



Histoplasmosis en México

María Lucía Taylor¹.

María de Rocio Reyes-Montes².

¹Laboratorio de Inmunología de Hongos

²Laboratorio de Micología Molecular Departamento de Microbiología y Parasitología Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónomo de México

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 31 de Diciembre del 2000 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

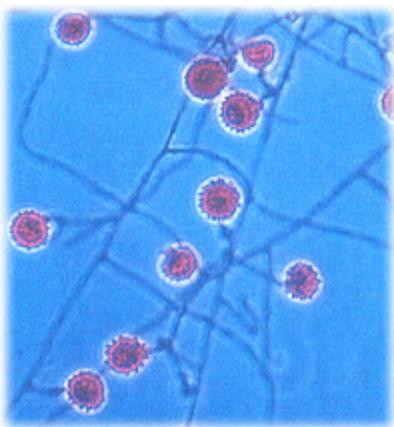
En México, en la última década, se ha alcanzado un panorama más definido sobre diferentes aspectos de la epidemiología de la histoplasmosis. Estos hechos se lograron a través de estudios inmunológicos y moleculares, en áreas geográficas de la República Mexicana. Las formas endémicas y epidémicas de la enfermedad son de amplia distribución en el país. La prevalencia de histoplasmosis es variable según las zonas geográficas de la nación e incluso cambia dentro de una misma entidad federativa. Con la aplicación de la prueba intradérmica se ha encontrado en la población masculina un porcentaje más elevado de reacción cutánea positiva a la histoplasmina que en la población femenina. La feno y genotipificación de *H. capsulatum* se ha promovido para estudiar diferentes aspectos epidemiológicos de la histoplasmosis. Igualmente, se ha caracterizado las fuentes de infección al relacionar aislados de diferentes orígenes en la naturaleza, con los de casos clínicos.

SUMMARY

In the last 10 years, important information and a well-defined panorama on the different aspects of histoplasmosis' epidemiology have been achieved in Mexico. These findings were attained through immunological and molecular studies made in representative geographic areas from the Mexican Republic. The endemic and epidemic forms of the disease are widely distributed in the country, although the latter is more important due to its high-fatality ratio. Histoplasmosis infection, revealed by skin-test reaction to histoplasmin antigen prepared from its etiologic agent, the pathogenic fungus *Histoplasma capsulatum*, has been referred to most of the

Mexican states. However, its prevalence is variable according to the geographic zones of the country and even changes within the same state, a condition related to certain occupational activities associated to social-economic factors. Besides, the highest percentage of positive histoplasmin skin-test has been detected among the male population, which is probably tightly connected to high risk occupational activities, mainly performed by men. Pheno- and genotyping of *H. capsulatum* have been promoted to study different epidemiological aspects of histoplasmosis and have allowed to propose a fungal molecular pattern related to its geographic distribution in the environment, as well as to characterize sources of infection by associating isolates from different origins in nature with those from clinical cases. Studies of fungal molecular markers support a preliminary classification of *H. capsulatum* isolates in the country.

ANTECEDENTES



La histoplasmosis es una micosis sistémica con distintas formas clínicas y presenta una amplia distribución mundial. Las áreas endémicas del mundo con la mayor cantidad de casos de la entidad clínica denominada "histoplasmosis capsular" se localizan en varias regiones de Latinoamérica y en los valles de los ríos Mississippi y Ohio en los Estados Unidos de América (EUA) (1). En México, es la micosis sistémica de más alta prevalencia tanto en su forma endémica, como epidémica. Esta última, ha sido registrada en todas las entidades federativas y representa un problema de salud ambiental y ocupacional, especialmente, para las personas que viven, acuden o trabajan en las zonas consideradas de alto riesgo de infección. En estos sectores, se encuentran las condiciones que favorecen el desarrollo de su agente etiológico en suelos mezclados con excretas de aves y murciélagos (2-5). Sin embargo, considerando la ubicuidad de éste, la forma endémica puede ser enmascarada por ausencia de registros. Para los individuos susceptibles existe, en cualquier sitio donde se encuentran las condiciones físicas y nutricionales propicias para el patógeno, el riesgo de infección. En México, ha sido registrada la presencia del agente etiológico en zonas urbanas, tanto por su aislamiento de parques públicos como por la asociación con epidemias adquiridas en las urbes. Este es el caso de un polémico brote recientemente ocurrido en un hotel de un importante centro turístico del país (Taylor com. pers., 2001).

Fuente: López Martínez R.; Méndez Tovar, L.J.; Hernández Hernández F.; Castañón Olivares R. *MICROBIOLOGÍA MEDICA, Procedimientos para el diagnóstico de laboratorio. 1995.* Editorial Trillas, México, 194 p.

desarrollo de su agente etiológico en suelos mezclados con excretas de aves y murciélagos (2-5). Sin embargo, considerando la ubicuidad de éste, la forma endémica puede ser enmascarada por ausencia de registros. Para los individuos susceptibles existe, en cualquier sitio donde se encuentran las condiciones físicas y nutricionales propicias para el patógeno, el riesgo de infección. En México, ha sido registrada la presencia del agente etiológico en zonas urbanas, tanto por su aislamiento de parques públicos como por la asociación con epidemias adquiridas en las urbes. Este es el caso de un polémico brote recientemente ocurrido en un hotel de un importante centro turístico del país (Taylor com. pers., 2001).

La enfermedad puede manifestarse desde formas clínicas muy leves, que algunas veces son confundidas con catarro común, hasta formas con síntomas severos. La forma clínica predominante en México es la pulmonar primaria, la cual se diagnostica principalmente en adultos y, ocasionalmente, es asociada a cavitaciones pulmonares que simulan un cuadro clínico indistinguible de la tuberculosis pulmonar (3). La histoplasmosis diseminada, a diferencia de lo descrito en EUA, era considerada en el país una entidad clínica rara. Este panorama se modificó a partir de 1980, debido al aumento en el número de individuos con inmunosupresión de diferentes orígenes (4, 5). Las personas inmunocomprometidas son los blancos ideales para infecciones fúngicas y, en particular, los pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Sin embargo, el auge de la terapia anti-retrovirus (HAART) en pacientes con SIDA ha reducido las infecciones oportunistas asociadas a esta enfermedad, entre ellas la

histoplasmosis, que, con frecuencia, presentaba un pronóstico grave con curso clínico hacia la forma diseminada.

Es oportuno señalar que no todos los pacientes con la enfermedad pulmonar presentan cambios radiográficos y un gran número de sujetos cursan la infección en forma subclínica. En el ambiente natural el hongo patógeno *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, Darling 1906, agente etiológico de la histoplasmosis capsulati, crece como saprobio desarrollando una forma filamentosa multicelular propia de la fase micelial, la cual presenta abundantes macros y microconidios. Estos últimos, junto con pequeños fragmentos de hifas, son las estructuras que al ser inhaladas infectan hospederos susceptibles que visitan lugares contaminados. Esto da inicio al proceso de histoplasmosis, infección con posible evolución a la enfermedad. El hongo es un parásito intracelular facultativo del sistema fagocítico mononuclear, el cual induce a lesiones granulomatosas con una reacción inflamatoria tisular. Dichas lesiones se encuentran caracterizadas por el predominio de macrófagos acompañada de infiltrado linfocitario (1). Cuando el *Histoplasma capsulatum* infecta al hospedero se convierte en una forma unicelular (fase levaduriforme), que es la forma parasitaria y virulenta del hongo (1, 6). En el laboratorio, la conversión de la forma multicelular a la unicelular puede ser inducida por cambios de temperatura de 25°C (micelio) a 37°C (levadura). Esta conversión dimórfica está asociada a eventos de choque térmico y es de interés particular, ya que es necesaria para la expresión de genes de virulencia (7).

En lo general, se ha considerado tres variedades dentro de la especie: *H. capsulatum* var. *capsulatum*, *H. capsulatum* var. *duboisii* y *H. capsulatum* var. *farciminosum*. Las dos primeras variedades infectan humanos y otros mamíferos; y, la última, infecta caballos y mulas. Actualmente, con base en la detección de las secuencias parciales del DNA de 4 genes que codifican para el precursor del antígeno H (*H-ANTI*), la desaturasa D-9 de ácido graso (*OLE*), la α-tubulina (*TUB1*) y el factor de ribosilación de ADP (*ARF*), Kasuga et al. (8, 9) proponen que *H. capsulatum* tiene ocho clados y cada clado corresponde a una especie filogenética independiente. A saber:

1. Población de la clase 1 de Norteamérica
2. Población de la clase 2 de Norteamérica
3. Población del grupo A de Sudamérica
4. Población del grupo B de Sudamérica
5. Población Australiana
6. Población de una colonia Holandesa
7. Población Eurasiana
8. Población Africana.

Esta última incluye aislados de *H. capsulatum* var. *capsulatum* y *duboisii*. Los aislados de *H. capsulatum* var. *farciminosum* fueron colocadas en tres especies filogenéticas distintas: población de la clase 2 de Norteamérica, población Africana y la población Eurasiana. Los autores sugieren que la asignación de tres variedades de *Histoplasma* no tiene sentido filogenético, en cambio, reconocen la existencia de poblaciones geográficamente distintas o especies filogenéticas (8, 9).

A la fecha, se han utilizado distintos sistemas para clasificar *H. capsulatum*. Los primeros utilizaron la serotipificación (10) y la quimiotipificación (11). A partir de 1986, se iniciaron los

estudios de tipificación molecular de aislados del hongo, a través de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) del DNA mitocondrial (mtDNA) y del DNA ribosomal (rDNA) (12, 13). Actualmente, mediante el análisis del polimorfismo determinado por hibridación con sondas de mtDNA y del gen YPS-3 expresado en la fase levaduriforme del hongo, varios aislados clínicos y de suelo procedentes de Norte y Centroamérica fueron agrupados en 6 clases y 4 subclases, según Keath et al. (14).

AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LA EPIDEMIOLOGÍA DE LA HISTOPLASMOISIS

Aspectos Inmunológicos

Hasta hace algunos años, los casos de histoplasmosis en México eran ocasionalmente referidos, lo cual originó información y registros parciales y desordenados. A partir de 1988, se inician los registros oficiales de la enfermedad por parte de la Dirección General de Epidemiología (DGE), órgano oficial del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica de la Secretaría de Salud. Aunque en los últimos años se ha observado un aumento de casos clínicos y una mayor frecuencia de brotes epidémicos, la enfermedad todavía permanece subnotificada. Esto se debe a su desconocimiento por parte del personal médico y paramédico especializado (4, 5).

En México está bien documentado que las actividades ocupacionales relacionadas a la arqueología, geología, antropología y biología exponen a los profesionales de estas áreas, dentro de su quehacer laboral, a altos riesgos de salud, debido a que tienen un mayor peligro de infección por *H. capsulatum*. Además, son particularmente afectados los trabajadores del campo tales como campesinos, peones recolectores de guano y especialmente mineros; asimismo, también corren riesgos de infección los espeleólogos y excursionistas que frecuentan minas, cuevas y recintos abandonados donde se encuentra el hongo en su fase infectiva (2, 5, 15, 16).

La prevalencia de la histoplasmosis en diferentes zonas geográficas del país, es variable (2, 5, 15-17). La infección pasada o presente puede ser determinada por la reacción cutánea al antígeno del hongo, denominado histoplasmina. Estudios inmunoepidemiológicos evaluados mediante la reacción intradérmica con la histoplasmina y el PPD, este último utilizado como antígeno control heterólogo, efectuados en zonas de mayor y menor riesgo de infección de distintos municipios dentro de la misma entidad federativa revelaron las zonas con población de alta y de baja reactividad a la histoplasmina. En esta investigación, la respuesta al PPD presentó una distribución más uniforme (2, 5, 15-17). Además, en las poblaciones estudiadas, la relación de respuesta cutánea positiva a la histoplasmina siempre fue más alta en los hombres que en las mujeres, dato que revela un mayor riesgo de primocontacto con el hongo en sujetos del sexo masculino (2, 5, 15, 16). En las zonas endémicas de histoplasmosis en México, la respuesta cutánea a la histoplasmina está críticamente relacionada con ciertas actividades laborales. Los más altos porcentajes de pruebas positivas se relacionan con individuos que trabajan como limpiadores de bocamina, mineros, guías turístico de cuevas o grutas, recolectores de guano e individuos que manejan pollinaza o gallinaza, complemento alimentario para ganado enriquecido con excretas de aves. Por el contrario, la ausencia de histoplasmino-reacción se presenta en aquellos individuos que realizan una actividad laboral no relacionada con el contacto del hongo, como la pesca, por ejemplo. Tomando en cuenta lo anterior, se explica la variación de los porcentajes de reactores a la histoplasmina dentro de un mismo estado, según la actividad ocupacional de la población del municipio o zona estudiada (2, 15-17). Del mismo modo, también se puede explicar

la más alta respuesta de la población masculina a la reacción intradérmica con la histoplasmina, puesto que los hombres, en los sitios estudiados, se dedican a labores de mayor riesgo de infección que las mujeres (2, 15, 16). Sin embargo, no hay que descartar la participación de factores hormonales asociados a la susceptibilidad hacia la infección por *H. capsulatum*. En el modelo murino BALB/c se ha comprobado que el desarrollo de la enfermedad, con evolución hacia la diseminación y muerte, varía con el sexo del animal. En ese sentido, las hembras son mucho más resistentes a la infección que los machos (18, 19).

Algunas formas de la enfermedad han sido relacionadas con marcadores genéticos. Por ejemplo, en EUA el cuadro clínico ocular conocido como síndrome de histoplasmosis ocular presuntiva (SHOP), se desarrolla con mayor frecuencia en individuos que tienen ciertos tipos de antígenos de histocompatibilidad, particularmente, el HLA-B7 (20, 21) o el HLA-DRw2 (22). El síndrome es considerado como una manifestación tardía de la infección por *H. capsulatum* por lo que, los pacientes con mayor predisposición serían aquellos que han tenido contacto persistente con el hongo. Diferentes estudios, en distintas poblaciones mexicanas nativas, se encuentran orientados a la búsqueda del cuadro clínico y de los marcadores HLA asociados al síndrome tanto en población cautiva hospitalizada, como en población abierta. Esta última, ubicada en áreas donde existen reportes de gran número de brotes epidémicos o en áreas rurales con alto riesgo de infección asociada a actividades laborales. Dichas investigaciones evidenciaron una ausencia de lesiones oculares compatibles con el síndrome y, asimismo, una baja frecuencia de marcadores HLA asociados a éste. Sin embargo, se encontró una posible asociación del antígeno HLA-B22 con el desarrollo del cuadro de histoplasmosis pulmonar primaria (2, 5, 15-17).

Aspectos Moleculares

En años recientes, estudios pioneros sobre la tipificación molecular de aislados de *H. capsulatum* procedentes de México, han aportado información actualizada. Estos trabajos apoyan una distribución geográfica de ellos (23-26) con base en los patrones polimórficos del DNA de aislados de diferentes fuentes y orígenes geográficos obtenidos tanto por RFLP, como por RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA generated by Polymerase Chain Reaction). Los polimorfismos del DNA obtenidos por RAPD-PCR, permitieron ubicar la mayoría de los aislados clínicos de *H. capsulatum* procedentes de México en un sólo grupo (24-26), particularmente los obtenidos de pacientes mexicanos con histoplasmosis asociada a SIDA que referían una residencia definida. Los aislados procedentes de pacientes mexicanos, se relacionan con los casos clínicos de Guatemala; mientras que resalta el distinto comportamiento de los aislados procedentes de pacientes de Argentina, Colombia, Panamá y EUA (25, 27). Los resultados obtenidos con RAPD-PCR lograron discriminar diferencias entre algunos aislados que no fueron detectados por un método fenotípico como el perfil de electrotipos por electroforesis en gel de poliacrilamida dodecil sulfato de sodio (24, 25). Sin embargo, la electroinmunotransferencia permitió relacionar, con mayor precisión, a los aislados estudiados que mostraron buena correlación con el método genotípico. Además, se detectaron 3 bandas comunes de 43, 28 y 18 kDa en todos los aislados que podrían ser usadas como potenciales marcadores fenotípicos del hongo (24). Al caracterizar por RFLP aislados obtenidos de pacientes mexicanos con histoplasmosis asociada a SIDA, Salas-Ríos et al. (28) observaron 10 perfiles distintos entre los 31 aislados estudiados, aunque la mayoría se distribuyeron de manera homogénea en dos grupos. Los autores refieren la detección de dos posibles aislados con tipificación similar a la "cepa Downs" (cepa termosensible de baja virulencia prototípico de la clase 1, según la tipificación por

RFLP de las cepas de EUA). No obstante, hay que destacar que entre los aislados procedentes de México no se encontró ningún perfil que correspondiera a la clase 2, que encierra la mayoría de las cepas de EUA tipificadas por RFLP. La presencia de "cepas tipo Downs" en pacientes mexicanos sugiere dos posibles aclaraciones, una que los pacientes mexicanos fueron infectados en el país vecino, considerando la gran migración de trabajadores hacia EUA; y la otra explicación refiere a que este prototipo de cepa está asociada a una presión selectiva de ciertos hospederos inmunocomprometidos y su distribución no está restringida a territorio americano.

Otro gran aporte de los estudios moleculares de los aislados de *H. capsulatum* en México, es la inferencia del probable sitio y fuente de infección. Se ha encontrado una relación molecular entre aislados de casos clínicos y los obtenidos de distintas fuentes en la naturaleza, la cual ha sido favorecida por el estudio de la tipificación por RAPD-PCR utilizando oligonucleótidos individuales o combinados (24-26, 29, 30). Los patrones polimórficos del DNA de los aislados del hongo, recuperados de murciélagos capturados en una cueva denominada "El Salitre" en el estado de Morelos, mostraron estar relacionados con aislados clínicos obtenidos de muestras biológicas de pacientes con el diagnóstico de histoplasmosis asociada al SIDA y residentes en el mismo estado. Además, el perfil polimórfico del DNA de un aislado de *H. capsulatum* procedente de un parque público, en Tlalpan, Ciudad de México y el perfil de un aislado clínico de un paciente con histoplasmosis asociada a SIDA con residencia en la misma ciudad, comparten una estrecha identidad entre ambos (31). Asimismo, aislados de pacientes guatemaltecos procedentes de la Ciudad de Guatemala, H.1.04.91 y Cepa 3, de excretas de aves (zanate) y L-100-91 y Cepa 2, colectadas en los cercanos Departamentos de Guatemala e Escuintla, respectivamente, desarrollaron un patrón idéntico de DNA (100% de similitud) (Figs. 1 y 2).

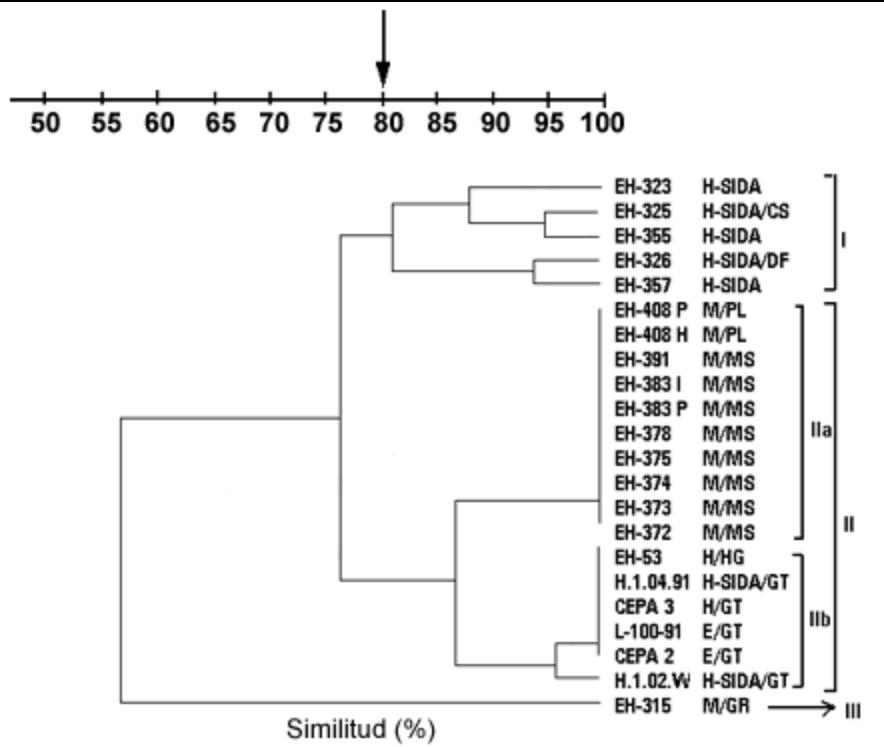


Figura 2 Similitud genética entre aislados de *H. capsulatum*

Con base en el perfil de RAPD-PCR de la figura 1, se construyó una matriz de similitud por el coeficiente de Dice (34), a partir de ésta se llevó a cabo el análisis de agrupación por el método de UPGMA.

Abreviaciones

H-humano; M-murciélagos; E-excreta de ave; CS-Chiapas; DF-Distrito Federal; PL-Puebla; MS-Morelos; HG-Hidalgo; GR-Guerrero; GT-Guatemala

Estos hallazgos sugieren una estrecha relación entre fuente natural de infección por *H. capsulatum* y casos clínicos. El análisis comparativo de la homología genética de un aislado de murciélago infectado de la cueva "El Salitre" y de un aislado clínico de Morelos, determinado a través de las secuencias parciales de 4 genes (H-ANTI, OLE, TUB1, ARF) (8, 9), se llevó a cabo con el programa Blast 2 (32). En este estudio, se encontró una identidad de 90-99% con las regiones amplificadas de los cuatro genes (Tabla 1), lo cual sugiere que tanto el aislado de la naturaleza, como el procedente del caso clínico hacen parte de la misma clona patogénica de *H. capsulatum*.

Locus	Identidad	Inserciones/Delecciones
H-ANTI	403/406 (99%)	1/406 (0%)
OLE	423/424 (97%)	1/424 (0%)
TUB1	270/277 (97%)	(-)
ARF	270/277 (97%)	1/463 (0%)

Tabla 1

Resultado del alineamiento entre las secuencias parciales de los genes H-ANTI, OLE, TUB1 y ARF obtenidas con el DNA del aislado EH-372 de *H. capsulatum* recuperado del murciélagos Artibeus hirsutus, en el estado de Morelos, México; y las secuencias obtenidas en las mismas condiciones del DNA del aislado EH-317 procedente de paciente con histoplasmosis asociada a SIDA residente en el mismo estado

Se amplificaron fragmentos de cuatro genes de *H. capsulatum* a partir de oligonucleótidos referidos por Kasuga et al. (8). Para el gen H-ANTI del precursor del antígeno H, H-anti3 (5'-cgcaagtccatccataactatc) y H-anti4 (5'-gcggccgacattaaaccc); para el gen OLE de la desaturasa D-9 de ácido graso, ole3 (5'-tttaaacgaaggccccacgg) y ole4 (5'-caccaccccaacagcagca); para el gen TUB1 de la a-tubulina, tub1 (5'-ggtgccaaatcgcaaactc) y tub2 (5'-ggcagcttcgttccctcagt); y, por último, para el gen ARF del factor de ribosilación del ADP, arf1 (5'-agaatatatgggaaaaagg) y arf2 (5'-cgcaattcatcttcgttgag). La PCR se realizó bajo las mismas condiciones descritas por Kasuga et al. (8). Los productos de la PCR se enviaron al Instituto de Fisiología Celular, UNAM, para la debida secuenciación en un aparato ABI (Applied Biosystems, Perkin-Elmer, Foster City, CA). Se generaron secuencias para una sola hebra, las cuales se editaron, alinearon y visualizaron mediante el programa BLAST 2 (32); (-)-Ausencia

Distribución geográfica de *H. capsulatum*

El mecanismo involucrado en la dispersión de *H. capsulatum* no está bien establecido. Se propone que el viento puede dispersar esporas del hongo en espacios abiertos, en cambio, en los espacios cerrados, los mamíferos infectados son considerados los diseminadores del hongo en la naturaleza. La relación que existe entre *H. capsulatum*, la enfermedad en el humano, las cuevas y los murciélagos es bien conocida, aunque los detalles de su dinámica son poco documentados. El desarrollo del hongo en el guano acumulado en espacios cerrados y/o abandonados, produce propágulos capaces de infectar a los mamíferos que penetran o que habitan estos ambientes. Se sospecha que los murciélagos enfermos podrían transportar el hongo a otros sitios favorables para su crecimiento. Los hábitos coloniales de los murciélagos cavernícolas y su capacidad de vuelo son parámetros importantes para explicar la dispersión del hongo. Al tipificar por RAPD-PCR aislados de *H. capsulatum* recuperados de murciélagos infectados, capturados en diferentes áreas del país, éstos fueron clasificados de acuerdo con sus similitudes genéticas en dos grupos, de los cuales, uno de ellos, contiene la mayoría de los aislados de murciélagos infectados (29). Este grupo presenta un patrón polimórfico común para aislados de murciélagos capturados en Morelos, Oaxaca y Puebla (29, 30). Dicho patrón polimórfico resulta de interés, ya que podría ser utilizado como un marcador molecular para diferenciar aislados de murciélagos infectados. Asimismo, una banda común de DNA de aproximadamente 123 pares de bases, la cual es compartida por los aislados de murciélagos y por los aislados de pacientes mexicanos y guatemaltecos con histoplasmosis asociada o no a SIDA, es un excelente candidato para elaborar una sonda para identificar aislados geográficos del hongo.

Algunos de los murciélagos en los que han sido aislado el hongo, tienen una baja tasa de movimientos regionales y comparten cuevas con otras especies. Sin embargo, los murciélagos cavernícolas que realizan movimientos migratorios importantes, como *Leptonycteris curasoae* y *L. nivalis*, podrían ser los responsables de la dispersión del hongo con un patrón polimórfico idéntico en áreas más extensas. Esto ha sido sugerido por los estudios moleculares, de ahí que la

asociación entre la distribución geográfica de *H. capsulatum* y de sus aislamientos de murciélagos puede ser utilizada para rastrear el marcador biológico (patrón polimórfico del DNA del hongo) en los desplazamientos habituales de los murciélagos migratorios. Resulta relevante por las dificultades que implica estudiar y demostrar el alcance geográfico de dichos movimientos. Se han documentado movimientos intertropicales entre cuevas de la región semiárida del centro de México (Guerrero-Hidalgo, Hidalgo-Morelos y Morelos-Oaxaca) (33)y, en esta misma región, ha sido identificado, para murciélagos nectarívoros, el patrón polimórfico común del DNA de *H. capsulatum* (30). Por esta razón la biogeografía del polimorfismo de este hongo puede contribuir a resolver la polémica que existe con relación al alcance de las migraciones de especies de murciélagos. Además, la actualización de los datos acerca de la distribución real de la histoplasmosis en México, la cual se asocia a la dispersión del agente etiológico en la naturaleza con base en datos moleculares, permitirán obtener informaciones precisas y fidedignas para trazar un mapa epidemiológico de la enfermedad y definir nuevos parámetros para la caracterización de su actual prevalencia en México.

PROPUESTA DE UNA CLASIFICACIÓN GENOTÍPICA DE LOS AISLADOS DE *H. CAPSULATUM*

Considerando los hallazgos repetitivos obtenidos de varios ensayos moleculares, el presente trabajo integra una clasificación preliminar de los aislados de *H. capsulatum* más estudiados por nuestro equipo y procedentes de distintas fuentes y regiones geográficas en la República Mexicana. En esta clasificación se incluyen algunos aislados de Guatemala, por su comportamiento molecular similar a los aislados procedentes de México. Con base en el perfil polimórfico de los aislados incluidos en la figura 1y de acuerdo con el análisis por el método de agrupación UPGMA (Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic averages), se sugiere la formación de tres grupos dentro de un límite de corte del 80% de similitud (Fig. 2) que permiten proponer un patrón geográfico de la distribución del hongo en el territorio nacional.

En el grupo I se ubican los aislados clínicos de pacientes mexicanos asociados a SIDA con un porcentaje de similitud del 81% entre ellos. Este grupo comprende aislados de pacientes que refieren distintas áreas de residencia dentro del país y, por lo tanto, de difícil definición geográfica del sitio y fuente de infección asociada. El grupo II con 87% de similitud respecto a los demás, comprende dos subgrupos. El subgrupo IIa está formado por aislados de murciélagos infectados y capturados en Morelos y Puebla que presentan una similitud del 100% entre ellos y un patrón polimórfico común, el cual podría ser considerado como regional para los estados de la zona central de la República Mexicana. El subgrupo IIb incluye aislados procedentes de México y Guatemala con un rango de similitud entre ellos del 100 al 95%. En este subgrupo se encuentra una cepa de referencia de México aislada de un trabajador infectado en una mina de plata en el estado de Hidalgo, México; además de aislados clínicos de pacientes guatemaltecos asociados o no a SIDA y aislados de excretas de aves de Guatemala. El patrón molecular asociado a este subgrupo se extiende desde la zona del centro al sur de México y fluye hacia América Central (Guatemala). El grupo III es el más distante y está formado por un aislado único proveniente de un murciélagos infectado capturado en el estado de Guerrero, México. Este aislado siempre ha constituido un grupo aparte estudiado tanto por investigadores nacionales, como por expertos del extranjero (9, 23, 25, 29, 30) y presenta un patrón polimórfico distinto que se aproxima a la población del grupo B de Sudamérica, según Kasuga et al. (9).

CONCLUSIONES

El conocimiento sobre la distribución endémica y epidémica de la histoplasmosis en el país, a la luz de las tecnologías modernas, está todavía en sus inicios. Mucho hay que definir no sólo sobre sus formas clínicas en las áreas de más alta prevalencia de la enfermedad, sino también sobre las fuentes de infección de los pacientes con SIDA, la distribución del hongo en el ambiente natural y los marcadores y patrones genotípicos y fenotípicos del hongo. Los tiempos son demandantes y nuestro grupo de investigación ha aceptado este desafío. Ha comenzado a abordarlo desde aspectos prácticos y originales, que permitan implementar medidas efectivas para la prevención y control de la enfermedad en el país.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tewary R; Wheat LJ; Ajello L. Agents of histoplasmosis. In: Ajello L, Hay RJ (eds.). Medical Mycology. Topley & Wilson's, Microbiology and Microbial Infections, 9º ed. New York: Arnold and Oxford University Press, Inc., 1998, 373-407.
2. Taylor ML; Granados J; Toriello C. Biological and sociocultural approaches of histoplasmosis in the State of Guerrero, Mexico. *Mycoses*, 1996; 39: 375-37.
3. Velasco-Castrejón O. Micosis Profundas. En: García-García ML, Giono-Cerezo S, Escobar-Gutiérrez A, Valdespino-Gómez JL (eds.). *Infecciones Respiratorias Agudas y Crónicas*. INDRE, México, D.F.: Secretaría de Salud, 1998, 231-243.
4. Vaca-Marín MA; Martínez-Rivera MA; Flores-Estrada JJ. Histoplasmosis en México, aspectos históricos y epidemiológicos. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias* (México), 1998; 11 (3): 208-215.
5. Taylor ML; Reyes-Montes MR; Chávez-Tapia CB; Curiel-Quesada E; Duarte-Escalante E; Rodríguez-Arellanes G; Peña-Sandoval GR; Valenzuela-Tovar F. Ecology and molecular epidemiology findings of *Histoplasma capsulatum*, in Mexico. *Research Advances in Microbiology*, 2000; 1: 29-35.
6. Eissenberg LG; Goldman WE. *Histoplasma* variation and adaptive strategies for parasitism: New perspectives on histoplasmosis. *Clinical Microbiological Review*, 1992; 4: 411-421.
7. Vigh L; Maresca B; Harwood JL. Does the membrane's physical state control the expression of heat shock and other genes? *TIBS*, 1998; 23: 369-374.
8. Kasuga T; Taylor JW; White TJ. Phylogenetic relationships of varieties and geographical groups of the human pathogenic fungus *Histoplasma capsulatum* Darling. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999; 37 (3): 653-663.
9. Kasuga T; Taylor JW; White TJ. Phylogeography of *Histoplasma capsulatum*. In: The Fifth NIAID Workshop in Medical Mycology: Epidemiology. The R. David Thomas Center, Durhan: Duke University, 2000.
10. Kaufman L; Blumer S. Occurrence of serotypes among *Histoplasma capsulatum* strains. *Journal of Bacteriology*, 1966; 91: 1434-1439.
11. Domer JE. Monosaccharide and chitin content of cell walls of *Histoplasma capsulatum* and *Blastomyces dermatitidis*. *Journal of Bacteriology*, 1971; 107: 870-877.
12. Vincent RD; Goewert R; Goldman WE; Kobayashi GS; Lambowitz AM; Medoff G. Classification of *Histoplasma capsulatum* isolates by restriction fragment polymorphisms. *Journal of Bacteriology*, 1986; 165 (3): 813-818.

13. Spitzer DE; Keath EJ; Travis SJ; Painter AA; Kobayashi GS; Medoff G. Temperature-sensitive variants of *Histoplasma capsulatum* isolated from patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Journal of Infectious Diseases*, 1990; 162: 258-261.
14. Keath EJ; Kobayashi GS; Medoff G. Typing of *Histoplasma capsulatum* by restriction fragment length polymorphisms in a nuclear gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 1992; 30 (8): 2104-2107.
15. Taylor ML; Pérez-Mejía A; Yamamoto-Furusho JK; Granados J. Immunologic, genetic and social human risk factors associated to histoplasmosis: Studies in the State of Guerrero, Mexico. *Mycopathologia*, 1997; 138: 137-141.
16. Taylor ML; Morales-Quiroz A; Chávez-Cortés CR; García-Torres D; Montaño-Ortiz G; Pedroza-Serés M. Actualidades inmunológicas y moleculares sobre la epidemiología de la histoplasmosis en Morelos, México. *Gaceta Médica de México*, 2000; 136 (5): 441-448.
17. Pedroza-Serés M; Quiroz-Mercado H; Granados J; Taylor ML. The syndrome of presumed ocular histoplasmosis in Mexico: A preliminary study. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 1994; 32: 83-92.
18. Taylor ML; Reyes-Montes MR; González GR; Casasola J; Hernández-Ramírez A. Immune response changes with age and sex as factors of variation in resistance to *Histoplasma* infection. In: Baxter M (ed.). Proceeding VIII Congress of ISHAM. Palmerston North (New Zealand): Massey University, 1982, 260-264.
19. Reyes-Montes MR; García-Camacho MP; Casasola J; Taylor ML. Immunosuppression transfer by spleen cells from young to adult mice previous to *Histoplasma capsulatum* infection. *Mycopathologia*, 1988; 101: 69-75.
20. Godfrey WA; Sabates R; Cross DE. Association of presumed ocular histoplasmosis with HLA-B7. *American Journal of Ophthalmology*, 1978; 89: 70-76.
21. Meredith TA; Smith RE; Braley RE; Witkowski JA; Koethe SM. The prevalence of HLA-B7 in presumed ocular histoplasmosis in patients with peripheral atrophic scars. *American Journal of Ophthalmology*, 1978; 86: 325-328.
22. Meredith TA; Smith RE; Duquesnoy RJ. Association of HLA-DRw2 antigen with presumed ocular histoplasmosis. *American Journal of Ophthalmology*, 1980; 89: 70-76.
23. Taylor ML; Reyes-Montes MR; Martínez-Rivera MA; Rodríguez-Arellanes G; Duarte-Escalante E; Flores-Estrada JJ. Histoplasmosis en México. Aportaciones inmunológicas y moleculares sobre su epidemiología. *Ciencia y Desarrollo*, 1997; 23 (136): 58-63.
24. Reyes-Montes MR; Bobadilla-del Valle M; Martínez-Rivera MA; Rodríguez-Arellanes G; Flores-Robles E; Sifuentes-Osornio J; Taylor ML. Tipificación de aislados clínicos de *Histoplasma capsulatum* por métodos fenotípicos y genotípicos. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (México)*, 1998; 11 (3): 195-201.
25. Reyes-Montes MR; Bobadilla-del Valle M; Martínez-Rivera MA; Rodríguez-Arellanes G; Maravilla E; Sifuentes-Osornio J; Taylor ML. Relatedness analyses of *Histoplasma capsulatum* isolates from Mexican patients with AIDS-associated histoplasmosis by using histoplasmin electrophoretic profiles and randomly amplified polymorphic DNA patterns. *Journal of Clinical Microbiology*, 1999; 37: 1404-1408.
26. Reyes-Montes MR; Ríos-Rosas C; Maravilla E; Taylor ML. Increased DNA polymorphism among clinical isolates of *Histoplasma capsulatum* generated by two-primer in randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) reactions. *Medical Mycology*. 2001 (Submitted).
27. Reyes-Montes MR; Ríos-Rosas C; Canteros CB; Giusiano GE; Taylor ML. Genetic diversities of *Histoplasma capsulatum* isolates according to their source in nature, clinical association,

- and geographic distribution in Latin America. In: XIV Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. Buenos Aires (Argentina): 2000, 126.
28. Salas-Ríos MA; Reyes-Montes MR; Martínez-Rivera MA; Curiel-Quesada E; Taylor ML. Genotipificación de cepas de *Histoplasma capsulatum* aisladas de pacientes con histoplasmosis asociada al SIDA, mediante el polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción. Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (México), 1998; 11 (3): 202-207.
29. Chávez-Tapia CB; Vargas-Yáñez R; Rodríguez-Arellanes G; Peña-Sandoval GR; Flores-Estrada JJ; Reyes-Montes MR; Taylor ML. I. El murciélagos como reservorio y responsable de la dispersión de *Histoplasma capsulatum* en la naturaleza. II. Papel de los marcadores moleculares del hongo aislado de murciélagos infectados. Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (México), 1998; 11 (3): 187-191.
30. Taylor ML; Chávez-Tapia CB; Reyes-Montes MR. Molecular typing of *Histoplasma capsulatum* isolated from infected bats, captured in Mexico. Fungal Genetics and Biology, 2000; 30: 207-212.
31. Rodríguez-Arellanes G; Loza-Taylor T; Duarte-Escalante E; Reyes-Montes MR; Chávez-Tapia CB; Taylor ML. Aislamiento de *Histoplasma capsulatum* en zonas urbanas de México. En: VII Congreso Nacional de Micología. Sociedad Mexicana de Micología. Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro, Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey Campus Querétaro, 2000, 175.
32. Tatusova TA; Madden TL. Blast 2 sequences- a new tool for comparing protein and nucleotide sequences. Federation of European Microbiology Societies Microbiology Letter, 1999; 174: 247-250.
33. Rojas-Martínez AE; Valiente-Banuet A. Análisis comparativo de la quiropterofauna del valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla-Oaxaca. Acta Zoológica Mexicana, 1996; 67: 1-23.
34. Sneath PHA, Sokal RR. Taxonomic structure. En: Numerical taxonomy. .San Francisco: W. H. Freeman and Co. 1973, 188-305.