan 20 gramos de tierra y se suspenden en 90 ml de agua destilada estéril, se agita fuertemente y se deja reposar durante una hora. Con pipeta estéril se extrae la parte más superficial del sobrenadante y se coloca 1 ml en un tubo estéril, se agrega cloramfenicol en una proporción final de 1 mg por ml y se deja reposar por una hora más. De aquí en adelante se siguieron dos procedimientos: a) inoculación en ratones y b) siembra directa en medios de cultivo.

En el primer método se inoculó por vía intraperitoneal 1 ml de la suspensión en cada uno de cinco ratones. Dos semanas después se sacrifican mediante asfixia en presencia de gas propano e inmediatamente se hace la autopsia del animal. Se observa cuidadosamente ante la posibilidad de encontrar lesiones sospechosas, como nódulos o **tumoraciones**; cuando las hay, se les hace examen directo y cultivo. Se extrae el hígado, el bazo, ambos riñones y ambos pulmones y se colocan en una caja de Petri estéril en donde se cortan con tijeras hasta reducirlos a pequeños fragmentos. Los fragmentos de cada órgano se colocan en lugares separados en un mismo frasco de Kolle. se dejan transcurrir 5 o 10 minutos para que se adhieran al vidrio y luego se **vierten** cuidadosamente aproximadamente 25 ml de **Mycobiotic Agar** (Difco) recientemente preparado y enfriado a 45-50°C, ladeando suavemente el frasco para que el medio cubra todos los fragmentos. Se deja solidificar en posición **horizontal** y se le agregan otros 25 ml del mismo medio de cultivo (Fig. 3). Se deja solidificar y se incuba por 2 o 3 semanas a temperatura ambiente. Dada la variedad en el aspecto de la colonia de *C. immitis* se hizo observación microscópica de todas las colonias que crecieron en cada cultivo, lo cual se efectuó de la siguiente manera:

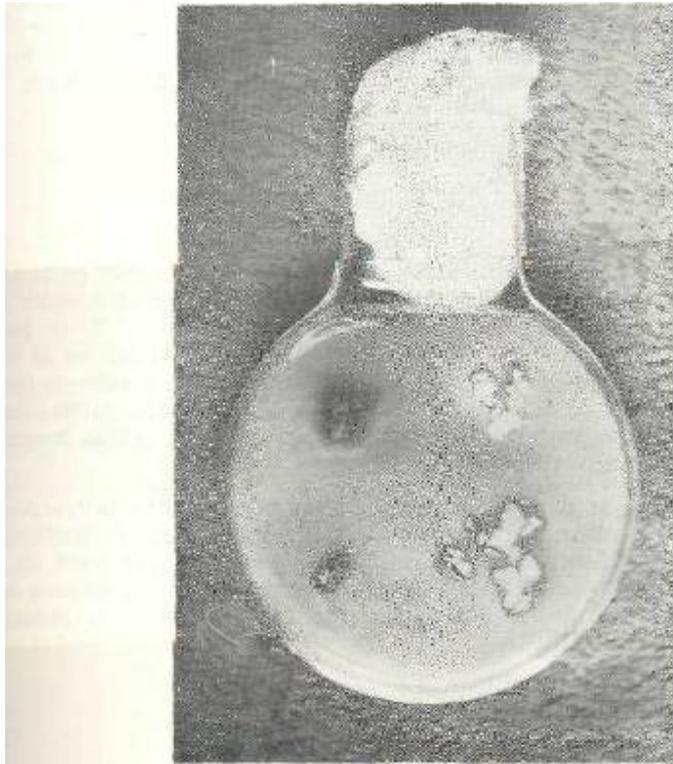


Fig. 3

Frasco de Kolle con fragmentos de tejido incluidos en el medio de cultivo

Con una jeringa de plástico de 5 cc (con tapón de hule en el extremo del émbolo) y aguja N^o 18 de 120 mm de largo o más, se toma aproximadamente 1 ml de solución salina estéril; sin destapar el frasco, se introduce la aguja entre el tapón y la pared del cuello del frasco en dirección a la colonia seleccionada para su estudio. Estando la punta de la aguja cerca de la colonia se pueden seguir dos procedimientos: a) colocar una gota grande de solución salina en el centro de la colonia y raspar con el bisel de la aguja la superficie de la colonia a fin de desprender el micelio o b) abrir con la punta de la aguja, al lado de la colonia, un agujero en el medio de cultivo de aproximadamente 1 cm de diámetro, llenarlo de solución salina, raspar la superficie de la colonia y arrastrar el micelio hacia el agujero. La suspensión del micelio se vuelve a aspirar suavemente con la jeringa; una gota se observa al microscopio entre porta y cubreobjetos y el resto se mantiene sin contaminación dentro de la aguja para hacer resiembras en caso necesario.

Las colonias con características macro y microscópicas semejantes a *C. immitis* se resembraron en Mycobiotic Agar para purificarlas, reestudiarlas y hacer inoculaciones en caso necesario.

Para el método de siembra directa, 1 ml de la suspensión de tierra se mezcló con 25 ml de Mycobiotic Agar recientemente preparado y enfriado a 40-45°C, se homogenizó por rotación y se vertió en frascos de Kolle estériles; se dejó solidificar, se incubó a temperatura ambiente por 2 o 3 **semanas** y las colonias se examinaron en la forma ya descrita. Se sembraron tres frascos de Kolle **por** cada suspensión de tierra (1 ml en cada uno).

RESULTADOS

Con el objeto de obtener información acerca de la distribución de la edad en el material humano estudiado, así como para conocer la relación entre este dato y el tiempo de residencia en el valle, se elaboró la Tabla N^o 2. Se puede apreciar que la gran mayoría (90%) de las personas habían vivido en el valle durante toda su vida, correspondiendo la edad con el tiempo de residencia (cifras de la línea oblicua, recta descendente) y que un grupo pequeño (10%) había permanecido por tiempos variables sin relación con la edad (cifras irregularmente distribuidas en la parte superior).

En la Tabla N^o 3 se relaciona la edad de las personas con la reacción a la coccidioidina. Puede observarse que solo dieron reacción positiva (induración de 5 mm o más) individuos mayores de 10 años, que la mayor parte de las reacciones positivas tenían un diámetro de 10 a 19 mm y que el número total de reactores positivos fue de 42, lo que corresponde a 8.7% de la población estudiada.

TABLA Nº 2

Población estudiada según edad y tiempo de residencia

R	Edad en años cumplidos														Tr		
	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19		20	21
<1							1	1	1	2		1		1			9
1				2	3		1	1	2			1					10
2			2					2		1		1	1				7
3					1					1	3	3		1			9
4						1		1		1	1						9
5				2			1		2	1							6
6	4						1					1					6
7		33															33
8			40						1								41
9				41													41
10					52	1											53
11						46											46
12							35										35
13								57									57
14									32	1							33
15										35							35
16											20						20
17												19					19
18													14				14
19														10			10
20															1		1
21																1	1
Te	4	33	42	45	56	48	39	62	40	42	24	26	15	12	1	1	490

R: Tiempo de residencia en años

Tr: Total por tiempo de residencia

Te: Total por edades

TABLA N° 3

Reacción a la coccidioidina según la edad

Edad en años	Diámetro de la induración en milímetros				Total*
	0-4	5-9	10-19	20 o más	
6	4				
7	33				
8	42				
9	45				
10	54	1	1		2
11	43	3	2		5
12	36		3		3
13	59		3		3
14	36	1	3		4
15	37	1	4		5
16	18		6		6
17	21	1	4		5
18	10	2	2	1	5
19	9	1	1	1	3
20	0		1		1
Total	448	10	30	2	42
% sobre 490	91.4	2.2	6.0	0.4	8.7

*; Con más de 5 mm.

La Tabla N° 4 se elaboró pensando que el resultado de la reacción depende en parte del mayor o menor grado de exposición a las esporas del hongo y que éste, a su vez, está relacionado con la edad de la persona. Puede observarse que, con algunas irregularidades, la frecuencia de reacciones positivas, es decir, el porcentaje de reactores positivos aumenta con la edad. La Fig. 1 demuestra más objetivamente lo expresado en relación con la Tabla N° 4, o sea que aunque con altibajos la curva tiende a subir.

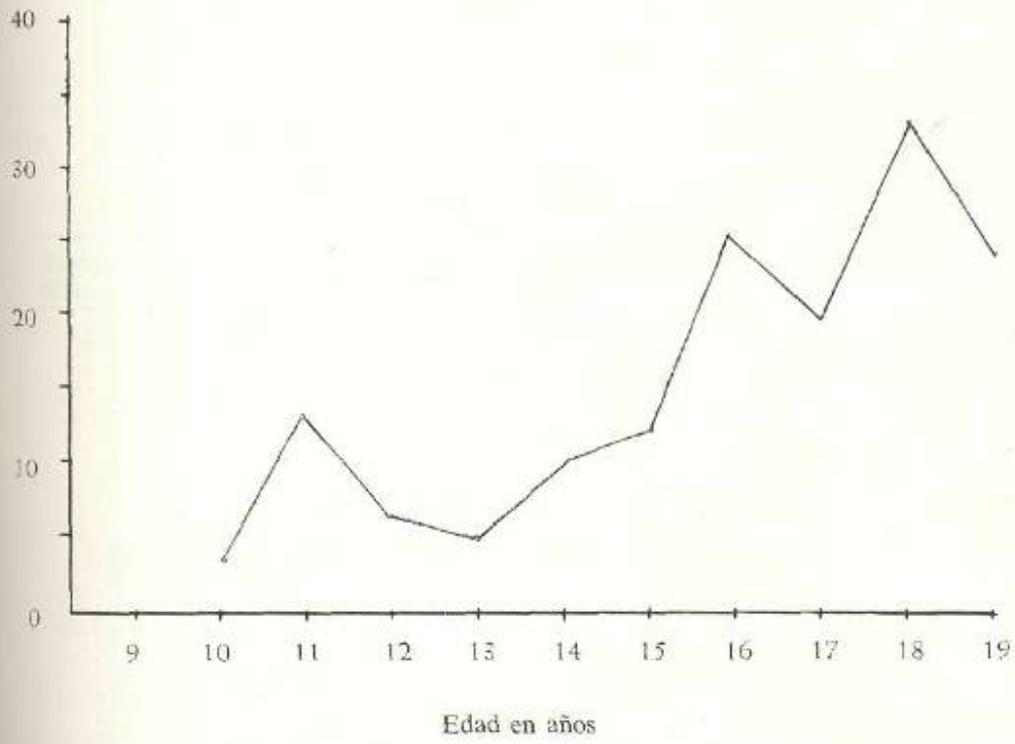
TABLA N° 4

Reactores positivos a la coccidioidina según la edad

Edad en años	Personas estudiadas	Reactores positivos	
		N°	%
6	4	0	0
7	33	0	0
8	42	0	0
9	45	0	0
10	56	2	3.6
11	48	5	10.4
12	39	3	7.7
13	62	3	4.8
14	40	4	10
15	42	5	12
16	24	6	25
17	26	5	20
18	15	5	33
19	12	3	25
20	1	1	100
21	1	0	0
Total	490	42	8.7

GRAFICA Nº 1

Reactores positivos a la coccidioidina según la edad



En las Tablas Nos. 5 y 6 se relaciona la reacción a la coccidioidina con el tiempo de residencia en el valle, pensando que este dato podría tener más relación con la exposición a las esporas del hongo que la edad de la persona. En la Tabla N° 5 puede apreciarse que sólo dieron reacción positiva individuos con dos o más años de permanencia en la región. En la Tabla N° 6 no se observa aumento en la frecuencia de reactores positivos con el aumento de tiempo de residencia semejante al observado en la Tabla N° 4 y en la figura 1.

Aislamiento del hongo

En ninguna de las muestras de tierra analizadas se aisló *Coccidioides immitis*, a pesar del gran número de colonias estudiadas.

TABLA N° 5

Reacción a la coccidioidina según el tiempo de residencia

Tiempo de residencia en años	Diámetro de la induración en milímetros				Total*
	0 - 4	5 - 9	10 - 19	20 o más	
< 1	9				
1	10				
2	6		1		1
3	8		1		1
4	2	1	1		2
5	6				
6	4		2		2
7	33				
8	41				
9	41				
10	50	2	1		3
11	42	2	2		4
12	33		2		2
13	54		3		3
14	30		3		3
15	33	1	1		2
16	14		6		6
17	15	1	3		4
18	9	2	2	1	5
19	7	1	1	1	3
20	0		1		1
21	1				
Total	448	10	30	2	42
% sobre 490	91.4	2	6.1	0.5	8.7

*: con más de 5 mm.

TABLA N° 6

Reactores positivos a la coccidioidina según el tiempo de residencia

Tiempo de residencia en años	Personas estudiadas	Reactores positivos	
		N°	%
< 1	9	0	0
1	10	0	0
2	7	1	14
3	9	1	11
4	4	2	50
5	6	0	0
6	6	2	33.3
7	33	0	0
8	41	0	0
9	41	0	0
10	53	3	5.6
11	46	4	8.7
12	35	2	5.7
13	57	3	5.2
14	33	3	9.1
15	35	2	5.7
16	20	6	30
17	19	4	21
18	14	5	35.7
19	10	3	30
20	1	1	100
21	1	0	0
Total	490	42	8.7

DISCUSIÓN

Reacción--a la coccidioidina

El alto porcentaje de reactores positivos a la coccidioidina encontrado por Trejos (9) (17.5%) en habitantes del Valle de Comayagua y la baja frecuencia de estas reacciones en otras regiones del país informada por Hockenga y Tucker (8) (4.1%, La Lima), **Scott** (12) (1%, Tela) y Alvarado (2) (3%, Depto. de Francisco Morazán), indican, que el Valle de Comayagua es una zona endémica de coccidioidomicosis. Sus características climáticas son similares a las de las otras zonas endémicas que existen en América (Tabla N° 1).

Sin embargo; estos datos sólo se refieren a la micosis-infección, única que revela la prueba cutánea. La micosis-enfermedad es rara, como lo indica el hecho de que sólo se hayan encontrado 3 casos en 18 años. Es probable que la mayoría de las formas primarias de la enfermedad pasen desapercibidas o se confundan con infecciones respiratorias virales o bacterianas que curan espontáneamente dejando como única huella la evidencia inmunológica, es decir, la hipersensibilidad cutánea a la coccidioidina. Se puede considerar, igual que en Argentina (10), que la coccidioidomicosis en el Valle de Comayagua no es un problema grave de salud pública, pero que amerita el conocimiento por parte del médico general, sobre todo porque la forma generalizada de la enfermedad se puede confundir con otras afecciones pulmonares, como lo demuestra el hecho de que

los dos casos presentados por Cueva (6) eran pacientes que se encontraban en el Instituto Nacional del Tórax con diagnósticos de tuberculosis pulmonar y cáncer pulmonar.

El dato de 8.7% de reactores positivos a la coccidioidina (tabla N° 3) es menor que el obtenido por Trejos, pero era de esperarse tomando en cuenta la edad de los dos grupos estudiados. Trejos trabajó con población general y en este trabajo se incluyó únicamente a escolares cuyas edades oscilaban entre 6 y 21 años (la mayoría entre 7 y 15) y se supone que entre mayor es la edad, es también mayor la posibilidad de entrar en contacto con el hongo (Tabla N° 4 y figura 1).

Es lógico pensar que en un estudio de este tipo es más importante el tiempo de residencia en el valle que la edad de la persona, ya que el primer dato es el que determina realmente la posibilidad de exposición a las esporas del hongo. Esto hizo suponer que los datos de la Tabla N° 6 serían más uniformes que los de la Tabla N° 4. Sin embargo, los de la Tabla N° 6 son aún más irregulares que los de la N° 4 y no demuestran la relación esperada. Probablemente la infección por *Coccidioides immitis* no depende exclusivamente de las oportunidades de entrar en contacto con el hongo, sino que además intervienen factores de sensibilidad individual que probablemente estén relacionados con la edad de la persona. Esto se podría pensar observando el hecho de que sólo dieron reacción positiva los individuos de 10 años de edad o mayores (Tabla N° 3), a pesar de que en la tabla N° 5 se observa que el tiempo mínimo de permanencia en el valle para obtener una reacción positiva (cuando menos en este estudio) es de 2 años. La influencia de la sensibilidad individual se puede también observar en el hecho de que no hay relación entre la intensidad (diámetro) de la reacción y la edad de la persona y el tiempo de residencia en el valle (Tablas N° 3 y N° 5).

Vale la pena continuar haciendo este estudio en todas las poblaciones del Valle de Comayagua a fin de aumentar la casuística y obtener datos más significativos.

Aislamiento del hongo

Esta parte de la investigación pudo llevarse a cabo en nuestro medio gracias a las modificaciones efectuadas a los métodos ya establecidos para el aislamiento del hongo de la tierra, para adaptarlos a nuestras posibilidades.

El frasco de Kolle empleado tiene la misma o mayor superficie que la caja de Petri corriente y además tiene la ventaja de ser un frasco que se puede tapar con algodón o gasa y que permite, dada su boca ancha, estudiar los hongos sin necesidad de remover el tapón. El empleo de estos frascos y la técnica descrita para el estudio de las colonias permite realizar este tipo de estudios en laboratorios cuyos recursos les impiden la obtención de una campana de protección. Algunas personas acostumbran usar tapones de algodón en las fosas nasales, sin embargo, aunque es posible que este método proteja al operador, no evita la contaminación del ambiente.

Aunque faltarían estudios para explicar por qué no se obtuvieron resultados positivos, se pueden sugerir las siguientes causas:

- a) Las muestras se tomaron al azar, en todo tipo de terreno. No se tomó tierra de las cuevas de roedores, de donde se aísla con más frecuencia (1). Tampoco se estudiaron vísceras de roedores.
- b) Las muestras se tomaron únicamente de la parte Norte del valle, en una zona que abarca aproximadamente el 40% de la extensión total. Faltaría comprobar estos resultados en la parte Sur del valle.

- c) En este estudio se analizó un total de 30 muestras. Es probable que sea necesario estudiar un mayor número de muestras.
- d) Conviene estudiar la composición química de la tierra del valle, ya que podrían haber factores que afecten la viabilidad del hongo (1).
- e) Podría ser que la densidad de las esporas en el terreno sea muy pequeña en comparación, por ejemplo, con la que existe en la zona del desierto de California y Arizona. Cabe mencionar que en Latinoamérica solo se ha aislado el hongo en tierras de la ciudad de Hermosillo, Sonora, México (en 1 de 54 muestras) (13) y, dada su proximidad, podría considerarse como prolongación de la zona endémica de Estados Unidos, con similar densidad de esporas.

RESUMEN

Conociendo la existencia de una zona endémica en el Valle de Comayagua, se decide comprobar los resultados de los primeros estudios hechos en población general mediante el uso de la prueba de coccidioidina. En este trabajo se estudiaron escolares entre 6 y 21 años de edad y se obtuvo 8.7% de reactores positivos. Se demuestra correlación entre la frecuencia de reactores positivos y la edad de las personas.

Se trató de aislar *Coccidioides immitis* de la tierra del valle. Se discuten las posibles causas de los resultados negativos. Se explican las ventajas del método usados para el manejo de *C. immitis* con poco riesgo de contaminación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.—AJELLO, L.: Comparative ecology of respiratory mycotic disease agents. *Bact. Rev.* 31: 6-24, 1967.
- 2.—ALVARADO L., R.: Resultado del estudio epidemiológico de la histoplasmosis y coccidioidomicosis realizado en la República de Honduras. *Rev. Med. Hond.* 34: 250-258, 1966.
- 3.—CAMPINS, H.: Coccidioidomicosis. Comentarios sobre la casuística venezolana, en *Micosis Profundas en Venezuela con Referencia Especial a las Micosis Pulmonares*. W. Junk Den Haag (ed), Amsterdam, 1961, pp. 306-316.
- 4.—CASTRO, A. y Trejos, A.: Constatación del primer caso centroamericano de coccidioidomicosis. *Rev. Biol Trop.*, 1: 83-93, 1953.
- 5.—CORRALES PADILLA, H.: Micosis profundas en Honduras. *Rev. Med. Hondur.* 23: 1019-1057, 1955.
- 6.—CUEVA, A.: Micosis Pulmonares, en *Memorias del XII Congreso Médico Centroamericano*, Tegucigalpa, D. C, Colegio Médico de Honduras, 1969, Vol. III.
- 7.—EDWARDS, P. Q. y PALMER, C. E.: Prevalence of sensitivity to coccidioidin with speceial reference to specific and non specific reactions to coccidioidin and histoplasmin. *Dis. Chest* 31: 35-60, 1957.
- 8.—HOECKENGA, M. T. y TUCKER, M. P.: Sensibilidad a la histoplasmin y coccidioidina en Honduras. *Bull. Pan. Am. San. Sur.* 29: 1135-1138, 1950.

- 9.—MAYORGA, R.: Coccidioídomicosis in Central America, en Proceedings of the II Coccidioidomycosis Symposium, L. **Ajello** (Ed.), Tucson, The University of Arizona Press, 1967, pp. 287-291. '
- 10.—NEGRONI, P.: Coccidioidomycosis in Argentina, en Proceedings of the II Coccidioidomycosis Symposium, L. Ajello (Ed.) Tucson, The University of Arizona Press, 1967, pp. 273-278.
- 11.—OMIECKZINSKI, D. T. y SWATEK, F. E.: The comparison of two methods for the direct isolation of *Coccidioides immitis* from the soil using **toore** different media; en **Proceeding** of the **II** Coccidiotdomycosis Symposium, L. Ajello (Ed.) Tucson, The University of Arizona Press, 1967, pp. 265-272.
- 12.—SCOTT, V.: Histoplasmin, coccidioidin and tuberculín sensitivity in Honduras. Am. J. Trop. Med. 31: 27-32, 1951.
- 13.—SOTOMAYOR, C; MADRID, G. y TORRES ENRIQUEZ, A.: Aislamiento de *Coccidioides immitis* del suelo de Hermosillo. Sonora, México. Rev. Latinoamer. **Microbio!**. 3: 237-238, 1960.

Se agradece al Dr. Rubén Mayorga, del Departamento de Microbiología de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de San Carlos, Guatemala, quien proporcionó la **coccidioidina** empleada en este estudio.