
PARACOCCIDIOIDOMICOSIS

INTRODUCCIÓN

Dentro de los hongos patógenos verdaderos se encuentran las especies pertenecientes al género *Paracoccidioides*, que producen una infección generalizada denominada Paracoccidioidomicosis (PCM). Es una enfermedad sistémica que involucra primariamente pulmón y luego se disemina a otros órganos y sistemas tales como membranas mucosas, nódulos linfáticos, piel y suprarrenales.

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA:

División: *Ascomycota*.

Clase: *Endomycetes*.

Orden: *Onygenales*.

Familia: *Onygenaceae*.

Género: *Paracoccidioides*.

Especies: *Paracoccidioides brasiliensis* y *Paracoccidioides lutzii*

El estado teleomorfo de este hongo es hasta el momento desconocido.

EPIDEMIOLOGIA

Distribución geográfica:

La PCM es una enfermedad cuya distribución geográfica abarca a Latinoamérica desde México a Argentina. Brasil cuenta con el 80% de los casos reportados, le sigue Colombia y Venezuela.

En Argentina, existen dos zonas endémicas, la del Noreste (Formosa, Misiones, Chaco, Corrientes, Norte de Entre Ríos y Santa Fe); y la del noroeste (Jujuy, Salta y Tucumán). En zonas endémicas, los casos no se distribuyen homogéneamente dentro del territorio sino que tienden a concentrarse cerca de bosques húmedos. Pocos casos han sido aislados de praderas, regiones costeras, zonas desérticas y junglas ecuatoriales.

Las condiciones climáticas predominantes en los países con alta endemicidad son: temperaturas medias de 18 a 23°C, precipitaciones entre 900 a 1800 mm/año, abundante forestación y corrientes de aguas, árboles indígenas, inviernos cortos y veranos lluviosos.

Aspectos demográficos:

Edad: PCM se observa excepcionalmente en niños (3%) y adultos jóvenes (10%) pero se diagnostica regularmente en adultos de edades comprendidas entre 30 a 60 años.

Sexo: Esta enfermedad se presenta con mayor frecuencia en varones que en mujeres con una relación de 87:13 en áreas endémicas. El progreso de la enfermedad es más frecuente en el hombre. En la mujer se presume la función protectora de las hormonas femeninas, que actuaría permitiendo una respuesta inmune específica que destruiría las partículas infectantes.

Ocupación: Más del 70% de los pacientes son agricultores de cultivo de café, algodón o caña de azúcar. Algunos casos pueden aparecer en individuos que no han estado en contacto con el suelo y materia orgánica. Es de destacar que en las zonas endémicas las tareas agrícolas son compartidas por hombres y mujeres.

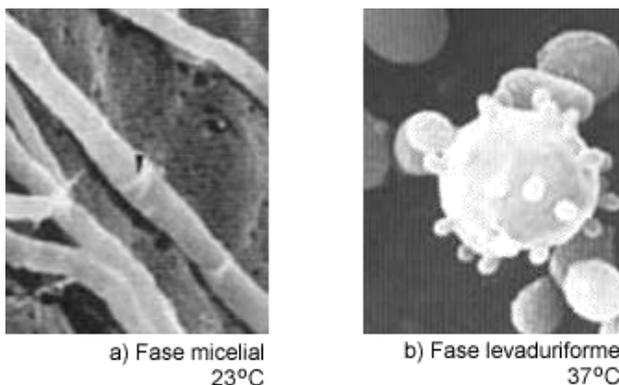
AGENTES ETIOLÓGICOS

La PCM puede ser causada por dos especies *Paracoccidioides brasiliensis* y *Paracoccidioides lutzii*. *P. brasiliensis* fue considerada como la única especie causante de la enfermedad desde su descubrimiento, pero recientemente por estudios moleculares y morfológicos se ha determinado la división de *P. brasiliensis* en dos especies.

P. lutzii está compuesto por una población presente en la zona central, norte y sudoeste de Brasil y en Ecuador.

Por otro lado *P. brasiliensis* contiene un complejo de al menos 4 diferentes especies crípticas (S1, PS2, PS3 y PS4). *P. brasiliensis* S1 representa una población ampliamente distribuida en Sudamérica y ha sido asociada con la mayoría de los casos de PCM detectados hasta el presente, también se ha aislado de armadillos. *P. brasiliensis* PS2 corresponde a una población sólo identificada en Brasil y Venezuela. *P. brasiliensis* PS3 ha sido recuperada de humanos y armadillos en regiones endémicas de Colombia. *P. brasiliensis* PS4 se ha encontrado a partir de aislamientos clínicos en Venezuela.

Estos hongos presentan dimorfismo termal, con dos fases: una fase micelial a 28°C, que es la forma infectante en la naturaleza, (los propágulos de dispersión); y una fase levaduriforme a 37°C, que es la forma infectiva o parasitaria en los tejidos del hospedador.



VIRULENCIA

La vía de entrada de *Paracoccidioides* es inhalatoria. Los conidios llegan al alvéolo pulmonar, donde el hongo sintetiza proteínas o componentes de la pared celular que le permiten evadir aspectos específicos de las defensas del hospedador.

Los factores de patogenicidad conocidos son:

1. Proteínas de unión a estrógeno.

-
2. Constituyentes de la pared celular alfa-1,3-glucano y beta-1,3-glucano
 3. Antígeno extracelular, la glicoproteína gp43.

ASPECTOS ECOLÓGICOS

En 1966 Negroni aisló *Paracoccidioides* del suelo en Argentina y Albornoz en Venezuela en 1971. Silva-Vergara y col en 1998 lo aislaron de suelo de plantaciones de café de Ibiá, en el Estado de Minas Gerais, Brasil. El hallazgo del hongo en el suelo de las plantaciones de café podría explicar la adquisición de la PCM durante la actividad agrícola en esas áreas.

Paracoccidioides se lo aisló en muestras fecales del murciélago frugívoro (*Artibeus lituratus*), en las visceras del mono ardilla (*Saimiri sciureus*), en heces del pingüino de la Antártida (*Pygoscelis adeliae*), en las vísceras del armadillo (*Dasypus novemcinctus*) y en la comida de perros contaminada. Silva-Vergara y col. capturaron armadillos de las zonas donde habían recuperado las cepas de *Paracoccidioides* y encontraron que los mismos estaban infectados con el hongo. También infecta armadillos de zonas de diferentes características geoclimáticas y vegetación. La observación de células de levaduras en tejidos y el ataque multivisceral, incluyendo pulmón, sugiere la aparición de PCM en estos mamíferos y sustenta el rol de este hospedador silvestre en el ciclo epidemiológico del hongo.

CUADROS CLINICOS

En un hospedador competente, el crecimiento del hongo se limita y la interacción finaliza sin un daño aparente. Esto es lo que se llama **infección subclínica**. En este caso el foco primario desaparece y el hongo es usualmente destruido, pero el hospedador queda con “memoria” de la infección. Si el equilibrio hospedador-parásito es perturbado por una inmunosupresión u otras causas, progresa la infección y la enfermedad propiamente dicha.

Existen dos formas clínicas bien distinguibles: una **forma aguda juvenil** (subaguda) y una **forma crónica adulta**. En ambos casos, las funciones de inmunidad mediada por células son anormales y en ausencia de terapia específica la mortalidad es alta. Con tratamiento adecuado, se puede esperar mejoría. Algunas lesiones quedan como secuelas (**forma residual**), donde se encuentran células de *Paracoccidioides* viables y puede ocurrir la reactivación. La remisión puede ir acompañada a veces por una fibrosis pulmonar significativa.

La enfermedad entonces puede progresar de un foco primario sin período de latencia o comúnmente por reactivación de un foco en estado de latencia (reinfeksi3n end3gena). Es posible también el pasaje de reinfeksi3n ex3gena a enfermedad sintomática. Por lo tanto la micosis puede adoptar más de una forma clínica.

Forma juvenil, aguda o subaguda:

Representa entre el 3 a 5 % de los casos. Se caracteriza por un curso rápido (de semanas a meses) y por un compromiso marcado del sistema reticuloendotelial (bazo, hígado, nódulos linfáticos y médula ósea). La respuesta inmune mediada por células en niños y adultos jóvenes está severamente deprimida. Es una forma severa, donde la mortalidad es por hipertrofia de los órganos primarios del sistema reticuloendotelial. Independientemente del órgano involucrado, la PCM cura dejando fibrosis con formación de secuelas fibróticas, que interfieren con el bienestar del paciente. El pulmón es el foco primario, pero no tiene manifestaciones clínicas ni radiológicas especiales. El patrón radiológico es variable, con nódulos linfáticos hiliares hipertrofiados e infiltrados basales predominantemente.

Forma crónica, tipo adulta:

La enfermedad progresa lentamente y puede llevar meses o muchos años hasta establecerse del todo. Las manifestaciones pulmonares son evidentes en el 90% de los casos siendo el único sistema clínicamente afectado (**forma unifocal**). El compromiso pulmonar **unifocal** sería silencioso y el paciente se presenta a la consulta sólo después de una diseminación a lesiones extra pulmonares (**forma multifocal**).

Los síntomas pulmonares son inespecíficos e incluyen: tos, expectoración y deficiencia respiratoria; pérdida de peso, fiebre y anorexia. Las imágenes radiológicas pulmonares son nodulares, infiltrativas, fibróticas o cavitarias; pueden ser bilaterales y se ubican preferentemente en la porción central o baja del pulmón, con el resto de los ápices libres de enfermedad. Los signos y síntomas respiratorios son menores y no corresponden con el compromiso que revelan los rayos X .

PCM y tuberculosis coexisten en un 10% de los casos. Sin embargo la presentación radiológica sugeriría una neoplasia, fibrosis intersticial idiopática u otras enfermedades. El daño del pulmón es de tipo obstructivo.

En la **forma multifocal** los síntomas son variables y referidos a más de un órgano o sistema. Las lesiones ocurren con mayor frecuencia en la mucosa oral y nasal, piel, nódulos linfáticos y glándulas suprarrenales. Con menor frecuencia los pacientes presentan compromiso ocular, enfermedad del sistema nervioso central y destrucción ósea.

De acuerdo a la condición general del paciente y el estado inmunológico, las formas crónicas pueden ser leves, moderadas y severas, y el paciente exhibe activación policlonal de linfocitos B. Las funciones de la inmunidad mediada por células están deprimidas en los casos severos de la enfermedad y preservadas en los casos menos serios. Los tejidos tienden a mostrar formaciones granulomatosas.



Paracoccidioidomycosis mucocutánea mostrando extensa destrucción de características faciales

Forma residual:

La PCM cura con fibrosis, independientemente del órgano involucrado. Las secuelas interfieren con el bienestar del paciente. La mayoría de las manifestaciones se dan en el pulmón con disnea y restricción cardiopulmonar que se observó en el 60-80% de los pacientes. Se han informado disfonías, microstomías y estenosis de la glotis y tráquea con disfonía asociada. La infección de la glándula suprarrenal ha repercutido en la funcionalidad de la misma.

DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO

Materiales clínicos:

Espuito, lavado bronquialveolar, costras, material del fondo granulomatoso de las úlceras, pus de nódulo linfático, LCR o biopsias de tejido.

Microscopía:

Examen Directo:

El examen directo permite la visualización de los elementos fúngicos. Se utilizan distintos procedimientos: hidróxido de potasio, calcofluor, inmunofluorescencia. En los materiales clínicos *Paracoccidioides* aparece como una célula globosa con brotes múltiples. Las células jóvenes miden de 2 a 10 μm de diámetro y las maduras de 30 μm a 60 μm . La pared es gruesa y refringente de 0.2 a 1 μm . Pueden estar dispuestas en cadena de 4 a más células, esféricas, ovals o elípticas.

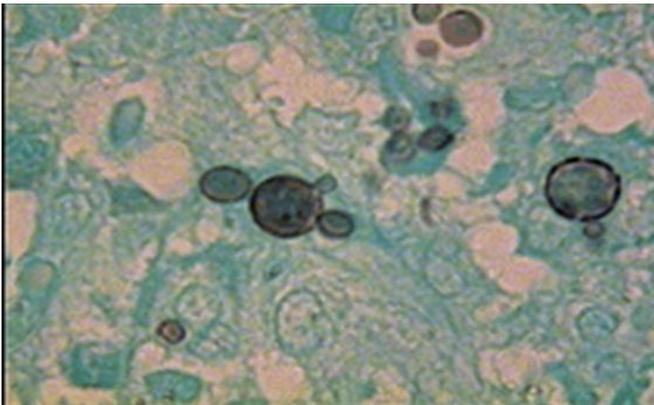
El esputo seriado es la muestra más usada para el diagnóstico, por ser más accesible y menos cruento para el paciente. Se han desarrollado distintas técnicas que aumentan la sensibilidad del examen directo del esputo. La más utilizada es la concentración con hidroxido de potasio al 20%, incubando a 37°C 1 h, centrifugando y observando el sedimento. La sensibilidad del examen directo varía del 85 al 100%.



Elementos levaduriformes de *Paracoccidioides* en examen directo de un material clínico

Histopatología:

Se puede realizar con distintas tinciones: hematoxilina-eosina, Gomori Grocott, Papanicolaou, ácido periódico de Schiff y la técnica de inmunofluorescencia indirecta. En el tejido infectado se observa un proceso progranulomatoso con infiltrados de leucocitos polimorfonucleares (PMN), células mononucleares, macrófagos y células gigantes multinucleadas. Se observan elementos levaduriformes multibrotantes.



Coloración Gomori Grocott de un material clínico

Cultivos:

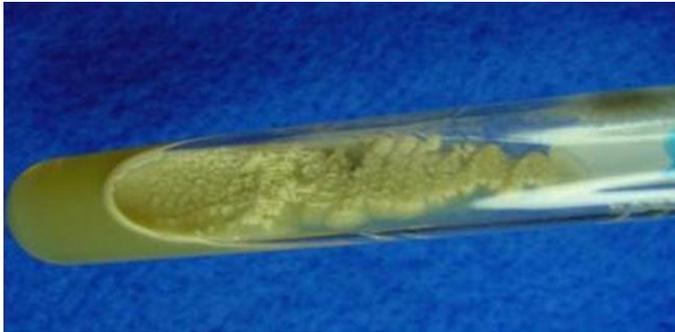
En materiales de vías respiratorias no es satisfactorio el aislamiento primario del hongo ya que hay abundante flora normal bacteriana. Si se agregan antibióticos a los medios de cultivo, estos actuarían como inhibidores impidiendo el crecimiento. El medio SABHI (mitad Sabouraud glucosa y mitad infusión cerebro corazón) y el agar extracto de levadura son los mejores para el aislamiento.

La recuperación del hongo en muestras clínicas se realiza en medios artificiales con y sin antibióticos e incubados a ambas temperaturas: a 28°C Sb, SbCl, Mycosel y V8, y a 37°C. Sb y Agar sangre.

Características macroscópicas y microscópicas

Macromorfología:

La fase levaduriforme a 37°C como una colonia de aspecto cremoso, cerebriforme y plegada, de consistencia blanda y color crema, que empieza a crecer después de 10 a 15 días de incubación. La fase filamentosa crece muy lentamente de 20 a 30 días de incubación a 20-26°C desarrollando una colonia pequeña, irregular, blanca, recubierta por un micelio aéreo corto que se adhiere al agar. En muchos aislamientos se observa la producción de un pigmento marrón difusible.



Cultivo de la fase levaduriforme a 37°C

Micromorfología:

A 37°C se observan células de levaduras de distintos tamaños (4 a 30 μm) usualmente ovals o elongadas, que tienen una pared gruesa y refringente, cuyo citoplasma contiene gotas de lípidos prominentes. La característica más destacada, es la forma levaduriforme de apariencia “rueda de timón”; es la célula madre multibrotante que presenta alrededor células hijas periféricas. Además se pueden observar células con brotación simple o cortas cadenas de blastoconidios. Esta observación es diagnóstico de la micosis.

A 28°C las hifas son finas y septadas, y en medios comunes de laboratorio se observan a veces clamidoconidios esparcidos como única característica adicional. En medios pobres se pueden observar microconidios pedunculados y artroconidios intercalares, algunos de los cuales dan lugar a un abultamiento lateral que resulta en otro conidio. *P. lutzii* produce conidios en forma de barra elongados, que permiten diferenciarlo de *P. brasiliensis*.

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR

A pesar de las diferencias morfológicas entre las dos especies hay dificultades para que estos hongos produzcan conidios en el laboratorio. Por ello se recomienda realizar la identificación molecular de especies. Existen varios marcadores moleculares que se pueden utilizar con este fin : *gp-43*, *arf*, β -*tub*, y *hsp70*.

DIAGNÓSTICO INMUNOLÓGICO

Detección de anticuerpos:

Los tests inmunológicos más utilizados para detectar anticuerpos contra componentes de *Paracoccidioides* son inmunodifusión y fijación del complemento.

Para la detección de anticuerpos, se deben utilizar antígenos citoplasmáticos o extracto de metabolitos extracelulares. El antígeno de referencia mayoritario es la fracción proteica de 43000Da que es una glicoproteína (gp43) que debe estar presente en el antígeno que se utiliza en las reacciones serológicas. Con antígenos derivados de la pared celular se obtienen reacciones cruzadas con galactomananos.

Detección de antígenos:

La detección de antígenos en PCM ha sido utilizada con distintas técnicas que varían en sensibilidad y especificidad. Gp43 se ha encontrado en pacientes con formas agudas o crónicas de PCM; pero la cuantificación de antigenemia, ha sido desarrollada muy recientemente.

Salina y col., diseñaron un enzimo-inmuno-análisis de competición (EIA-c), en suero y orina de pacientes con PCM. Para esta técnica se usaron anticuerpos policlonales anti- *Paracoccidioides* obtenidos a partir del antígeno total. Se evaluó el ensayo presentando un 78,6% de sensibilidad y 91,3% de especificidad. Cuando se detectó antigenuria por EIA-c, se logró una sensibilidad del 75% y una especificidad del 100%. Para la técnica de inmunotransferencia se probó una disminución de la reactividad de gp43 con un pool de sueros de pacientes con PCM.

Gómez y col. desarrollaron un ELISA-inhibición que resultó más útil para el monitoreo de la terapéutica. La disminución de los niveles de antígenos corresponden a una mejoría en las formas agudas, crónicas unifocales y multifocales. Existe una buena correlación entre la severidad de la enfermedad con antigenemia y antigenuria.

La detección de antígeno de *Paracoccidioides* en suero y orina sería un método de diagnóstico de PCM, de utilidad para monitorear los efectos del tratamiento y reducir las reinfecciones.

OPORTUNISMO

Transplantes:

La inmunosupresión inherente a los pacientes transplantados, ha abierto una puerta para infecciones oportunistas o no oportunistas, creando un campo adecuado para adquirir infecciones nuevas o reactivar los focos existentes.

Un paciente con transplante de riñón que había vivido fuera de la zona endémica durante 39 años tuvo una reactivación de PCM. Los factores predisponentes para desarrollar PCM pulmonar fueron azatioprina y prednisona.

No se ha encontrado PCM primaria durante la inmunosupresión.

Cáncer y quimioterapia:

Los tratamientos quimioterápicos de pacientes con tumores sólidos pueden predisponer la reactivación de micosis latentes. Los pacientes con PCM van a una forma aguda pulmonar, por una supresión de la inmunidad celular, se deben utilizar drogas alternativas de la ciclofosfamida.

SIDA:

La respuesta inmune celular es el mecanismo de defensa más importante en la infección de *P. brasiliensis*. Una disfunción en este sistema ocasionada por un factor de inmunosupresión originaría una PCM con foco primario o una reactivación de un foco latente.

La infección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es ubicua y es el factor más relevante de inmunodeficiencia en el Brasil como en otros países desarrollados.

La coexistencia de PCM y SIDA en la misma área geográfica podría revelar la asociación de ambas como un evento común posible por un camino similar al observado en histoplasmosis, penicilosis y coccidioidomicosis, también asociado a SIDA en sus respectivas áreas endémicas.

En Brasil se han reportado desde agosto de 1980 hasta agosto de 1999, 44 casos de asociación de PCM y SIDA. Esta entidad se dio en el 0,02% del total de pacientes analizados, mientras que para histoplasmosis en la misma población fue de 1,4%. Esta baja frecuencia podría explicarse por la quimioprofilaxis de rutina de la neumonía a *Pneumocystis jirovecii* con cotrimazol, que es una droga efectiva para *Paracoccidioides*, o por el efecto protector de los componentes azoles usados para tratar o prevenir candidiasis u otras infecciones fúngicas.

Otra razón de la baja frecuencia de asociación es que la infección por VIH se observa en mayor proporción en las ciudades, en cambio, PCM se detecta asiduamente en ambientes rurales.

En la literatura se ha relatado 39 casos de asociación PCM-SIDA provenientes de Brasil, Venezuela y Colombia. En 29 de ellos la PCM fue la primera enfermedad de vida.

El cuadro clínico fue similar a una PCM aguda o subaguda con pérdida de peso, período corto de fiebre, fatiga y asociación con linfadenopatía. Se observó compromiso en nódulos linfáticos (51,3%), piel (46,1%) y hepatoesplenomegalia (25,6%). Las lesiones en piel fueron múltiples, con un patrón papulonodular y ulcerativo. La única evidencia de compromiso pulmonar fue el hallazgo de los elementos característicos en las muestras de esputo.

La letalidad de PCM en pacientes con SIDA fue del 23% representando un 5% más de lo que sucede con PCM en pacientes inmunocompetentes.

El etilismo y tabaquismo crónico son otros factores predisponentes.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1- Bonifaz A. MICROLOGIA Médica Básica. (2015). Mc Graw Hill Ed. 5 Ed. México DF
- 2- Borges-Walmsley,M.; Chen,D.; Shu,X. and Walmsley.A. The pathobiology of *Paracoccidioides brasiliensis*. (2002) Trends in Microbiology.10:80-87.
- 3- De Hoog GS, Guarro J., Gené J. and Figueras M. J. (2019) Atlas of clinical fungi. Version 4.1 .

-
- 4- Guarro J. (2012) Taxonomía y biología de los hongos causantes de infección en humanos. *Enf Infecc y Microbiol Clin* 30:33-39.
 - 5- Hospenthal DR, Rinaldi MG. (2008). *Diagnosis and treatment of human mycoses. Humana. Press. Totowa, New Jersey.*
 - 6- Lacaz,C.S.; Porto,E. & Martins,J. Paracoccidioidomycose. p.248-261. In. *Micología Médica*,(1991). 8th ed Sarvier editora, Sao Paulo Brazil
 - 7- Marcus M. Teixeira, Raquel C. Theodoro, Gustavo Nino-Vega, Eduardo Bagagli, and Maria S. S. Felipe. Paracoccidioides Species Complex: Ecology, Phylogeny, Sexual Reproduction, and Virulence. *PLoS Pathog.* 2014 Oct; 10(10): e1004397.
 - 8- Marques,S.; Robles,A.; Tortorano,A.; Tuculet,M.; Negroni,R. & Mendes,R. Mycoses associated with AIDS in the Third World. (2000). *Med. Mycol.* 38. Supplement I 269-279
 - 9- Salina,M.; Shikanai-Yassuda,M.; Mendes-Giannini,M. Detection of circulating *Paracoccidioides brasiliensis* patients before and during treatment. (1998). *J. Clin. Microbiol.* 36:1723-1728
 - 10- Verweij,P.; Figueroa,J.; Van Burik,J.; Holdom,M.; Dei-Cas,E.; Gomez,B. & Mendes-Giannini,M. Clinical applications of non-culture based methods for the diagnosis and management of opportunistic and endemic mycoses. (2000). *Med. Mycol.* 38. Supplement 1,161-171