

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**DIAGNÓSTICO DE COCCIDIOIDOMICOSIS A TRAVÉS DE LA
TÉCNICA DE INMUNODIFUSIÓN EN PERSONAS QUE VIVEN CON
VIH/SIDA DE LA CLÍNICA FAMILIAR "LUIS ANGEL GARCÍA" DEL
HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS, GUATEMALA**

Informe de Tesis

presentado por

Ingrid Lorena Lima Portillo

Para optar al título de

Química Bióloga

Guatemala, noviembre del 2003

D.L

06

T(2156)

JUNTA DIRECTIVA

M. Sc. Gerardo Arroyo Catalán	Decano
Licda. Jannette Sandoval Madrid de Cardona	Secretaria
Licda. Gloria Elizabeth Navas Escobedo	Vocal I
Lic. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal II
Dr. Federico Adolfo Richter Martínez	Vocal III
Br. Carlos Enrique Serrano	Vocal IV
Br. Claudia Lucía Roca Berreondo	Vocal V

DEDICATORIA

A DIOS

Por iluminar mi vida y no olvidarme en los momentos difíciles.

A la Virgen María

Por ser ejemplo de perseverancia, paciencia y amor.

A mis Padres

Mario Lima Catalán, quien desde el cielo comparte conmigo este triunfo.

Thelma Portillo de Lima, la mujer que más admiro y amo, quien con su ejemplo de lucha y fortaleza me enseñó el camino de la vida por donde debía andar; quien supo guiarme con sabios consejos, amor y apoyo en todo momento para enfocarme por el camino del bien.

Gracias.

A mi Esposo

Marcos Valladares, amigo, compañero y amor inseparable desde el comienzo; quien supo compartir muchos de los años más importantes de mi vida, quien me ha brindado su apoyo incondicional, amor, paciencia, comprensión, y colaboración en la culminación de mi formación profesional.

A mis Hermanas

Ivy y Janina, por enseñarme el verdadero significado de amor en familia y brindarme su apoyo incondicional.

A mis Sobrinos

Mario Estuardo, Marco José y Gustavo Adolfo, con todo el amor del mundo.

A mi cuñado

Marco Antonio Fuentes, por su apoyo incondicional.

A mis compañeros

En especial a Gabriella, Karla, Martha Julia, Héctor Guerra, Herbert Solís, Héctor Meckler, Jhoni Alvarez y Ana Myriam Vargas, deseándoles el mayor de los éxitos siempre.

AGRADECIMIENTO.

A M.S.c Blanca Samayoa y al Doctor Eduardo Arathoon , asesores de este trabajo, por haberme brindado todo su apoyo y haber compartido conmigo sus conocimientos para la realización del mismo.

Al Doctor Demóstenes Pappagianis, por brindarnos su apoyo incondicional para realizar este estudio.

Al personal de la Clínica Familiar “Luis Angel García” y a la Licenciada Karla Escobar, por brindarme su amistad y apoyo incondicional.

A la Licenciada Alba Marina de Valdes por el apoyo que me brindó para culminar este trabajo.

A las Familias
Valladares Ríos y González Soto, gracias por su apoyo y cariño.

INDICE

I	RESUMEN	01
II	INTRODUCCION	03
III	ANTECEDENTES	05
IV	JUSTIFICACION	13
V	OBJETIVOS	14
VI	HIPOTESIS	15
VII	MATERIALES Y METODOS	16
VIII	RESULTADOS	20
IX	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	24
X	CONCLUSIONES	27
XI	RECOMENDACIONES	28
XII	REFERENCIAS	29

I. RESUMEN

Las personas que viven con virus de inmunodeficiencia humana/síndrome de inmunodeficiencia adquirida (VIH/SIDA), son más susceptibles a algunas infecciones micóticas, como la causada por *Coccidioides immitis* y que pueden desarrollarse en forma agudas o crónicas. *C. immitis*, es un hongo dimórfico que se encontró en la zona endémica conocida como Valle del Río Motagua y que comprende los departamentos de Izabal, El Progreso y Zacapa. Tiene requerimientos nutricionales mínimos, como los encontrados en regiones semiáridas con vegetación de tipo xerófito, suelo alcalino y rico en sales minerales, clima seco y polvoriento y con escasa precipitación pluvial. El objetivo principal de este estudio fue diagnosticar las infecciones producidas por *Coccidioides immitis* por medio de la técnica de inmunodifusión en pacientes que viven con VIH/SIDA (PVVS). La técnica de inmunodifusión estuvo compuesta por agarosa, glicina, cloruro de sodio y azida de sodio.

Para la inmunodifusión del antígeno de *C. immitis* fueron utilizados como controles, sueros positivos y negativos. El proceso de inmunodifusión se realizó por 48 horas y se interpretaron resultados por medio de la formación de líneas específicas de precipitación. El estudio fue prospectivo, no probabilístico, por intención; en donde se incluyó a 125 pacientes que acudieron en un período de tres meses, a la Clínica Familiar "Luis Angel García", especializada en el diagnóstico y tratamiento de PVVS, del Hospital San Juan de Dios.

Este estudio confirmó que en Guatemala, el grupo etéreo más afectado por la epidemia del VIH/SIDA es de los 18-28 años. Los departamentos que reportan mayor número de personas infectadas fueron Guatemala (ciudad), Escuintla, El Progreso e Izabal, estos dos últimos pertenecientes a la zona endémica conocida como Valle del Río Motagua.

Para realizar un diagnóstico certero de coccidioidomicosis se necesitan de datos de laboratorio como hematología y radiografía de tórax, ambas mostraron resultados fuera de valores normales. En el diagnóstico diferencial de Coccidioidomicosis, se debe descartar la presencia de cualquier enfermedad del tracto respiratorio. Un alto porcentaje de los pacientes presentaron desde amigdalitis, hasta casos aislados y poco numerosos de tuberculosis e histoplasmosis. Al realizar la prueba de inmunodifusión, dos de ellos presentaron anticuerpos para *C. immitis*, confirmada por cultivo y observación en histopatología, con lo que se anula

la hipótesis que sostiene que menos del 1% de las personas que viven con VIH/SIDA, presentan anticuerpos IgM ante *C. immitis*. Además confirma que la agarosa sigue siendo eficaz para la identificación de *C. immitis*. Por lo anterior es necesario incluir en el diagnóstico de *C. immitis* como rutina la prueba de inmunodifusión en pacientes que viven con HIV/SIDA.

I. INTRODUCCION

Casi todos los hongos microscópicos llegan al organismo en la forma de esporas que se inhalan en los pulmones o se filtran en una herida de la piel o mucosa. Si el sistema inmune del paciente no destruye tal hongo, este se multiplica y diseminan en todo el cuerpo. Casi todos los sujetos sanos pueden vencer fácilmente el ataque inicial de alguna infección micótica, pero las personas con virus de inmunodeficiencia humana/síndrome de inmunodeficiencia adquirida (VIH/SIDA), son más susceptibles a algunas infecciones micóticas agudas o crónicas, y a padecimientos que son consecuencia de dicha infección. Dentro de estas infecciones micóticas se encuentra la causada por *Coccidioides immitis* (3).

La infección se adquiere por inhalación de artroconidias presentes en el aire. Dos terceras partes de las personas con infecciones primarias son asintomáticas por completo y es posible que la infección solo sea evidente por desarrollo de anticuerpos precipitantes y una prueba cutánea positiva en dos a tres semanas. En el resto, puede producirse una enfermedad coccidioidal primaria, manifestada por una enfermedad parecida a la influenza, Como fiebre, malestar general, tos, artralgia y cefalea. Este síntoma complejo se conoce como "Fiebre del Valle" ó "Reumatismo del Desierto" y se resuelve espontáneamente (1).

La coccidioidomicosis en pacientes con VIH/SIDA suele presentarse con neumonitis reticulonodular difusa rápidamente mortal. Debido a la superposición radiológica entre esta enfermedad, y la neumonía por *Pneumocystis carinii* y las terapéuticas distintas para estas dos entidades, es importante la detección temprana y certera de una neumonía coccidioidal en pacientes con HIV/SIDA. Los hemocultivos son frecuentemente positivos para *C. immitis* (1,2).

La coccidioidomicosis diseminada es comparable con la tuberculosis, pues desarrolla lesiones en muchos órganos, huesos y en el sistema nervioso central. El diagnóstico micológico puede realizarse por examen directo, histología y/o cultivo que permita

confirmar la presencia del hongo causal. Estos procedimientos son difíciles para obtener el agente causal, por lo que es necesario contar con pruebas serológicas que orientan al diagnóstico y brinden apoyo en el seguimiento de los pacientes. Además de dichas pruebas se cuenta con la inmunodifusión, fijación de complemento y precipitación (14).

Actualmente se realiza la inmunodifusión como un estudio con mayor utilidad en la identificación inicial, seguida de fijación de complemento para confirmar el diagnóstico (15). Se ha denotado que la inmunodifusión que actualmente se realiza puede dar un cierto margen de error debido a la turbidez que presenta el agar, el cual contiene agarosa además de otros reactivos (15).

Este estudio propone utilizar el método de inmunodifusión con el medio denominado Gelrite, (el cual ha sido utilizado en Estados Unidos en aproximadamente 20,000 sueros durante más de tres años), para el diagnóstico inicial de coccidioidomicosis en personas que viven con VIH/SIDA. El mismo ha sustituido por completo las pruebas realizadas en agarosa (2). El Gelrite, contiene un polisacárido producido por una especie de *Pseudomonas sp.*, el cual brinda una transparencia necesaria para la rápida y confiable identificación inicial de las muestras positivas, y además, nos permitirá obtener información de la relación de coccidioidomicosis versus personas que viven con VIH/SIDA.

II. ANTECEDENTES

A. Aspectos Históricos

En Guatemala se han realizado varios estudios sobre coccidioidomicosis desde Andrade (1945), quien realizó un estudio sobre la reactividad dérmica con coccidioidina en la ciudad de Guatemala, encontrando un 0.5% de positividad. La mitad de casos provenían de los departamentos de Zacapa y Chiquimula, área que actualmente se conoce como endémica. Este estudio dió la base para localizar una región potencialmente endémica de coccidioidomicosis (6). Mayorga *et al* (1971), describieron el área endémica de coccidioidomicosis en el Valle del Río Motagua en base a la ecología de la región (7); luego David *et al* (1977), realizaron una encuesta epidemiológica en el oriente del país, donde observó un 20.8 % de positividad a la coccidioidina en Usumatlán, Zacapa; confirmando la zona como endémica. Con la intención de aislar el hongo de la zona endémica (8). Enríquez *et al* (1978) realizó un análisis químico, físico y microbiológico del suelo del área y encontró algunas de las características ecológicas necesarias para el crecimiento de este hongo, tales como aridez, sanidad, pH adecuado, poca vegetación, etc, pero no logró el aislamiento del hongo (9). Luego Muñoz (1983), logró el aislamiento de *C. immitis* en una toalla de barbería en el departamento de Totonicapán, área endémica de *Trichophyton schoenleinii* (10). Actualmente el porcentaje reportado de personas que viven con VIH/SIDA y coccidioidomicosis, en Guatemala, es menor al 1%, debido a los problemas de identificación que se han observado (11).

En 1981, en Estados Unidos, se dieron los primeros reportes de infección de VIH en pacientes hombres que tienen relaciones sexuales con hombres (HSH) y drogadictos. Las rutas de transmisión de los factores de riesgo de HIV-2 y HIV-1 son similares, pero los efectos patogénicos del VIH-1 son mayores (12).

A finales de 1997, se habían acumulado 1.7 millones de casos de SIDA reportados por la Organización Mundial de la Salud (OMS, por sus siglas en español) (12).

Se estima que a nivel mundial habían 13 millones de pacientes con VIH entre adultos y niños según la OMS y UNAIDS (Junta de Naciones Unidas del Programa de VIH/SIDA por sus siglas en inglés) (12).

Hasta finales del 2001, UNASIDA (Programa de la Junta de Naciones Unidas) estimó que 2.8 millones de personas estaban infectadas con VIH y SIDA en Latino y Centroamérica. De estos el 20%, eran mujeres. Aproximadamente 210,000 eran casos de adultos y niños infectados con SIDA. El 70% de esta cifra esta localizada en Brasil, México, Argentina y Honduras (13). En los primeros años de la epidemia de VIH en Latinoamérica, cerca del 50% de infecciones reportadas eran de HSH y bisexuales; la transmisión heterosexual contribuía otro 25% (12).

En Guatemala se han reportado, según el Ministerio de Salud, de 1984 a la fecha, más de 4,500 casos positivos de SIDA, de los cuales los grupos etáreos más afectados son de 15 a 49 años, lo cual constituye un 88.21% de la cifra original (11).

1. VIH y Enfermedades Fúngicas.

Las enfermedades infecciosas provocadas por los hongos se denominan micosis. Los hongos, son microorganismos eucariotas y aunque hay miles de hongos en la naturaleza, relativamente pocos son patogénicos para los humanos sanos. Algunas micosis (por ejemplo, blastomicosis, coccidioidomicosis, histoplasmosis y paracoccidioidomicosis), están asociadas a patógenos primarios, teóricamente capaces de infectar a cualquiera presente en un área endémica (4). La inmunidad contra la micosis es principalmente celular, e incluye neutrófilos, macrófagos, linfocitos y quizás, células asesinas naturales (NK) (4).

La incidencia de cada una de estas micosis conocidas como oportunistas en las personas con VIH/SIDA ha aumentado de forma brusca en los últimos años (14,15). Los problemas respiratorios son por lo general las complicaciones que más comúnmente se presentan en pacientes con VIH/SIDA. Entre ellos encontramos una amplia gama, desde un resfriado común hasta infecciones causadas por *M. tuberculosis* y algunos hongos propios de la región como lo son *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum* y *Paracoccidioides brasiliensis*. Estos últimos son los causales de las micosis profundas, caracterizándose por la producción de cuadros pulmonares primarios, causando signos y síntomas característicos a una infección de las vías respiratorias bajas; a partir de las cuales puede diseminarse al resto

del cuerpo y producir lesiones granulomatosas. Estos hongos viven como saprófitos en la naturaleza produciendo micelio y conidias, las cuales ingresan al sistema respiratorio al ser inhaladas, éstas crecen y sufren una transformación morfológica debido a cambios metabólicos formando levaduras. Aunque la mayoría de personas no desarrollan síntomas, estos pueden ser graves o mortales al progresar (2,4).

Un estudio prospectivo indica que cada año, 10% de las personas con VIH que viven en áreas endémicas pueden contraer la infección activa de coccidioidomicosis. Esto puede ser rápidamente nuevo o reactivar infecciones y son particularmente parecidas en pacientes con conteo de células CD4 por debajo de 250 mm^3 (16).

2. Coccidioidomicosis

Es una enfermedad que se manifiesta como una infección primaria, residual benigna y diseminada, dependiendo del estado inmunológico del paciente expuesto al hongo causal, *Coccidioides immitis*. Este hongo es probablemente el más virulento de los hongos patógenos para el hombre (8). El hongo causal es dimórfico, presenta fase micelial y levaduriforme dependiendo del medio en el que se encuentre. En los tejidos se presenta en fase esferular o levaduriforme. (17).

La coccidioidomicosis es una micosis adquirida por inhalación, que puede producir infección pulmonar primaria, enfermedad pulmonar progresiva ó enfermedad diseminada por vía hematogena que abarca principalmente piel, tejidos subcutáneos, huesos, articulaciones, ganglios linfáticos, hígado, riñones, encéfalo, meninges u otros tejidos (18,19). Es provocada por *Coccidioides immitis*, hongo que se distingue por grandes esférulas que se rompen para liberar cientos de endosporas que a su vez se convierten en esférulas (4).

a. Distribución Geográfica.

La forma micelial de *C. immitis* es un organismo del suelo que se encuentran en las áreas semidesérticas de Estados Unidos, transformando en zonas endémicas a California (Valle de San Joaquín), Arizona , Nevada, Nuevo México, Texas y Utah. Además México, Honduras, Colombia y Argentina son consideradas áreas endémicas (por ejemplo, por turistas, viajeros granjeros, arqueólogos, ó ingenieros de construcción) (20). Las zonas potencialmente endémicas en Guatemala se localizan en la región conocida como Valle del Río Motagua que comprenden los departamentos de Izabal, El Progreso y Zacapa. El hongo

tiene requerimientos nutricionales mínimos por lo que se desarrollan muy bien en dicha zona, donde se caracteriza por ser regiones semiáridas que presentan escasa vegetación de tipo xerófila, suelo alcalino y rico en sales minerales, clima seco y polvoriento, con escasa precipitación pluvial (7,21,22).

b. Signos y Síntomas

La enfermedad puede categorizarse como: a) enfermedad primaria (pulmonar); b) enfermedad diseminada y c) enfermedad diseminada residual. La coccidioidomicosis primaria suele ser asintomática, pero a veces origina síntomas respiratorios inespecíficos que recuerdan a la gripe, la bronquitis aguda, o con menos frecuencia, la neumonía o el derrame pleural. Los síntomas comprenden por orden descendente de frecuencia, fiebre, tos, dolor torácico, escalofríos, expectoración, molestias faríngeas y hemoptisis (18,19). En la enfermedad temprana puede presentarse varios tipos de rash, el más prominente de estos el eritema nodoso, lo cual está asociado frecuentemente a un buen pronóstico (3).

La coccidioidomicosis progresiva puede aparecer pocas semanas, meses o a veces años después de la infección primaria, en ocasiones mucho tiempo después de abandonar el área endémica. La coccidioidomicosis diseminada progresiva es más frecuente en los hombres que en las mujeres, y resulta más probable en asociación con la infección por HIV, tratamiento inmunosupresor o edad avanzada. La frecuencia de diseminación es incrementada por ciertos factores de riesgo como grupos étnicos (grupos asiáticos y afroamericanos tienen alto riesgo), adquisición de una infección primaria durante el embarazo y estados inmunosupresivos (transplantes renales, linfoma, SIDA, etc) (1,18).

c. Datos de Laboratorio

El diagnóstico de coccidioidomicosis está basado en la relación de los datos clínicos y los exámenes de laboratorio. Los datos clínicos aportan mucha información en la detección primaria, pero debe de tenerse mucho cuidado pues la coccidioidomicosis tiene muchas maneras de presentarse, es aquí donde los exámenes de laboratorio pueden asistir en el diagnóstico (23). Entre ellos se encuentran leucocitosis, eosinofilia (lo que incluye líquido cefalorraquídeo), radiografía anormal del tórax, y evidencia de disfunción específica de órgano en el sitio metastático. El diagnóstico se establece al demostrar esférulas endosporulantes en los frotis y cortes histológicos, y al detectar el hongo en los cultivos (1,2,4).

d. Diagnóstico inmunológico

Las pruebas inmunitarias son útiles en el diagnóstico y pronóstico. Los métodos para una detección certera, van desde, pruebas dérmicas, pruebas serológicas y pruebas específicas (23).

El procedimiento más común son las reacciones dérmicas para determinar la hipersensibilidad tardía ante la coccidioidina y las pruebas serológicas (24).

Se dispone de un material para efectuar las reacciones dérmicas: la coccidioidina, la cual es útil particularmente para estudios epidemiológicos. También se ha utilizado en pacientes con posible coccidioidomicosis. La coccidioidina no estimula la formación de anticuerpos que reaccionen alterando las pruebas serológicas (24).

Los anticuerpos IgM e IgG precipitantes contra la coccidioidina se desarrollan en 2-4 semanas después de la infección y pueden hallarse con facilidad mediante pruebas de inmunodifusión y de aglutinación en látex (14,25).

En Guatemala, estudiantes de la carrera de Química Biológica (1989) realizaron un nuevo intento para aislar *C. immitis* en zonas endémicas, donde existe una reactividad cutánea a la coccidioidina de 20.8%. No se tuvo éxito en el aislamiento, ya que las condiciones ecológicas han cambiado el hábitat del suelo debido al aumento de las áreas cultivadas y el paso del hombre (36). Para lo anterior se hizo necesario actualizar la epidemiología de *C. immitis* en varios de los municipios del departamento de Zacapa, por lo que Gómez (1991), realizó una encuesta epidemiológica en este departamento. En esta se aplicaron 1002 pruebas de coccidioidina a niños escolares, encontrando que la mayor reactividad se encuentra en el municipio de Usulután (32.41%) (27). Este dato correlaciona muy bien con lo reportado por David (20.8%), cuando confirmó el área como endémica de coccidioidomicosis, debido a la alta reactividad encontrada en 1977 (28).

Las pruebas serológicas comprenden la prueba de precipitación en tubo (PT), la prueba de fijación del complemento (FC) y la prueba de inmunodifusión (ID); las cuales se detallan a continuación.

La prueba de PT se basa en la formación de un precipitado visible, formación de un complejo insoluble ante la reacción de un anticuerpo con un antígeno soluble (29). Además permite la detección temprana de precipitinas en las que se detectan los anticuerpos IgM (4,8). Un estudio publicado en la Revista de Microbiología Clínica comparó los resultados obtenidos utilizando PT versus Inmunodifusión y concluyeron que la PT tiene valor para la detección específica de anticuerpos en el diagnóstico temprano de casos de coccidioidomicosis primaria (30).

La prueba de fijación del complemento (FC) es la prueba cuantitativa por excelencia, es complicada en su desarrollo, pero de gran ayuda en el diagnóstico y pronóstico de la coccidioidomicosis (4,8). En 1994 Illescas propuso la prueba de fijación de complemento como prueba complementaria a la inmunodifusión en el diagnóstico de coccidioidomicosis utilizando para ello antígenos y anticuerpos fúngicos producidos por cepas guatemaltecas del Servicio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, encontrando que para dicha prueba los antígenos y antiseros producidos localmente presentan títulos bajos con la prueba de Fijación de Complemento, además de que la contaminación bacteriana provoca anticomplementariedad de sueros resultando falsos positivos (8).

El propósito de la inmunodifusión simple (ID), es detectar la reacción antígeno-anticuerpo, mediante la reacción de precipitación. Aunque la formación del complejo antígeno-anticuerpo en un medio semisólido como agar, depende de los electrolitos del amortiguador, el pH y la temperatura, los determinantes más importantes de la reacción son las concentraciones relativas de antígeno y anticuerpo. La formación de líneas de precipitación en cualquier sistema de ID depende mucho de las concentraciones relativas de antígeno y anticuerpo (4). Los resultados de la ID son comparables con la prueba FC (4,8,31). El pronóstico de la evolución del paciente se define como la aparición o desaparición de la banda específica (F) en la prueba de ID correlacionada con los títulos en FC (4,5). La producción de antígenos fúngicos en Guatemala, la inició Pérez (1984) quien preparó antígeno metabólico y miceliar de *C. immitis* para ser utilizado en serología. Al ser aplicado a pacientes tuberculosos se obtuvo 1% de positividad en la prueba de inmunodifusión. Tanto el antígeno metabólico como miceliar fueron de baja potencia por lo que no se emplearon para pruebas diagnósticas (17). Desde 1987 a la fecha, se produce el

antígeno de *C. immitis* sistemáticamente en el Servicio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, a fin de mantener el servicio para pacientes de centros asistenciales que solicitan el diagnóstico de micosis profundas. Este diagnóstico se realiza por medio de dos pruebas cualitativas como son: Precipitación en tubo (PT) que detecta anticuerpos de tipo IgM e inmunodifusión en gel (ID) que detecta anticuerpos de tipo IgG (32). Esta última consiste en la reacción de un antígeno soluble y su antisuero (homólogo) difundido por un gel de agarosa, de manera que al alcanzar las concentraciones óptimas entre ambos reactivos, precipitan formando bandas de identidad características de coccidioidomicosis (32).

Actualmente, en Guatemala, se realiza la inmunodifusión como un estudio con mayor utilidad en la identificación inicial de la coccidioidomicosis, pero se ha denotado que esta puede dar un cierto margen de error debido a la turbidez que presenta el agar, el cual contiene agarosa además de otros reactivos. Es por ello que este estudio propone utilizar el medio denominado Gelrite, el cual contiene un polisacárido producido por una especie de *Pseudomonas* brindando una transparencia necesaria para la rápida y confiable identificación de las muestras positivas.

Por último, en las pruebas específicas se encuentran el ensayo inmunoenzimático (ELISA), radioinmunoensayo (RIA), las cuales permiten determinar la evolución, pronóstico y seguimiento de los pacientes; sin embargo todas dependen de la sensibilidad y especificidad que presenten, además del costo de cada prueba (3,4,8,18,).

La meta principal del radioinmunoanálisis (RIA) es detectar antígenos o anticuerpos en alguna forma de inmunoanálisis en donde se utiliza un isótopo radiactivo(14). Un estudio publicado en el Journal de Enfermedades Infecciosas sobre la Detección de anticuerpos en suero con coccidioidomicosis por RIA compara los resultados de 19 pacientes que obtuvieron los mismos títulos que con CF. Sin embargo, hace notar que RIA es más eficiente en la detección de casos pulmonares de coccidioidomicosis que con los casos diseminados, además presenta alto grado de reproductibilidad (33).

El método de ELISA es empleada para el estudio cuantitativo y cualitativo de los anticuerpos específicos (34,35,36). Un estudio realizado en Arizona en pacientes con

coccidioidomicosis primaria sugiere que la antigenemia micótica puede ocurrir. Para estudiar esta posibilidad se utilizó ELISA para medir la actividad antigénica comparada con la actividad de los antígenos derivados de las esférulas. La actividad del anticuerpo anti-esférula demostró una asociación de la actividad antigénica con IgM, pero no con IgG ó IgA. Una posible explicación para este fenómeno es que el antígeno y el anticuerpo IgM están presentes en los complejos inmunes circulantes (35,37,38). Este método es muy sensible y específico, pero requiere de tiempo, es costoso y en la práctica son menos útiles (18,39).

e. Diagnostico Diferencial.

Este comprende diversas formas infecciosas granulomatosas (por ejemplo, micosis, tuberculosis), sarcoidoiosis y cáncer, las cuales debe de ponerse mucha atención en los datos clínicos pero debe de quedar claro que no interfieren en las pruebas de laboratorio, como la inmunodifusión, sino más bien las descarta (4,40).

f. Pronóstico y Tratamiento

En ausencia de tratamiento la coccidioidomicosis diseminada produce la muerte con frecuencia, y siempre cuando cursa con meningitis. La mortalidad de los pacientes VIH positivos supera el 70% durante el mes siguiente al diagnóstico; no se sabe con certeza si el tratamiento cambia el pronóstico (18,36,38,40).

El tratamiento en la infección primaria es innecesario en pacientes de bajo riesgo. Los títulos altos de FC indican diseminación, que requiere tratamiento. La enfermedad extrapulmonar leve o moderada, sin infección meníngea, se puede tratar con dosis mayores ó iguales a los 400 mg diarios de fluconazol ó 400 mg/d de itraconazol. La Anfotericina B intravenosa es preferible para los pacientes graves, y el tratamiento se continúa hasta alcanzar una dosis total de 1 a 3 g, dependiendo de la gravedad de la infección. Los pacientes con SIDA requieren tratamiento de mantenimiento para prevenir la recidiva; suelen ser suficientes 200 mg/d de un azol, y en los pacientes que no toleran los azoles se puede emplear una dosis semanal de Anfotericina B vía intravenosa (4,18,37,39).

III. JUSTIFICACION

En Guatemala, las *micosis* causadas por *Coccidioides immitis* son probablemente mal diagnosticadas, especialmente en pacientes con VIH/SIDA. Los signos y síntomas de los pacientes infectados con este hongo son muy inespecíficos y similares a los producidos por tuberculosis, de tal manera que frecuentemente son diagnosticados y tratados incorrectamente, lo que conlleva al deterioro y posiblemente la muerte del paciente (11).

El médico al sospechar de algún tipo de *micosis*, envía al laboratorio muestra de material biológico (generalmente esputo) para su estudio, en donde se encuentra que el aislamiento real del patógeno se dificulta. En casos más específicos envía muestras de cepillado bronquial y biopsias de bronquio ó pulmón, los cuales son métodos mucho más agresivos y que conllevan no solo más tiempo y preparación sino también equipo hospitalario, lo cual debe de tomarse muy en cuenta en pacientes que sufren de VIH/SIDA y la situación socioeconómica del país (1).

Las pruebas serológicas son de gran ayuda en el diagnóstico rápido y específico de esta *micosis*. Sin embargo no se cuenta con un dato específico de las detecciones que se han realizado en pacientes con VIH/SIDA. Para el seguimiento y evaluación de estos pacientes existe la necesidad de implementar la prueba de inmunodifusión radial en agarosa.

IV. OBJETIVOS

A. GENERAL:

A. Complementar el diagnóstico de las infecciones producidas por *Coccidioides immitis* por medio de la técnica de inmunodifusión en pacientes con VIH/SIDA.

B. ESPECIFICOS:

1. Implementar la prueba de inmunodifusión para coccidioidomicosis en pacientes con VIH/SIDA.

2. Implementar la detección de anticuerpos IgM para la determinación de coccidioidomicosis en pacientes con VIH/SIDA.

V. HIPOTESIS

Menos del 1% de las personas que viven con VIH/SIDA, presentan anticuerpos IgM ante *Coccidioides immitis*.

VI. MATERIALES Y METODOS

A. Universo de trabajo:

El universo de trabajo está formado por pacientes con VIH/SIDA que acuden a la Clínica "Luis Angel García" del Hospital General San Juan de Dios, Guatemala.

B. Recursos:

1. Humanos:

Autora : Ingrid Lorena Lima Portillo.

Asesora: MSPH. Blanca Samayoa.

Coasesor: Dr. Eduardo Arathoon.

2. Instituciones:

- Clínica Familiar "Luis Angel García", Hospital General San Juan de Dios, Guatemala.
- Laboratorio Clínico ASI (Asociación de Salud Integral).
- Laboratorio Clínico "Centro de Especialidades Diagnósticas" –CED-.

3. Físicos:

a. Reactivos:

- Agarosa
- Agua destilada
- Glicina
- Cloruro de sodio
- Azida de sodio (preservante)
- Antígeno fúngico de *Coccidioides immitis*, obtenido por colaboración del Dr. Demóstenes Pappagianis (UCDAVIS, Texas, Estados Unidos de América).
- Sueros control de pacientes positivos de micosis confirmadas.

b. Equipo:

- Congelador a -72° Celsius.
- Centrífuga
- Reloj ó cronómetro.

- Incubadora a 37 ° Celsius.
- Estufa.
- Lámpara (luz directa).
- Pipetas automáticas multicanales y sencillas.

c. Materiales:

- Termómetro.
- Gradilla con tubos de ensayo
- Tubos Eppendorff.
- Pipetas de separación plásticas.
- Pipetas serológicas de 1, 2, 5 y 10 ml.
- Cristalería.
- Cajas de Petri plásticas.
- Balanza.
- Regla
- Perforador de pozos para ID.
- Papel encerado (para pesar).

D. Procedimiento:

Para la realización de dicho estudio se procederá en el siguiente orden:

- Toma de datos generales y hallazgos de relevancia clínica por medio de una entrevista al paciente, contando con el consentimiento previo por escrito de parte del paciente para la realización del estudio.
- Toma de muestra por punción sanguínea y procesamiento del suero para la realización de la prueba, siguiendo las precauciones universales.
- Se determinará la presencia de *C. immitis* por inmunodifusión, utilizando como medio base agarosa, la cual se correrá una vez por semana.
- Leer diariamente durante los dos días subsiguientes.
- Interpretación de resultados.
- Reporte del Resultado al médico tratante de la Clínica Familiar “Luis Angel García”, siendo él quien informe de éste a su paciente una semana después de obtenida la muestra .

1. Preparación del agar (Agarosa):

- A 100 ml de agua destilada, agregar 1 gramos de Agarosa, 0.9 gramos de Cloruro de Sodio, 0.1 gramos de Azida de Sodio, 7.0 gramos de glicina y llevar a ebullición en baño de María esta mezcla.
- Agregar 5 ml., del medio en láminas portaobjetos, esperar a que solidifique.
- Calentar el antígeno a 60 ° Celsius por 30 minutos para detectar únicamente anticuerpos IgM.
- Perforar los pozos de 4mm de diámetro y dejar entre ellos un espacio de 4 mm..
- Seguir un patrón que contiene 6 pozos, en forma de roseta, donde en el pozo superior se coloca el control positivo y en el inferior el negativo, quedando 4 pozos disponibles donde se coloca los sueros de los pacientes.
- En el pozo del centro colocar el antígeno homólogo al control.
- Dejar reposar a temperatura ambiente y en cámara húmeda durante 48 horas; haciendo lecturas cada 24 horas, con luz indirecta.
- Interpretación de resultados por medio de la formación de líneas específicas de precipitación.

E. Diseño de la Investigación.

1. Tipo de Estudio : El estudio será prospectivo, no probabilístico, por intención; para lo cual se tomará 125 pacientes vivos que acudan en un período de tres meses, incluyendo pacientes nuevos, a la Clínica Familiar “Luis Angel García” del Hospital San Juan de Dios.

2. Toma de Muestra: Para la realización de dicho estudio se procederá en el siguiente orden: Reunión de datos generales y hallazgos de relevancia clínica con el consentimiento mutuo en la historia clínica del paciente de la “Clínica Familiar Luis Angel García” del Hospital General San Juan de Dios, para la realización del estudio.

Toma de muestra por punción sanguínea y procesamiento del suero para la realización de la prueba, siguiendo las precauciones universales.

3. Análisis de Muestra: Se determinará la presencia de *C. immitis* por inmunodifusión, utilizando como medio base Agarosa, la cual se correrá una vez por semana.

4. Reporte de Muestra: El resultado del examen será reportado al médico tratante de la Clínica Familiar “Luis Angel García”, siendo él quien informe de éste a su paciente una semana después de obtenida la muestra .

5. Análisis de Datos: Todos los datos obtenidos serán almacenado en una hoja electrónica (Excel), para su posterior análisis a través de frecuencia en el programa Epi Info 6. Se determinará el porcentaje de pacientes que padecen de coccidioomicosis determinada por presencia de anticuerpos IgM en suero de pacientes VIH positivos ; se calculará la prevalencia de anticuerpos IgM y la descripción de los factores asociados a esta infección.

VII. RESULTADOS

La incidencia de cada micosis conocida como oportunista en las personas con VIH/SIDA ha aumentado de forma brusca en los últimos años, especialmente si residen dentro de las zonas endémicas (14,15). En las características demográficas de las 125 muestras de sueros provenientes de personas ambulatorias que viven con VIH/SIDA, que asistieron a la Clínica Familiar "Luis Angel García" del Hospital General San Juan de Dios, Guatemala, en donde se observó que 63 pertenecen al género masculino y 46 pertenecen al género femenino .

Con respecto a la edad, los que se vieron mayormente afectados por el VIH se determinó que fueron los comprendidos entre 18-28 años. La distribución geográfica, según orden decreciente, demostró que Guatemala (37%), Escuintla(20%), El Progreso e Izabal (7%) presentan el mayor número de pacientes infectados. También se observó que el municipio con el 65% de los pacientes provienen de Guatemala, en seguida Mixco con 11% y por último Villa Nueva y Fraijanes con un mismo porcentaje de 9%. Estos datos se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Características demográficas (N=125)

Característica	N	Frecuencia (%)
Género		
Masculino	79	63
Femenino	46	37
Edad		
18-28	35	28
29-38	33	26
39-48	21	17
49-58	19	15
Mayor de 59	17	14
Procedencia por Departamento		
Guatemala	46	37
Escuintla	25	20
Izabal	9	7
El Progreso	9	7
Otros departamentos	36	29
Procedencia por Municipio		
Guatemala	30	65
Mixco	5	11
Villa Nueva	4	9
Fraijanes	4	9

También se observó que 60 de ellos (48%) estuvieron expuestos a excretas de aves y/o murciélagos, remoción de tierra 40 (32%) y visitado cuevas 19 (15%), presentándose en la Tabla 2.

Tabla 2. Factores asociados a transmisión de Coccidioidomicosis (N= 125)

<i>Factor</i>	<i>n</i>	<i>Frecuencia (%)</i>
Exposición a excretas de aves y/o murciélagos	60	48
Remoción de tierra	40	32
Visita a cueva	19	15

Todos ellos presentaron un cuadro respiratorio, por lo cual fueron incluidos en el estudio, en la Tabla 3 se muestra la sintomatología padecida durante el último año, encontrándose que el 69% de los pacientes presentaron cefalea, un 66% malestar general al igual que fiebre no controlada y un 34% tos crónica, como síntomas predominantes.

Tabla 3. Sintomatología Asociada durante el último año (N=125)

<i>Síntomas</i>	<i>n</i>	<i>Frecuencia (%)</i>
Tos crónica	43	34
Rinorrea	27	22
Dolor de Garganta	32	26
Cefalea	86	69
Malestar General	83	66
Artralgia	12	10
Fiebre	21	66
Escalofríos	13	10

Con respecto a los rayos X, se encontró que de 37 personas, 17 presentan infiltrados difusos. En las pruebas de laboratorio que se realizan de rutina, se denotó que dentro de las hematologías realizadas el 35% de los pacientes evidenciaban valores bajos en el recuento de glóbulos blancos (2,500-4,500células /mm³). La velocidad de eritrosedimentación se encontró elevada en un 85% de las muestras. La hemoglobina

se encontró levemente disminuida en un 16% de los pacientes con valores entre 6-10mg/dl. Con respecto al hematocrito se encontró igualmente un 17% de ellos presentaban niveles bajos, entre 24-30%. Además la deshidrogenasa láctica (DHL) estuvo elevada en un 94% de las 125 muestras estudiadas. Estos datos se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Pruebas de Laboratorio de rutina (N=125)

Parámetro	N	Frecuencia (%)
Glóbulos blancos *		
2,500-4,500	43	35
4,600-6,500	27	22
6,600-8,500	19	15
8,600-10,500	14	11
Mayor de 10,600	22	17
Velocidad de Eritrosedimentación**		
0-10	15	12
11 - 50	54	43
51-90	29	23
91-150	25	20
151-180	2	2
Hemoglobina***		
Menor de 5 g/dl	8	6
6-10 g/dl	20	16
11-15g/dl	85	68
Mayor de 16 g/dl	12	10
Hematocrito****		
Menor de 24%	8	6
24-30%	21	17
31-45%	86	69
Mayor de 45%	10	8
Pruebas Bioquímicas		
DHL (Deshidrogenasa láctica)*****		
Menor de 120U/l	3	2
120-240 U/l	5	4
Mayor de 240 U/l	117	94

*Valor normal: 5,000-10,000 células / mm³.

**Valor normal: 0-10mm/hora.

***Valor normal: Hombres 14-18 g/dl. Mujeres 12-16 g/dl.

****Valor normal: Hombres 42-45%. Mujeres 37-47%.

*****Valor normal 120-240 U/l

Un dato importante se encontró en el porcentaje de pacientes que han padecido de tuberculosis, el cual fué de 5%; Histoplasmosis 3% y por neumonía causada por *P. carinii* un 1%. En la Tabla 5 se presentan estos datos así como las principales enfermedades respiratorias que se reportaron durante el último año, teniendo un alto porcentaje la amigdalitis (69%), bronquitis (58%), faringitis (46%) y laringitis (45%).

Tabla 5. Principales Enfermedades del Tracto Respiratorio reportadas en esta muestra de pacientes (N=125)

Patología	n	Frecuencia (%)
Amigdalitis	86	69
Broquitis	73	58
Faringitis	58	46
Laringitis	56	45
Rinitis	22	18
Asma	12	10
Sinusitis	45	36
Histoplasmosis	4	3
Tuberculosis	29	23

Por último, al realizar la prueba de inmunodifusión radial para determinar la presencia de *C. immitis*, se encontró que 2 pacientes (1.6%), fueron positivos para la enfermedad. Ellos desde su nacimiento han vivido, en la ciudad capital. Además no han estado en contacto con excretas de aves y/o murciélagos, remoción de tierra o visitado cuevas.

VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

Las personas infectadas con el virus de inmunodeficiencia humana o que ya padecen del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (VIH/SIDA), son más susceptibles a algunas infecciones micóticas agudas o crónicas, dentro de ellas se encuentra la causada por *Coccidioides immitis*.

De 125 pacientes que viven con VIH/SIDA en estudio, 2 de ellos (1.6%) presentaron anticuerpos IgM para *Coccidioides immitis* mediante la prueba de inmunodifusión en agarosa, además de haber sido confirmados por medio de cultivos de sangre; lo cual rechaza la hipótesis que sostiene que menos del 1% de las personas que viven con VIH/SIDA, presentan anticuerpos IgM ante *C. immitis*.

Con respecto a las características demográficas se encontró que el género que se ve más afectado por el VIH/SIDA es el masculino, las edades estuvieron comprendidas entre 18-28 años, lo cual concuerda con lo reportado por la Organización Mundial de la Salud (11). Dentro de los departamentos de donde provenía la mayoría de ellos es Guatemala, Escuintla, Izabal y El Progreso, siendo estos dos últimos parte de la zona endémica de *C. immitis* conocida como Valle del Río Motagua, en la República de Guatemala (7,8,9).

La infección se adquiere por inhalación de artroconidias presentes en el aire(4). Es de importancia hacer notar que a pesar que el número de personas que estuvieron expuestos a los factores asociados a la transmisión de la enfermedad, como exposición a excretas de aves y/o murciélagos, visitado cuevas, es alto en uno ó varios de estos factores, los dos pacientes positivos para anticuerpos IgM ante *C. immitis* refirieron no vivir o haber vivido o tenido contacto con dicha zona endémica, ni haber estado sometidos a los factores arriba mencionados.

Dos terceras partes de las personas con infecciones primarias son asintomáticas por completo. En el resto, puede producirse una enfermedad coccidioidal primaria, manifestada por una enfermedad parecida a la influenza, con sintomatología como cefalea, malestar general, tos crónica, rinorrea, fiebre y artralgia, que fueron en este orden, los padecimientos más reportados durante el último año por los pacientes en estudio con un alto porcentaje (18,19). Estos padecimientos pueden ir sólo o acompañados de los demás. Si se presentan todos o la mayoría de ellos en un solo paciente, se sospecha de una afección respiratoria leve sin descartar la "Fiebre del Valle"

ó "Reumatismo del Desierto", causadas por *C. immitis* y la cual se resuelve espontáneamente (2,4).

La mayor parte de los pacientes exhibieron alteraciones respiratorias que van desde infecciones del tracto respiratorio tanto superior como inferior. Un alto porcentaje de los pacientes presentaron enfermedades respiratorias desde amigdalitis, laringitis y faringitis. Los casos con procesos de curso agudo e infiltrados pulmonares localizados, presentados en el 46% de las radiografías de tórax, tuvieron síntomas y signos semejantes a los de una coccidioidomicosis, pero también a los de tuberculosis, histoplasmosis y neumonía causada por *P. carinii* (4,23). Es por ello que fue necesario realizar un diagnóstico diferencial de coccidioidomicosis, en donde se descartó la presencia de cualquier de las patologías arriba mencionadas.

Al realizar pruebas de laboratorio hematológicas, se denotó que un 35 % presentan leucopenia, un 88% elevada la velocidad de eritrosedimentación, además de 22% con hemoglobina y hematocrito bajos, lo cual coinciden con los datos de laboratorio reportados para *C. immitis* en pacientes que padecen de VIH/SIDA. También se realizó la prueba de deshidrogenasa láctica (DHL), encontrándose que en el 94% de los casos estaba elevada, lo cual es un dato correlativo de la presencia de micosis y ayudó junto con los demás datos para el diagnóstico de casos poco numerosos de tuberculosis e histoplasmosis (1,2,4). Los datos obtenidos en las pruebas hematológicas y de rayos X guardaron características potenciales para sospechar de la presencia de *C. immitis*. Sin embargo los dos pacientes con presencia de anticuerpos para coccidioidomicosis presentan rayos X con infiltrados pulmonares, datos hematológicos como leucocitosis y deshidrogenasa láctica (DHL) elevada (1,17).

El propósito de la inmunodifusión simple (ID), es detectar la reacción antígeno-anticuerpo, mediante la reacción de precipitación. Aunque la formación del complejo antígeno-anticuerpo en un medio semisólido como agar, depende de los electrolitos del amortiguador, el pH y la temperatura, los determinantes más importantes de la reacción son las concentraciones relativas de antígeno y anticuerpo, lo cual se evidenció en dos (1.6%) de las muestras analizadas (4).

En esta investigación la prueba de inmunodifusión se propuso realizarla con un medio llamado Gelrite, el cual contiene un polisacárido producido por una especie de *Pseudomonas* sp. (3). Esta característica brinda la transparencia necesaria para la rápida y confiable identificación inicial de las muestras positivas. Sin embargo, con este medio

no se llevó a cabo la reacción antígeno-anticuerpo que se esperaba, por lo cual se realizó en agarosa, obteniéndose resultados satisfactorios para los controles y las muestras.

IX. CONCLUSIONES

1. El porcentaje de positividad *C. immitis* en pacientes que viven con VIH/SIDA fue del 1.6% para este estudio.
2. La prueba de inmunodifusión en agarosa, brinda resultados confiables para la identificación de *C. immitis*.
3. El cultivo de sangre brinda altos porcentajes de identificación de *C. immitis* por lo que debe de hacerse de rutina en aquellos pacientes que se sospeche de la enfermedad, además de la inmunodifusión en agar.

X. RECOMENDACIONES

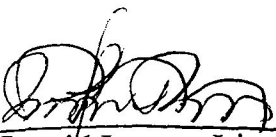
- Determinar la preparación específica para desarrollar la inmunodifusión radial con el medio Gelrite.
- Implementar pruebas inmunológicas comparativas a la inmunodifusión radial para establecer una correlación de los resultados obtenidos.
- Implementar como prueba de rutina en pacientes que viven con VIH/SIDA el recuento de células CD4, el cual debe de estar por debajo de 250 células por milímetro cúbico, como dato indicativo de una posible infección por *C. immitis*.
- Tratar el calentamiento del antígeno a 60°C como punto crítico para la determinación de *C. immitis* IgM por inmunodifusión radial.
- Implementar como prueba de rutina en pacientes que viven con HIV/SIDA la prueba de inmunodifusión para la detección de *C. immitis*.

XI. REFERENCIAS

1. Logeman, H. Manual Práctico de Micología Médica. Junio 1995.
2. Wyngaarden J, Smith Ll. Tratado de Medicina Interna. Interamericana. 18 ed. Vol 1. 1393p.
3. Pappagianis D. Serology of *Coccidioides* Clinical Microbiology Reviews. Jul, 1990. Pp 247-268.
4. Stites D, Terr A. Inmunología Clínica y Básica. Manual Moderno. 7ma. Ed. 1993. México. 1053p.
5. Organización Panamericana de la Salud. Manual de Procedimientos Estandarizados para el serodiagnóstico de las micosis sistémicas: Pruebas de inmunodifusión en agar. Washington DC. Parte I. Julio 1972.
6. Andrade M. Investigaciones de la coccidioidomicosis en la capital por medio de intradermoreacciones a la coccidioidina. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Medicina) 1945, 35p.
7. Mayorga R. Coccidioidomycosis in Central America. Proc 2nd Coccidioidomycosis Symp Arizona:University of Arizona Pres, 1967;450 (p 287-90).
8. Illescas, M. Inmunodiagnóstico de Micosis profundas: Prueba de Fijación de Complemento (FC). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1994.
9. Enriquez S. Aislamiento de *Coccidioides immitis* del suelo de Guatemala, Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1978. 50p.
10. Muñoz C. Aislamiento de *T. schoenleinii* del ambiente de Totonicapán y algunos factores que favorecen o inhiben su crecimiento. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1983. 60p.
11. Datos del Programa de la Organización Mundial de la Salud. 2002.
12. Polsky B et al. HIV and AIDS. USA. 1999.
13. George RB. Micosis pulmonares; Revisión Conceptual y terapéutica. Actualizaciones. Rev Med. 1990; 3:5-7.
14. Fox J. Fun. Infec. Rates are Increasing. American Society for Microbiology. Vol 59. No. 10. USA. 1993. 515-19p.

15. Sterens D. Coccidioidomycosis. The New Eng. J. of Med. Vol. 332. No.16. USA. 1995. 1077-81p.
16. Pérez A. Preparación, Evaluación y Estandarización de Antígenos de *Coccidioides immitis* para el diagnóstico serológico por inmunodifusión. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1984, 50p.
17. El Manual Merck de Diagnóstico y Tratamiento. 10 ed. Harcourt. España. 1999.
18. Morwood D et al. An unusual complication of an Open-Head Injury: Coccidioidal Meningitis. Vol. 23. USA. Nov 1989.
19. Pérez E. Coccidioidomycosis en Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Vol. 67. 1971.
20. Ajello L. Comparative ecology of respiratory mycotic disease agents. Rev Bac. 1967; 31:6-24p.
21. SIDA: La peor pandemia de la historia. Brit. Med. J. 26 ed. 2002. 324:207-11p.
22. Pappagianis, D. Coccidioidomycosis. Proceedings of the 5th International Conference on Coccidioidomycosis. National Foundation for Infectious Diseases. Washington, D.C. 1996. 116-125p.
23. Topley W. Principles of bacteriology, virology and immunity. Volume 5 Immunity. 8th ed. BC Decker Inc. Philadelphia, USA. 1992. 719p
24. Toriello C *et al.* Efficiency of crude and purified fungal antigens in serodiagnosis to discriminate mycotic from other respiratory diseases. Mycoses 34, 1991. 133-40p.
25. Leytán R *et al.* Aislamiento de *Coccidioides immitis* del suelo de Usumatlán, Zacapa. Guatemala: III Semana Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Doc. Tec. 1989. 92p.
26. Gómez O. Actualización epidemiológica sobre la intradermoreacción con coccidioidina en algunos municipios del departamento de Zacapa. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1991. 54p.
27. David E. Encuesta epidemiológica sobre la reactividad de la coccidioidina en el oriente de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1977. 36p.
28. Technical Manual. American Association of Blood Banks. 11 th ed. Maryland, USA. 1993.

29. Kaufman L *et al.* Comparison and diagnostic value of the coccidioidin heat-Stable (HS and tube precipitin) antigens in Immunodiffusion. J. Clin. Microb. Vol 22. No. 4. Oct 1985. 515-18p.
30. Johnson S *et al.* Use of a recombinant *Coccidioides immitis* complement fixation antigen-Chitinase in conventional serological assays. Journal of clinical microbiology. Dec 1996. 3160-64p.
31. García M. Determinación de la sensibilidad y especificidad de la Inmunodifusión (ID) y la Fijación de Complemento (FC) utilizando antígenos producidos en el Servicio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala: Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, Universidad de San Carlos de Guatemala, 1991. 8p.
32. Catanzaro A, Flataner F. Detection of serum antibodies in Coccidioidomycosis by solid-phase radioimmunoassay. The Journal of Infectious Diseases. Vol 147. No. 1. Jan 1983.
33. Diccionario Médico. 4ta. Ed. Masson. España. 1999.
34. Galgiani J *et al.* Antigemia in primary Coccidioidomycosis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1984. 33(4). 645-5-49p.
35. Gamy T *et al.* Isolation of antigens with proteolytic activity from *Coccidioides immitis*. Infection and Immunity. May 1989. 1524-34p.
36. Standard P, Kaufman L. Immunological procedure for the rapid and specific identification of *C. immitis* cultures. J. of Clinical Microbiology. Feb 1977. 149-55p.
37. Drutz D, Huppert M. Coccidioidomycosis: Factor affecting the host-parasite interaction. J. of Dis. Vol. 147. No.3. March 1983.
38. Zaid P. Prueba de coccidioidina e histoplasmina en la población de la Villa de Tiquisate y sus alrededores. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1988.
39. Calhoun D *et al.* Humoral antibody responses to specific antigens of *C. immitis*. J. of Infec. Dis. Vol 154. No.2. Aug 1986.



Br. Ingrid Lorena Lima Portillo.

Autora.



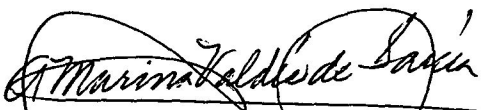
MSPH. Blanca Samayoa.

Asesora.



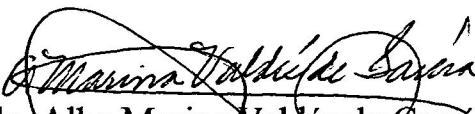
MD. Eduardo Arathoon.

Coasesor.



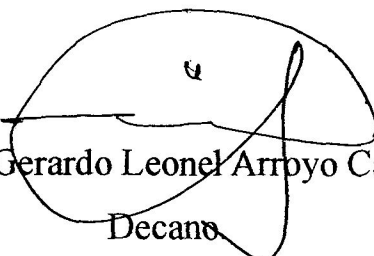
Licda. Alba Marina Valdés de García.

Revisora.



Licda. Alba Marina Valdés de García.

Directora de Escuela.



M. Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán

Decano