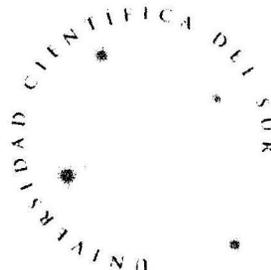


FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y VETERINARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

U N I V E R S I D A D  
**CIENTÍFICA**  
DEL SUR



**“PRESENCIA DE *Histoplasma capsulatum* EN HECES DE PALOMAS  
MENSAJERAS Y DE CASTILLA DE LA CIUDAD DE LIMA, PERÚ”**

Tesis para optar el título profesional de:

**Médico Veterinario Zootecnista**

**YURIE MASAKO ARIAS GUERRERO**

**BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**LIMA, PERÚ**

**2016**

I.	RESUMEN .....	6
II.	ABSTRACT .....	7
III.	INTRODUCCIÓN .....	8
IV.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	10
4.1	ANTECEDENTES HISTÓRICOS .....	10
4.2	CARACTERÍSTICAS GENERALES .....	11
4.3	PALOMAS MENSAJERAS .....	11
	<b>3.3.1 Origen e historia</b> .....	12
	<b>3.3.2 Manejo productivo</b> .....	13
4.4	PALOMAS DE CASTILLA .....	13
4.5	INTERFASE PALOMA – HUMANO .....	14
3.5.1	Enfermedades .....	15
	<b>3.5.1.1 Riesgos sanitarios de importancia en salud pública</b> .....	15
	<b>3.5.1.2 Riesgos sanitarios en la producción aviar</b> .....	16
4.6	HISTOPLASMOSIS .....	17
3.6.1	Antecedentes .....	17
3.6.2	Etiología .....	20
3.6.3	Taxonomía .....	22
3.6.4	Biología .....	23
3.6.5	Genética .....	23
3.6.6	Dimorfismo .....	24
3.6.7	Patogenie .....	25
	<b>3.6.7.1 Ubicación intracelular</b> .....	27
	<b>3.6.7.2 Metabolismo del hongo (adquisición de hierro)</b> .....	28
3.6.8	Epidemiología .....	29
	<b>3.6.8.1 Distribución geográfica</b> .....	30
	<b>3.6.8.2 Hábitat y fuente de infección</b> .....	30
	<b>3.6.8.3 Vía de infección</b> .....	31
	<b>3.6.8.4 Periodo de incubación</b> .....	31
	<b>3.6.8.5 Edad y sexo</b> .....	31
	<b>3.6.8.6 Ocupación</b> .....	31
	<b>3.6.8.7 Factores predisponentes</b> .....	32



3.6.9 Fuente de infección y vías de transmisión.....	33
3.6.10 Manifestaciones clínicas.....	33
<b>3.6.10.1 Histoplasmosis primaria.....</b>	<b>33</b>
<b>3.6.10.2 Histoplasmosis secundaria o diseminada.....</b>	<b>35</b>
<b>3.6.10.3 Histoplasmosis mediada inmunológicamente.....</b>	<b>36</b>
3.6.11 Histoplasmosis en pacientes con VIH.....	36
3.6.12 Histoplasmosis en animales.....	37
3.6.13 Diagnóstico.....	37
<b>3.6.13.1 Examen en fresco y diferentes coloraciones.....</b>	<b>37</b>
<b>3.6.13.2 Cultivo microbiológico.....</b>	<b>38</b>
<b>3.6.13.3 Hemocultivo por lisis centrifugación.....</b>	<b>38</b>
<b>3.6.13.4 Biopsia.....</b>	<b>38</b>
<b>3.6.13.5 Fijación de complemento e inmunodifusión en agar gel.....</b>	<b>38</b>
<b>3.6.13.6 ELISA directa e indirecta.....</b>	<b>39</b>
<b>3.6.13.7 Antígeno urinario.....</b>	<b>39</b>
<b>3.6.13.8 Prueba cutánea de la histoplasmina.....</b>	<b>39</b>
<b>3.6.13.9 Pruebas moleculares.....</b>	<b>39</b>
<b>3.6.13.10 Rayos X.....</b>	<b>39</b>
3.6.14 Tratamiento.....	40
<b>V. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>42</b>
4.1 Lugar de estudio.....	42
4.2 Población y muestra.....	42
4.3 Toma y remisión de muestras.....	43
4.4 Procesamiento de muestras.....	43
4.5 Identificación.....	44
4.6 Análisis de datos.....	44
<b>VI. RESULTADOS.....</b>	<b>45</b>
<b>VII. DISCUSIÓN.....</b>	<b>48</b>
<b>VIII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>53</b>
<b>IX. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>54</b>
<b>X. ANEXOS.....</b>	<b>60</b>

A mi mamá Nancy Guerrero, por su paciencia y sacrificio durante estos 6 años.

A mis hermanos, Sebastia y Jarumi, por su constante apoyo moral.

A mi tía Ibis Guerrero, porque me vio crecer como persona durante este tiempo.

A mi mejor amiga, Alejandra Visbal, por su confianza y cariño desde el primer día que nos conocimos.

## AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis, Siever Morales, por su apoyo incondicional y porque además de ser mi director y mi profesor, se convirtió en un gran amigo y confidente.

A los profesores de la facultad, por sus enseñanzas y experiencias compartidas, me permitieron crecer y desarrollarme como profesional.

A mis amigos de la universidad, por el cariño y los momentos compartidos, siempre formarán parte de una etapa muy importante en mi vida.

A mis tíos y mis primos, por la comprensión y el constante apoyo en todo lo que pudieron.

## I. RESUMEN

El hongo *Histoplasma capsulatum* es el agente causal de la histoplasmosis, enfermedad de importancia en salud pública. El objetivo del presente estudio es determinar la presencia del hongo *Histoplasma capsulatum* en las heces de palomas domésticas (*Columba livia*) de la ciudad de Lima, Perú. Se recolectaron muestras de excretas de palomas castilla y palomas mensajeras de la ciudad de Lima. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de microbiología de la Universidad Científica del Sur, fueron incubadas a 37°C y a temperatura ambiente durante 2 a 4 semanas aproximadamente, para finalmente ser identificadas por características macroscópicas y microscópicas. De las 245 muestras de heces secas de palomas mensajeras y de Castilla, se obtuvo 0.41% (1/245) de muestras positivas a *Histoplasma capsulatum*. El programa de simulación estocástica beta-pert (@Risk) determinó una prevalencia mínima de 0.369% y máxima de 0.451%. Por lo tanto, su presencia representa un riesgo de gran importancia para la salud pública, principalmente en pacientes inmunocomprometidos.

## II. ABSTRACT

The fungus *Histoplasma capsulatum* is the causative agent of histoplasmosis, disease of public health importance. The aim of this study is to determine the presence of the fungus *Histoplasma capsulatum* in the feces of domestic pigeons (*Columba livia*) in the city of Lima, Peru. Pigeon excreta samples in the city of Lima were collected. The samples were processed in the laboratory of microbiology at the Universidad Científica del Sur, were incubated at 37 ° C and at room temperature for 2 to 4 weeks or so, to finally be identified by macroscopic and microscopic characteristics. Of the 245 samples of dried feces of pigeons, 0.41% (1/245) of samples positive for *Histoplasma capsulatum* was obtained. The stochastic simulation program beta-pert (@ Risk) determined a minimum prevalence of 0.369% and a maximum of 0.451%. Therefore, their presence represents a major risk to public health, especially in immunocompromised patients.

### III. INTRODUCCIÓN

La histoplasmosis es una enfermedad respiratoria causada por el hongo *Histoplasma capsulatum*. El hongo fue descrito por primera vez por el doctor Samuel T. Darling, y en honor a eso, la enfermedad es conocida como la “Enfermedad de Darling”, aunque también tiene diferentes denominaciones como la enfermedad del viajero, enfermedad de las cuevas, histoplasmosis americana, enfermedad del valle de Ohio y la fiebre de Tingo María. La presencia de este hongo se relaciona a las excretas secas de aves y murciélagos, debido a que constituye el sustrato necesario para su desarrollo.

El hongo *Histoplasma capsulatum* tiene como característica principal su dimorfismo y como todo hongo, está en el ambiente de manera saprófita, pero en el suelo se le encuentra en su fase filamentosa. Ingresa al organismo al esporular vía tracto respiratorio, y para poder desarrollar la sintomatología clínica, es necesario que se enfrente a un organismo inmunocomprometido. Sin embargo, uno de los mayores problemas desde el punto de vista clínico, es que puede persistir en su fase de levadura durante años dentro del organismo. Entonces, la capacidad de adaptarse a diferentes ambientes, en lo que respecta a variaciones de pH y temperaturas, lo hace un hongo de gran importancia en temas de sanidad, ya sea en el ambiente externo en sí, como dentro del organismo enfrentándose al sistema inmune.

La histoplasmosis es una de las infecciones micóticas más comunes que afecta a los humanos, predomina en climas tropicales y subtropicales, sobretodo en el continente americano y de ahí el nombre “histoplasmosis americana”. Sin embargo, también hay reportes de casos esporádicos en algunos países de

Europa, Asia y África. En Estados Unidos, el hongo es epidémico en la zona del valle de Ohio y del río Mississippi. A pesar de que la enfermedad ha sido reportada principalmente en áreas rurales, por las granjas de aves y cuevas, existen también ciertos brotes de habitantes urbanos, particularmente obreros o personas que trabajan en demoliciones y limpiezas. Tanto las personas como los animales, actúan como hospedadores accidentales y no transmiten la enfermedad aunque el guano de las aves y los quirópteros contribuyen al desarrollo del agente etiológico actuando así, como agentes pasivos de la epidemiología del hongo.

Es una enfermedad bastante común en pacientes inmunocomprometidos porque conlleva a diferentes tipos de complicaciones, aunque también ha sido descrita en personas que han visitado zonas endémicas con suelos contaminados con excretas de aves o murciélagos. Es de importancia en salud pública a nivel mundial debido a que es considerada como la homóloga a la infección bacteriana de la tuberculosis debido a la forma en que se desarrolla la enfermedad.

En Perú, es conocida como la fiebre de Tingo María en relación a un brote que hubo aproximadamente por los años 40' cuando algunas personas que visitaban la "Cueva de las Lechuzas" comenzaron a presentar cuadros clínicos similares al de la tuberculosis pero resultando negativo a la prueba dérmica de la tuberculina. Entonces tras diversos estudios se encontró relación entre el cuadro clínico de la fiebre de Tingo María, la visita a la cueva y el posible contacto con partículas inhaladas de suelo contaminado con las excretas de las aves.

Actualmente, esta enfermedad ha adquirido gran importancia a nivel social por muchas razones: primero, porque es una enfermedad endémica en diversas zonas del continente americano; segundo, afecta principalmente a personas con el sistema inmune comprometido y en este aspecto cabe recalcar a las personas afectadas con el VIH, incluso algunos usan a la histoplasmosis como marcadora del SIDA; tercero, en algunos casos ha sido relacionada con ciertas actividades laborales por ser una constante en la presentación de los casos, por lo que algunos autores también la consideran como una enfermedad de tipo ocupacional; cuarto, cada vez incrementan más los casos a nivel mundial por estar relacionada al turismo y a las migraciones; y finalmente quinto, porque afecta a diversas especies de animales.

## IV. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Las palomas fueron originalmente encontradas por primera vez en países cercanos al Mediterráneo, en la costa de Europa, el norte de África y el oeste de Asia. Luego, introducidas a Norteamérica, Centroamérica y América del Sur en el siglo XVI. Actualmente, tienen una distribución mundial (Ferman *et al.*, 2010). Fueron domesticadas hace aproximadamente 5,000 años convirtiéndolas en las primeras especies de aves manejadas por el hombre. Inicialmente fueron domesticadas con propósitos religiosos y gastronómicos, pero al realizar diversos cruces entre ellas, se produjeron diversas variantes que después tuvieron otros fines, por ejemplo, hace aproximadamente 3,000 años, las palomas fueron criadas también para entregar mensajes, para participar en competencias (exposiciones con razas ornamentales, habilidades acrobáticas), y para experimentación (animales de laboratorio). Entonces, la base para seleccionarlas dependió de las variantes genéticas de los cruces obteniendo diversos tamaños, formas, colores, comportamiento, psicología, entre otras (Johnston, 1998); hoy se conocen alrededor de 200 razas de palomas.

Después de la segunda guerra mundial, la población de palomas incrementó exponencialmente en las ciudades por la abundancia de alimento que empezaron a darle las personas, y por su participación en la guerra al entregar mensajes a los soldados, se crearon políticas de estado para protegerlas de cualquier daño que puedan recibir por estar al servicio de la nación (Blechman,

2006). Este incremento de la población de palomas conllevó a diversos problemas por la cantidad de enfermedades y parásitos que podían transmitir a otras especies como humanos y animales. Sus heces dañan edificaciones y estatuas que son consideradas obras de arte, e incluso la vegetación (Haag-Wackernagel, 1995).

## 4.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES

Las palomas domésticas (*Columba livia domestica*) provienen de su ancestro la paloma bravía (*Columba livia*). La paloma adulta mide entre 34 y 38 cm y pesa entre 340 y 480 g. El color de su plumaje comúnmente es gris en la cabeza, las alas y la cola, y en el cuello presenta colores metálicos entre verde y violeta (Toro, 2000). También, se pueden observar colores como negro, blanco, manchados y variaciones de diversos colores.

Para desplazarse en el suelo realizan pasos cortos y frecuentes, y en ocasiones realizan saltos cortos y rápidos. Son buenas voladoras y planean con sus alas en posición de "V". De acuerdo a sus hábitos alimenticios pueden ser clasificadas como granívoras y frugívoras (Toro, 2000), actualmente suelen completar su dieta con lo que reciben del hombre.

En el cortejo, el macho infla el cuello de tal forma que llama la atención de la hembra. Cuando las parejas se vuelven permanentes, ponen dos huevos color blanco en días consecutivos. La incubación por parte de la madre dura entre 17 y 19 días. Los nidos son hechos con ramas, plumas, pasto y restos que puedan encontrar de fácil transporte en sus picos, como algunos restos plásticos y pedazos de madera. Cuando nacen las crías, son alimentados por ambos padres. Al inicio, la alimentación se basa en la "leche del buche", la cual es una masa formada por epitelio del tubo digestivo del buche, éste es rico en materia grasa (30%), proteínas (15%) y lecitina (5%). Los pichones permanecen en el nido durante 4 a 6 semanas aproximadamente (Harlin, 1994).

Son aves prácticamente longevas, ya que viven entre 15 y 20 años, lo que se le puede sumar la ausencia de depredadores naturales en centros urbanos. Además, las parejas, al ser monógamas, pueden poner hasta 12 pichones por año, su buena adaptación a la vida urbana y la capacidad de anidar en casi cualquier lugar, han permitido que la población se mantenga (Toro, 2000).

## 4.3 PALOMAS MENSAJERAS

Como se mencionó anteriormente, existen muchas variedades de palomas. Las palomas mensajeras, también pertenecen a la familia *Columbidae* y han sido criadas por su velocidad y su alto instinto para regresar a su nido (Castelló, 2013).

Los primeros indicios de la actividad de las palomas mensajeras con el hombre se remontan desde la época del arca, ya que la biblia da a conocer cómo la paloma ayudó a Noé a encontrar tierra después del diluvio. Asimismo, fue el pueblo hebreo quienes sacrificaban palomas a diario como ley en el templo de Jerusalén, y probablemente este pueblo haya sido uno de los primeros en utilizar las palomas para el transporte de mensajes, porque según el libro de Josué (capítulos XX y XXXIV) los samaritanos se sirvieron de ellas.

Según Darwin, el uso de las palomas domésticas empieza en la quinta dinastía egipcia, cuando el faraón las usaba para comunicarse con todas las ciudades del imperio, esto debido a que encontraron pinturas de los hipogeos de Medinet-Abou donde representaban el advenimiento de Ramsés III mediante la liberación de palomas.

Los marinos egipcios, de Chipre y Candía, antes de aproximarse a tierra, liberaban palomas para anunciar a sus familias que estaban llegando. Por otro lado, Grecia fue uno de los países que más estima les dio a las palomas, ya que para los poetas, la paloma representaba la dulzura y fidelidad, a pesar de que solo tenían a la paloma salvaje torcaz, según registros descritos por Aristóteles y Homero en sus libros. Cuando cruzan la paloma salvaje torcaz con la paloma blanca importada de Asia, resulta la paloma doméstica europea. Los griegos, al observar el comportamiento de apego que tenía las palomas al lugar de nacimiento, no dudaron en utilizarla para la transmisión de mensajes. Cuando los romanos conquistan Grecia, se quedan con la costumbre de criar a las palomas para la entrega de mensajes, entonces cuando un gladiador ganaba un combate liberaba una paloma con cintas de diferentes colores como símbolo de victoria. Tanto estimaron los romanos a estas aves, que llegaron a pagar altas sumas de dinero por ellas (Castillo, 1832)

En el imperio de Nur Eddin (1146 – 1173), se estableció la red de palomares, cuya sede central estaba en El Cairo, los egipcios usaron durante mucho tiempo este sistema de comunicaciones. Hasta ahora, a orillas del río Nilo, se puede ver en los techos de las casas, palomares. Además, de algunos datos que facilitan la participación de las palomas en las cruzadas para el envío de correos.

En la Edad Media, criar palomas era símbolo de señorío y dominio, por lo que los señores feudales tenían construcciones en sus propiedades que se denominaban *columbiers á pied*. En la Edad Moderna, los holandeses introdujeron este sistema de comunicaciones, en los sitios de Harlem y Leyden por parte del ejército, teniendo gran importancia su participación en las Guerras de Flandes (1572 – 1574), ya que un aviso del príncipe de Orange, llevado por una paloma, anunció la derrota frente a los españoles, información encontrada

En Inglaterra, también se introdujo el sistema de las mensajeras en el reinado de Guillermo Enrique de Nassau (1700 – 1702), los que más se servían de este tipo de comunicaciones eran los comerciantes. Sistema que se extendió hasta el norte de Francia y Bélgica entre los comerciantes. Asimismo, a principios de 1800, una paloma mensajera comunica el fin de la batalla de Waterloo a la casa Rotschild de Londres (Barbero, 2006)

Tras la aparición del telégrafo, el sistema de las mensajeras se vino abajo. Sin embargo, los belgas empezaron a criar a las palomas, ya no con fines de envío de mensajes, sino como un pasatiempo, llegando a convertirlo en un deporte, lo que fue denominado como colombofilia (Castelló, 2013).

### **3.3.2 Manejo productivo**

Las palomas mensajeras tienden a mantenerse en el lugar de anidación, por lo que los palomares deben ser los adecuados para su crianza. Por lo tanto, el palomar debe estar en una zona despejada, sobre todo para el lado de la salida de éste. Además, debe estar ubicado de tal forma que el sol penetre para disminuir la carga patógena y evitar enfermedades entre los habitantes. Se recomienda que la densidad debe ser de una pareja de palomas por metro cúbico de espacio, con ventanas que permitan una buena ventilación. La altura no debe ser mayor a 2 metros y siempre con material de madera en buenas condiciones para evitar que en las ranuras habiten insectos, parásitos o colonias de bacterias y hongos.

La limpieza del palomar es diaria, con rasquetas para remover las excretas que quedan adheridas al suelo, con el fin de evitar cualquier tipo de contaminación, ya que cuando la persona ingresa al palomar, al pisar las heces puede llevarlas consigo. También se recomienda, sobre todo en zonas secas, aplicar una capa de arena al piso y a los nidales para poder remover con facilidad las excretas. Además, tras la limpieza se recomienda desinfectar el área con creso (Castelló, 2013).

### **4.4 PALOMAS DE CASTILLA**

La paloma de Castilla llega a los 30 cm de altura y pesa cerca de 300 g. El color de su plumaje es variable y es común encontrarlas en zonas urbanas (Skutch, 1989). El hábitat natural de las palomas domésticas es en grietas y hendiduras entre rocas cerca a acantilados; sin embargo, estas aves tienen una gran capacidad para adaptarse a una gran variedad de hábitats, especialmente en áreas cerca a humanos, por ejemplo puentes con vigas de hierro, edificaciones de piedra y columnas altas de cemento, pero con mayor frecuencia en edificaciones antiguas. Un estudio realizado en Milán, Italia, encontraron una relación positiva entre la densidad de palomas incrementada en el centro de la ciudad que en los alrededores, debido a que en el centro de

En la ciudad las edificaciones son antiguas y por el diseño tienen más agujeros donde pueden anidar, mientras que alrededor de la ciudad, las construcciones al ser más modernas, son más iluminadas, con más ventanas y vidrios que reemplazan muchas veces paredes de cemento (Sacchi *et al.*, 2002). También, es común encontrarlas en parques, jardines, granjas, campos de agricultura (Ali *et al.*, 2013)

El incremento de la población de las palomas a nivel mundial en muchas ciudades se debe a la gran variedad de alimento, mayormente porque son las personas las que alimentan las palomas directamente, por comida que se cae y es aprovechada por ellas, o por el alimento que puedan obtener ellas. En realidad, es la fuente de alimento la que determina el incremento, disminución o mantenimiento de la población (Ali *et al.*, 2013). Entonces, mientras tengan acceso a su alimento, no es necesario que se muevan grandes distancias y además se pueden reproducir casi todo el año incubando hasta 2 huevos por temporada de reproducción (Ramírez *et al.*, 2008).

#### **4.5 INTERFASE PALOMA – HUMANO**

Actualmente, el incremento de las poblaciones de palomas domésticas en sitios públicos como plazas y parques es notoria, y asimismo es una especie común en el área metropolitana de las ciudades, por lo que de cierta forma conlleva a que haya mayor contacto e interacción entre las personas y éstas (Ramírez *et al.*, 2008). La población de palomas puede generar ciertos problemas en los humanos cuando las heces se acumulan en las edificaciones, caminos y carros, donde hay mayor acúmulo de excretas, es en lugares de anidación y en dormitorios, en estos sitios donde pueden desarrollarse patógenos como hongos, bacterias y parásitos de importancia en salud pública (Ali *et al.*, 2013). Un estudio en el 2008 en Costa Rica, realizaron una entrevista con el fin de saber si las personas conocían los riesgos que conlleva interactuar con las palomas domésticas, el 65.6% consideraban que era importante la presencia de estas aves, mientras que algunas las rechazaban por los daños que causan a las infraestructuras, un 66% creen que pueden transferirles enfermedades al estar en contacto directo (Ramírez *et al.*, 2008).

La paloma doméstica puede ser considerada plaga cuando su presencia genera daños en la infraestructura, o ser considerada especie zoonótica cuando actúa como agente vector de enfermedades (Ramírez *et al.*, 2008). El manejo de estas aves es un serio problema para los municipios, ya que los costos de limpieza y desinfección de los sitios públicos pueden ser altos, por ejemplo limpiar la plaza Trafalgar en Londres tiene un costo que supera los 95,000 euros (Harris, 1996).

Dentro de la ciudad de Lima, las diferentes municipalidades distritales están dándole mayor importancia a la situación de la paloma doméstica. Existen

diferentes ordenanzas que prohíben la alimentación de esta especie, por ejemplo, la municipalidad de San Borja tiene la Ordenanza N° 458 – MSB: “Ordenanza que protege la salud humana por la proliferación de palomas en el distrito de San Borja”, la cual prohíbe la crianza y alimentación de palomas en todas las áreas públicas y privadas del distrito, con una sanción de 5% UIT; la municipalidad de Jesús María tiene la Ordenanza N° 364 – MDJM: “Ordenanza que protege a la salud humana y de las palomas domésticas”, la cual prohíbe alimentar en zonas públicas a palomas urbanas, es decir, consideran a aves de ornamento y asilvestradas sin identificación o dueño conocido, si no se cumple tiene una sanción de 180.00 nuevos soles, en este caso, no incluyen a las palomas mensajeras; la municipalidad de San Miguel tiene la Ordenanza N° 288 – MDSM: “Ordenanza que protege la salud humana y establece medidas de control en el crecimiento poblacional de las palomas en el distrito de San Miguel”, la cual prohíbe la alimentación y crianza de las palomas en todas las áreas públicas y privadas del distrito, pero en este caso consideran a las palomas de ornato, asilvestradas sin identificación y dueño conocido en el artículo 2, además, en el artículo 3 de la misma ordenanza prohíben criar aves y en el caso que lo estén haciendo, deben erradicarlas y trasladarlas fuera de los límites del distrito, en este caso la multa es de 10% UIT la primera vez y 20% UIT por reincidencia; la municipalidad de Santiago de Surco tiene la Ordenanza N° 334 – MSS: “Régimen de aplicación de sanciones y cuadro de infracciones y sanciones de la municipalidad de Santiago de Surco”, la cual tiene diferentes sanciones en distintas áreas, entre las cuales está el área de sanidad, donde multan con 25% UIT por alimentar aves silvestres en parques, vía pública y en viviendas.

### **3.5.1 Enfermedades**

Se han registrado cerca de 30 enfermedades de importancia en salud pública, entre las más documentadas están salmonelosis, aspergilosis, estafilococosis, listeriosis, colibacilosis e histoplasmosis. La forma de contagio puede ser por contacto directo con las excretas o por inhalación de éstas cuando están secas y se presentan como polvo (Ramírez *et al.*, 2008). También hay registros que hay enfermedades que afectan a los animales domésticos (Ferman *et al.*, 2010).

#### **3.5.1.1 Riesgos sanitarios de importancia en salud pública**

Hay una gran variedad de patógenos que pueden afectar a las aves de vida libre, donde se incluyen las palomas. Si bien algunos de estos patógenos son específicos de especie, existe un grupo que afecta a otras especies avícolas y al hombre. Entre los agentes más importantes transmitidos por las palomas están las bacterias *Salmonella* y *Clamidia*, y de las levaduras está *Cryptococcus neoformans*. Asimismo, hay parásitos importantes como el *Dermanissus gallinae* que es un ácaro hematófago (Toro, 2000).

La salmonelosis es considerada una de las zoonosis de mayor importancia dentro de las enfermedades bacterianas transmitidas por la paloma doméstica (González *et al.*, 2007). En el año 1987, una nación entera sufrió de un brote de salmonelosis por la cepa *Salmonella typhimurium* O:4-12, infección que fue seguida hasta obtener la fuente, la cual fue barras de chocolate contaminadas con excretas de *Columba livia*, por consiguiente, se tomó como riesgo de adquirir la enfermedad a todas aquellas personas que estaban en contacto directo con las palomas o con sus excretas (Kapperud *et al.*, 1998). Por otro lado, en Barcelona, se realizaron estudios sobre la flora bacteriana intestinal de las palomas por ser fuente de infección de muchas enfermedades en el hombre, por lo que se tomaron 400 muestras cloacales, se obtuvo como resultado 6 positivos, que equivale a 1.5% de la población (Casanovas *et al.*, 1995).

Otra de las bacterias importantes son aquellas de la especie *Chlamidia psittaci*, a pesar de que afecta principalmente a aves del grupo de los psitácidos (loros, guacamayos, etc.), también afecta a las domésticas, siendo los pavos los más susceptibles. En las palomas genera cuadros septicémicos, y en el hombre conlleva a un cuadro respiratorio severo, denominándose a la enfermedad psitacosis (Toro, 2000). El riesgo de psitacosis es mayor en las personas que están en contacto con las aves o sus tejidos, las infecciones ocurren tras una exposición transitoria después de inhalar polvo, plumas o secreciones y excreciones contaminadas (CFSPH, 2009).

Por otro lado, está la levadura *Criptococcus neoformans* la cual encuentra en las excretas de las aves el ambiente propicio para su desarrollo, y aunque dichas excretas estén desecadas y expuestas al sol, este patógeno tiene una gran capacidad para sobrevivir, convirtiéndose en potenciales fuentes de infección (Rosario *et al.*, 2008). Lo mismo ocurre con el hongo *Histoplasma capsulatum*, que encuentra en las heces de las palomas el sustrato necesario para convertirlo en su hábitat adecuado (Ajello, 1964). Ambos infectan principalmente a personas con el sistema inmune comprometido.

### **3.5.1.2 Riesgos sanitarios en la producción aviar**

Dentro de los patógenos más importantes que albergan las palomas domésticas y pueden afectar a la industria aviar, se encuentra el virus de New Castle y el de Influenza Aviar. Y por su característica de poder diseminar con facilidad el patógeno, es difícil controlar la enfermedad si se presentan casos eventuales de brotes de enfermedad. Asimismo, la presencia de *Salmonella* spp. también es un riesgo sanitario para la producción aviar, porque en sus heces diseminan la bacteria a los gallineros, infectando así a las gallinas y los pollos y por consiguiente, puede afectar a sus derivados. La mejor manera de controlarlas es colocando mallas en los galpones para evitar su paso al interior de las estructuras. Por último, hay ciertos agentes parasitarios específicos

#### 4.6 HISTOPLASMOSIS

La histoplasmosis también es conocida como la enfermedad de Darling, histoplasmosis americana, citomicosis, reticuloendoteliosis, enfermedad de los murciélagos, enfermedad de las cuevas, fiebre de las cavernas y minas, fiebre de Tingo María, enfermedad del valle de Ohio (Sánchez *et al.*, 2010). Es una enfermedad muy frecuente en pacientes inmunodeprimidos porque desarrollan otro tipo de complicaciones como úlceras, cefaleas, fiebre e incluso puede llevarlos a la muerte (Digue *et al.*, 2009), aunque también afecta a personas que visitan zonas endémicas que tienen suelos contaminados con excretas de aves, por eso también se le considera la “Enfermedad del viajero” (Gutiérrez *et al.*, 2014). Puede ser considerada de las enfermedades fúngicas como la homóloga a la infección bacteriana de la tuberculosis, ya que el *Histoplasma capsulatum* y el *Mycobacterium tuberculosis* usan a los macrófagos como células hospedadoras y pueden generar una infección aguda, persistente, o potencialmente diseminada (Woods, 2002).

La enfermedad es causada por el hongo *Histoplasma capsulatum*, en su fase parasitaria como levadura, la fase de levadura es posible obtenerla en el laboratorio cultivando el hongo en un agar enriquecido e incubándolo a 37°C (Acha, 2001). Dentro de las especies de *Histoplasma* están las siguientes (Sánchez *et al.*, 2010): *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, que causa la histoplasmosis americana; *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*, causa la histoplasmosis africana; e *Histoplasma capsulatum* var. *farsiminosum*, que causa la linfangitis epizoótica de los equinos.

De estas, las que afectan al hombre son la var. *capsulatum* y la var. *duboisii*, si bien son muy parecidas en su fase de micelio, pero dentro de los tejidos infectados varían en tamaño, ya que la var. *duboisii* es más grande (7 – 15 micrones) que la var. *capsulatum* (2 – 5 micrones) (Acha, 2001, Sánchez *et al.*, 2010).

##### 3.6.1 Antecedentes

Aunque diferentes publicaciones sugieren la existencia del hongo *Histoplasma capsulatum* desde la antigüedad, en realidad, se puede afirmar que quien observó y describió por primera vez al hongo, fue el doctor Samuel T. Darling en el año 1906 (BMJ, 1945; Emmons, 1957; Woods, 2002; Fernández *et al.*, 2011). Hace más de 100 años, en el hospital Ancón del Canal de Panamá, Darling realizaba estudios de ciertos casos clínicos que llamaron su atención, principalmente por la frecuencia con que se presentaban la esplenomegalia y

las lesiones cutáneas, los cuales le hicieron pensar que estaba frente a un leishmaniasis, debido a que esta última también ocurría con cierta frecuencia en esta zona de Latinoamérica (Emmons, 1957). Sin embargo, cuando examinó los frotis de pulmón, bazo y médula ósea, detectó la presencia de una gran cantidad de microorganismos ovoides, los que describió como “un parásito de forma ovoide a redonda, rodeado de un halo que no se colorea, con un grosor de aproximadamente 1/6 del diámetro del parásito” y con un tamaño de 1 – 4  $\mu$  (Fernández *et al.*, 2011). Lo denominó parásito por el parecido que tenía con el protozoo leishmania, incluso por la típica presencia del halo, lo nombró “*Histoplasma capsulata*” (Emmons, 1957), denominación que corregiría unos años más tarde en otra publicación como *Histoplasma capsulatum*. A pesar de que ahora se sabe que no es un protozoo y que no tienen ningún tipo de cápsula, el nombre se mantiene.

El primer caso que se presentó en el hospital y que captó la atención de Darling fue el de un poblador de la Isla de Martinica que presentó lesiones en el pulmón como el de una tuberculosis de tipo miliar. Después de 2 años y medio, se volvió a presentar otro poblador de la Isla de Martinica, con signos clínicos similares y que tenía poco tiempo en el Canal de Panamá, 2 años más tarde, desde la presentación del segundo caso, se presentó un paciente chino, que vivió en el Canal de Panamá durante 15 años, como los casos anteriores, con sintomatología clínica similar; frente a esta situación, concluyó que esta enfermedad era diferente y poco frecuente, porque encontró solo 3 casos de 33,000 pacientes del hospital. En una publicación hecha en 1909, Darling describe a la histoplasmosis como una enfermedad infecciosa severa, la cual se caracteriza por la presencia de esplenomegalia, emaciación, fiebre, leucopenia, anemia e invasión del endotelio celular por el agente causal. Asimismo, puntualizó lo siguiente: “La vía de infección y la manera en cómo entra el microorganismo al cuerpo es desconocida” (Emmons, 1957).

No se reportaron más casos de histoplasmosis hasta 20 años después en Minnesota, con el caso fatal de un hondureño que trabajaba en plantaciones de plátanos (Emmons, 1957). Asimismo en 1934, muy aparte de las investigaciones realizadas por Emmons, la universidad de Georgetown publicó el caso clínico de un hombre que presentó durante 15 años erupciones en la piel, las cuales en cierto punto, impidieron que éste continuara con su vida normal. Tras diversos análisis realizados y diagnósticos presuntivos erróneos, el hombre muere. A la necropsia, la histopatología de diversos órganos (bazo, hígado, pulmones, piel) mostró la presencia de un microorganismo con apariencia de estar encapsulado. Entonces, debido a las lesiones en la piel y el agrandamiento de los nódulos linfáticos regionales, se procedió a cultivar dicho microorganismo, y por medio de sus características tanto macroscópicas como microscópicas, su taxonomía correspondía al género *Sepedonium* (Hansmann y Schenken, 1934).

En el año 1939, basándose en los primeros reportes hechos por Hansman y Schenken sobre un caso de histoplasmosis diagnosticado en un infante (Silverman *et al.*, 1955), se reportó el caso clínico de una bebe recién nacida que presentó severos problemas respiratorios, agrandamiento abdominal debido a la hepatomegalia, secreciones abundantes nasales, fiebre y tos. En la placa radiográfica, se observó infiltraciones nodulares en los pulmones; debido al progreso de la enfermedad, se le practicó una esplenectomía. A los 8 meses, muere el paciente; y, meses después aún no se tenía el diagnóstico ya que la familia se rehusó a permitir realizar una autopsia. Por lo tanto, se trabajó con el bazo, y al realizar el corte histopatológico, se encontró macrófagos, los cuales en su interior tenían cuerpos que daban la apariencia de estar encapsulados. Finalmente, se concluyó que sería el segundo caso de un infante reportado (Amolsch y Wax, 1939).

El siguiente reporte, fue de un perro en Panamá, en el año 1945, con sintomatología similar y compatible. Sin embargo, el cuarto caso reportado de histoplasmosis en el canal de Panamá, fue en el año 1951, aproximadamente 45 años después de las primeras observaciones hechas por Darling (Draheim, 1951). Por el intervalo existente entre el caso de Draheim y el último caso de Darling, se sospechó que la enfermedad había desaparecido de Panamá, pero esta hipótesis se rechazó tras la aparición del caso canino en 1945. Este último caso, llevó a la conclusión, que la enfermedad era definitivamente endémica en esta zona. Por tal motivo, se realizaron estudios en el suelo, que terminaron por concluir y aceptar dicha hipótesis (Emmons, 1957).

Por otro lado, desde 1945, se presentaron casos de pacientes con sintomatología similar a la tuberculosis y que al ser tratados, la enfermedad no mejoraba (Silverman *et al.*, 1955). Debido a esto, muchos autores correlacionaron las calcificaciones en el pulmón, la reacción negativa a la prueba de la tuberculina y la reacción positiva a la prueba de histoplasmina como un primer paso para el diagnóstico de la histoplasmosis (Lazarus y Ajellus, 1959). Asimismo, Lazarus y Ajellus en el año 1959, confirmaron la prevalencia de histoplasmosis de forma benigna y asintomática en el valle de los ríos Mississippi y Ohio, Estados Unidos. Desde ese momento, la histoplasmosis fue reconocida como una enfermedad considerablemente importante y que debía tenerse en cuenta en los hospitales, principalmente de zonas endémicas (Silverman *et al.*, 1955).

Como se mencionó anteriormente, los casos de histoplasmosis que se presentaron hicieron creer a los médicos que se trataba de una enfermedad causada por un parásito, un protozoo, y que cursaba con un cuadro clínico severo, mortal y que se presentaba en zonas tropicales. Sin embargo, tras décadas más tarde, y con diferentes publicaciones realizadas de casos reportados en diferentes zonas geográficas, es decir, que no necesariamente han sido de climas tropicales; y que, adicionalmente, el agente causal no era

un protozoo encapsulado, sino era un hongo dimórfico (Emmons 1957; Acha 2001; Woods, 2002; Fernández *et al.*, 2011).

Actualmente, la histoplasmosis es conocida a nivel mundial, inclusive existen áreas que son endémicamente conocidas por tener el hongo en el ambiente, como es el trópico de los Estados Unidos donde hay mayor cantidad de estudios sobre la enfermedad. Sin embargo, la enfermedad puede desarrollarse en cualquier parte del mundo, el hongo que es ubicuo como cualquier hongo, solo tiene que encontrar el sustrato adecuado para así poder desarrollarse; y también, encontrar un sistema inmune que permita su rápida diseminación en el organismo para lograr la infección (Emmons, 1957).

### 3.6.2 Etiología

El *Histoplasma capsulatum* es un hongo que habita normalmente en el ambiente, pero principalmente se ha reportado su presencia en suelos con excretas de aves y de murciélagos. En los Estados Unidos, el *Histoplasma capsulatum* mayormente se encuentra en estados de la zona central y del este, sobre todo en áreas alrededor de los valles de Ohio y Mississipi. Sin embargo, también se han hecho reportes de éste, en partes de América Central, Sudamérica, África, Asia y Australia (Ajello 1964; Acha 2001; CDC, 2015).

La presencia en las heces de murciélagos y de aves, se debe al alto contenido de nitrógeno y fosfatos generándose así, un nicho ecológico enriquecido y adecuado para que se desarrolle el hongo (Acha, 2001; Woods, 2002; Fernández *et al.*, 2011). El *Histoplasma capsulatum* crece naturalmente como una forma filamentosa, y al ser incubada a temperaturas entre 28°C y 37°C durante 8 semanas, se observa su característica dimórfica (Cermeño *et al.*, 2006). Para desarrollar adecuadamente su fase filamentosa, requiere de pH entre 5 y 10, y oxígeno, de manera que se puede afirmar que desarrolla con preferencia en regiones tropicales y subtropicales con temperatura ambiental que oscile entre 22 y 29 °C (Fernández *et al.*, 2011). Por tal motivo, en los últimos años se ha llegado a la conclusión que crece con facilidad en cuevas, minas, granjas, casas abandonadas o en cualquier lugar donde habiten estos animales, porque presentan condiciones más o menos estables, en lo que respecta a temperatura y humedad, sin estar en contacto directo con radiaciones solares (Cermeño *et al.*, 2006). La amplia distribución del hongo en el medio ambiente nos indica que la conidia, que es la parte infectante y la unidad reproductiva, está lo suficientemente dispersa y tiene además una gran capacidad de germinar y proliferar bajo condiciones normales (Goos, 1964).

En la fase saprófita del hongo, la cual se da a temperatura ambiente, se produce el micelio, las macroconidias y microconidias (parte infectante). Mientras que la forma levaduriforme, se da a 37°C, y ésta es la única forma como se encuentra en los tejidos (Sánchez *et al.*, 2010).

Durante un estudio realizado en el año 1952 por la Universidad de Iowa utilizó un ejemplar denominado “continuous recording particle” durante inicios de la primavera hasta finales de otoño. Este ejemplar, tenía como función, mediante el uso de una cinta adhesiva en su interior, captar las partículas que se encontraban en el medio ambiente, y tras una exhaustiva examinación se encontraron esporas aéreas de hongos, entre las cuales se captaron partículas de *Histoplasma capsulatum*, lo que llevó a concluir que las esporas de este hongo son inhaladas por las personas mientras realizan sus actividades cotidianas (Rooks, 1954).

Algunos ensayos que se han realizado para determinar cuáles son las condiciones necesarias para el crecimiento y desarrollo del hongo, se ha controlado temperatura y humedad en cámaras cerradas (Menges *et al.*, 1952). Goos, tras realizar diversas pruebas concluyó que bajo condiciones óptimas el hongo rara vez crece en menos de 24 horas y que el periodo de incubación como mínimo debe ser de 48 horas. Cuando las muestras son recogidas del suelo, cultivarlas también permite que crezcan colonias que requieren menor tiempo de incubación inhibiendo así el crecimiento de *Histoplasma capsulatum*. Por consiguiente, las condiciones adecuadas según este autor para el crecimiento del hongo debe tener una temperatura cercana a 30 °C, el pH dentro de un rango de 6.5 – 8.0, y una humedad relativa cerca al 100% (Goos, 1964). Por otro lado, Menges *et al.* también al poner el hongo bajo condiciones artificiales, confirmó que el crecimiento del hongo solo se da con 100% de humedad relativa. Asimismo, observó que no hubo ningún tipo de crecimiento del hongo en temperaturas entre 5 y 10 °C, y entre 40 y 50°C, es decir, solo observó el desarrollo del hongo con temperaturas entre 20 y 30 °C (Menges *et al.*, 1952). Una vez que ha crecido a 37°C al ser incubado, el hongo presenta característica morfológica piriforme a esférica, con un diámetro entre 3μ a 15μ, y en la superficie presenta numerosas prominencias (BMJ, 1945).

La pared celular del hongo está conformada por 3 componentes principales:  $\alpha$  – 1,3 glucano,  $\beta$  – 1,3 glucano y quitina. El contenido de quitina es abundante y en comparación con otros hongos dimórficos, se puede confirmar que es el que mayor cantidad tiene de este componente. Como ya se mencionó tiene tanto  $\alpha$  – 1,3 glucano como  $\beta$  – 1,3 glucano, sin embargo, la diferencia entre ambos compuestos se debe a la fase en que se encuentre el hongo. Esto quiere decir, que si el hongo se encuentra en fase levaduriforme, veremos que en su membrana plasmática hay mayor cantidad de  $\alpha$  – 1,3 glucano, asociándose éste como un factor de virulencia de la cepa; mientras que en fase micelial, tiene mayor cantidad de  $\beta$  – 1,3 glucano. Además de estos 3 compuestos, se ha considerado otro componente como parte de la membrana plasmática, pero que se encuentra en menor cantidad y en la parte más externa: el galactomanano. Este último es considerado como el principal polisacárido antigénico, asimismo, otros polisacáridos generan reacciones cruzadas al

Entre los tipos de *Histoplasma capsulatum*, se han descrito 2 colonias, las cuales han sido diferenciables en su etapa micelial por su micromorfología, pero es imposible distinguirlas en su etapa levaduriforme. La colonia tipo A, es aquella colonia albina, algodonosa, de hifas grandes y anchas que llevan consigo macroconidias en poca cantidad, y microconidias en mayor porcentaje. La colonia tipo B, es marrón (Brown por las siglas en inglés), su micelio es más escaso que la colonia A y su hifa es marrón y estrecha con abundantes microconidias (Tewari y Berkhout, 1972). Durante una investigación, en la cual se inoculó formas levaduriformes de las colonias tipo A y tipo B, en 12 conejos, no se encontraron diferencias significativas desde el punto de vista de patogenicidad. En ambos casos, se evaluó de acuerdo a la aparición de signos clínicos y el tiempo en que aparecían (Daniels *et al.*, 1968). Por otro lado, se realizó la misma investigación, pero esta vez la inoculación se hizo en ratones. En este caso, sí se encontraron diferencias patogénicas, resultando que la colonia tipo B era menos patógena que la colonia tipo A. Igualmente, se evaluó de acuerdo a la aparición de signos clínicos y el tiempo que demoraban en aparecer. Por lo tanto, las diferencias se deben principalmente al tipo de hospedador, ya que los ratones son considerados más susceptibles que los conejos para los experimentos realizados para generar la enfermedad (Tewari y Berkhout, 1972).

Además de los tipos de *Histoplasma capsulatum* que se han podido identificar, también se han clasificado 3 variedades del hongo. La principal es *Histoplasma capsulatum* var. *Capsulatum*, la cual al encontrarse en el continente americano por primera vez, y porque la mayoría de casos de histoplasmosis corresponden a este continente, se denominó a la enfermedad que causaba esta variedad como histoplasmosis americana, pero por términos prácticos, ahora solo se le denomina histoplasmosis. Las otras 2 variedades son la *Histoplasmosis capsulatum* var. *Duboisii*, agente etiológico de la histoplasmosis africana; y la *Histoplasmosis capsulatum* var. *Farcimosum* causante de la linfangitis epizoótica de los equinos (Fernández *et al.*, 2011).

### 3.6.3 Taxonomía

Este hongo presenta una fase teleomorfa y una fase anamorfa. La primera, es un ascomiceto filamentoso y fue descrito por primera vez en 1972 denominándose *Emmonsia capsulata*. Se ubicó en el género *Ajellomyces*, éste posee 3 especies: *Ajellomyces dermatitidis*, *Ajellomyces crescens* y *Ajellomyces capsulatu*. Sus estados anamorfos pertenecen a 3 géneros distintos: *Blastomyces dermatitidis*, *Enmonsia crescens* e *Histoplasma capsulatum* (Fernández *et al.*, 2011). Según Fernández *et al.*, desde el punto

de vista taxonómico el *Histoplasma capsulatum* se clasifica de la siguiente manera:

- Reino: *Eumycota*.
- Subreino: *Dikaryomycota*.
- División: *Ascomycota*.
- Clase: *Euascomyces*.
- Orden: *Onygenales*.
- Familia: *Onygenaceae*.
- Género: *Emmonsia* (estado teleomorfo), *Histoplasma* (estado anamorfo).
- Especie: *capsulata* (estado teleomorfo), *capsulatum* (estado anamorfo).

### 3.6.4 Biología

Se sabe que la presencia del *Histoplasma capsulatum* en el suelo, expresa su fase filamentosa con sus hifas y esporas. Además, ingresa al organismo al esporular vía tracto respiratorio (Acha, 2001), y para desarrollar la sintomatología clínica, es necesario estar frente a un organismo inmunocomprometido. Sin embargo, el mayor problema clínico de este hongo, es que puede persistir en su forma levaduriforme durante años dentro del organismo tras presentarse como una infección aguda inicial pero subclínica. La capacidad de adaptarse a su medio ambiente lo hace un hongo de gran importancia en temas de sanidad, ya sea en del ambiente externo en sí, como dentro del organismo enfrentándose al sistema inmune (Woods, 2002). En el cuadro 1 se describen algunos factores ambientales importantes y cómo responde el hongo frente a ellos (ver anexo Cuadro 1).

### 3.6.5 Genética

El *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* es la variedad que más importancia se ha dado por tener una distribución mundial amplia, ha sido objeto de varios estudios de serotipificación, quimiotipificación y genotipificación. Los aislamientos del hongo que se han realizado en varios estudios han determinado su gran variabilidad genética (ver anexo cuadro 2), entre dichos estudios están las siguientes pruebas: caracterización de isoenzimas, electroforesis en gel de campo pulsado, polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, siglas en inglés), polimorfismo del ADN amplificado al azar (RAPD, siglas en inglés) y la secuenciación de ADN (Fernández *et al.*, 2011). De estas pruebas, la más ampliamente usada es RFLP, ya que ha determinado 3 grandes clases dentro del *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, éstas presentan genotipos diferentes pero su presencia tiene correlación con su distribución geográfica. Organismos RFLP clase 3 predominan en América del Sur y América Central; organismos RFLP clase 2 predominan en América del Norte y los organismos RFLP clase 1 han

sido aislados de los pacientes inmunocomprometidos. Sin embargo, en últimos estudios más precisos, donde combinan secuencias de genes que codifican para 4 proteínas independientes, ha llevado a que este género deba ser subdividido en 8 especies procedentes de 6 regiones geográficas diferentes (Woods, 2002). Entonces, teniendo como base lo anterior, se subdividieron genéticamente grupos aislados o también denominados clases: América del Norte clase I, América del Norte clase II, América Latina grupo A, América Latina grupo B, Australia, Holanda, Eurasia y África. Estos resultados indican la gran diversidad fenotípica y genotípica, por lo que algunos autores denominan al hongo como un “complejo de especies” y que cada clase es una especie integrada por cepas diferentes (Fernández *et al.*, 2011).

El genoma del *Histoplasma capsulatum* mide aproximadamente 25 – 30 Megabases (Mb), con un número de cromosomas de 7; estos datos explican la gran variabilidad genética entre las especies (Woods, 2002). Su contenido de guanina y citosina está entre 45.4% y 49.8% en la fase levaduriforme y en la filamentosa respectivamente (Fernández *et al.*, 2011).

### 3.6.6 Dimorfismo

La característica dimórfica que tienen algunos hongos, es importante desde el punto de vista como factor de virulencia, ya que las cepas que carecen de esta habilidad suelen ser de menor virulencia o ser prácticamente avirulentos (Borges-Wamsley y Wamsley, 2000). La transición de moho a levadura en el *Histoplasma capsulatum* se da principalmente por la temperatura tras la inhalación de esporas por parte del hospedador; también se puede desarrollar en el laboratorio generando condiciones similares a las presentadas en el ambiente (Zeidberg y Ajello, 1954).

Las variaciones de temperatura entre 25°C y 37°C son estímulo suficiente para dicha transición, pero hay ciertas condiciones ambientales, que en algunos casos, pueden anular el efecto de la temperatura (Woods, 2002). Los genes que controlan la transición moho – levadura han sido el blanco de muchas investigaciones, según Borges-Wamsley y Wamsley, plantean que las vías de señalización permiten esta transición han podido estudiarse gracias al organismo *Sacharomyces cerevisiae*. Este estudio llevó a la conclusión que dichas vías de señalización eran controladas por cAMP y la “mitogen-activated protein kinase” (MAPK), por lo que los hongos dimórficos han adaptado estos procesos inmunológicos de cambios morfológicos durante la infección a un organismo. Asimismo, algunas señales del hospedador, que aún no han sido bien definidas, contribuyen a que se desarrolle la infección, debido a que la transición moho-levadura ocurre más rápido en animales infectados y en cultivos con células hospedadoras que en medios de cultivo de laboratorio (*in vitro*) y que aun así están sujetos a cambios de temperatura (Borges-Wamsley

y Wamsley, 2000). Esto hace que la interacción entre el hongo y el hospedador sea necesaria, desde su fase infectiva como moho hasta su fase patógena como levadura, de manera que, dependiendo del estado inmunológico, puede ser controlado por el organismo, o diseminarse libremente vía sanguínea o linfática (Woods, 2002).

La naturaleza de este hongo, de convertirse en su fase levaduriforme para ser patógeno fue demostrada por algunos experimentos realizados por Medoff *et al.* donde usaron 2 cepas virulentas de *Histoplasma capsulatum*, a una de ellas la trataron con el agente p-chloromercuriphenylsulfonate (PCMS). Esta última no se convirtió de su fase micelial a su fase levaduriforme a pesar de que fue cultivada a temperatura de 37°C, y al ser inoculada en un ratón, fue avirulenta (Medoff *et al.*, 1987). Para entender genéticamente este proceso de transición de fase micelial a levaduriforme, se realizó PCR para evidenciar cuáles son los genes que están activos en la fase de moho y aquellos en la fase de levadura, identificándose así los que regulan la actividad morfogenética denominados genes “yeast phase-specific” (yps), es decir, son genes que se expresan en la fase de levadura más no en fase micelial. El más reconocido es el gen yps-3 que codifica una proteína ubicada en la pared celular, pero que aún no se sabe cuál es su función, sin embargo puede ocasionar una reacción inmunogénica en el ser humano. De todas las cepas estudiadas, ninguna expresa el gen yps-3 durante la fase micelial (Keath y Abidi, 1994; Abidi *et al.*, 1998), lo que hace que este gen influya en la fase de transición y sea la responsable de mantener en fase de levadura al hongo dentro del hospedador (Weaver *et al.*, 1996). Asimismo, existen otros genes que tienen la capacidad regular temperaturas para que sobreviva la levadura o el moho en el ambiente, así como aquellos que determinan grados de virulencia de las distintas cepas (Woods, 2002).

### 3.6.7 Patogenie

Una de las características más importantes durante la infección de histoplasmosis, es que el hongo ingresa directamente a las células del hospedador, a pesar de que no es considerado un parásito intracelular obligado. Como la mayoría de los hongos filamentosos que están en el suelo y que se diseminan a través de sus conidias, aprovecha cualquier descuido o problema que presenten las defensas del hospedador, ya sean heridas, quemaduras, tratamientos con corticoterapias y pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana, para poder ingresar (López, 2006). Una vez que el hongo ha ingresado vía oronasal al hospedador, llega a los pulmones, donde su primer enfrentamiento es con los macrófagos residentes, los macrófagos alveolares. Como parte de su naturaleza, el hongo tiene la capacidad de multiplicarse rápidamente como levadura, entre 9 a 11 horas (Bullock y Wright, 1987); gracias a su dimorfismo infecta a individuos inmunocompetentes o inmunocomprometidos y causa enfermedades respiratorias y sistémicas. Puede ocurrir que la conidia entre al macrófago y

dentro de este se convierte en levadura, o puede darse primero la transición ya como levadura ser endocitado por el macrófago (López, 2006). El macrófago como parte de su naturaleza, de inmediato fagocita todo agente extraño que encuentra a su paso. Por consiguiente, las levaduras de *Histoplasma capsulatum*, se multiplican dentro del macrófago alveolar de tal manera, que llegan a destruir al macrófago hospedador, y cuando están liberadas son identificadas por otros macrófagos, reincidiendo en el mismo procedimiento que con el macrófago hospedador anterior hasta que se convierte en una infección (Newman *et al.*, 1990). Pero, al mismo tiempo, el antígeno de la levadura es procesado y es presentado a los linfocitos T mediante el proceso que se denomina inmunidad mediada por células para así poder contener la infección aguda o generando que el agente quede en una fase de infección persistente con baja patogenicidad. La inmunidad mediada por células genera que se produzcan citoquinas Th1 que activan los macrófagos que presentan receptores de complemento CR3 y CR4 para la liberación de citoquinas IL-2 e IL-12 para que más macrófagos sean reclutados, de modo que así se forman los granulomas epitelioides que controlan la infección y llevarlo así a la curación espontánea. Los que participan en la defensa del huésped frente al hongo son las células linfocitos T CD4+, células natural killer (NK), interferon gamma (INF- $\gamma$ ) y las IL-2 e IL-12. Por lo general, cuando falla la inmunidad del huésped, es cuando se genera la diseminación a otros órganos (Sánchez *et al.*, 2010).

El *Histoplasma capsulatum* es fagocitado, previamente opsonizado por anticuerpos y proteínas del complemento, por macrófagos, monocitos y neutrófilos. Sin embargo, el hongo ha demostrado tener la capacidad de tomar rutas alternas para sobrevivir. Se une a los fagocitos mediante 2 integrinas que poseen los mamíferos y por moléculas de la familia del CD18 que están en la superficie de la célula (Bullock y Wright, 1987; Newman *et al.*, 1990). El poder alternar entre las moléculas de superficie de los fagocitos, le da una gran ventaja sobre el hospedador, ya que así evita el estallido oxidativo, que es un proceso normal que se da después de la opsonización y la fagocitosis. Durante un estudio realizado por Brummer y Stevens (1995), para saber la interacción entre el *Histoplasma capsulatum* y los macrófagos alveolares, usaron ratones de la familia *Murinae*. Entonces, bajo condiciones artificiales concluyeron que el hongo se multiplica al 100% en un medio preparado con macrófagos alveolares que solo en un medio de laboratorio. Además, que una vez que se activan los macrófagos alveolares ante la presencia de la levadura, la destruyen a través de un mecanismo dependiente del peróxido de hidrógeno y productos del óxido nítrico sintasa, mientras que solo inhibir el crecimiento y desarrollo del hongo depende de los productos resultantes del óxido nítrico sintasa. Sin embargo, aún no se sabe con exactitud el mecanismo por el cual el hongo puede unirse a las moléculas de superficie, ya que aún no se han identificado cuáles son los ligandos del hongo que son específicos para los receptores de superficie de

una célula hospedadora. Asimismo, se han identificado diversos mecanismos bioquímicos que utiliza el hongo, principalmente mecanismos de acción enzimática, para sobrevivir a situaciones deletéreas, sobre todo las que se generan tras el estallido oxidativo (Woods, 2002).

### 3.6.7.1 Ubicación intracelular

El hongo puede encontrarse en el medio extracelular, pero es más frecuente encontrarlo en las células mononucleares, como son monocitos y macrófagos. Pero, el hongo también se ha encontrado en los neutrófilos y en algunos estudios *in vitro* las células epiteliales se han comportado como hospedadoras, lo que conlleva a concluir que pueden actuar como reservorios alternativos en las infecciones persistentes (López, 2006). Una vez que el hongo ingresa al fagocito, permanece en una vacuola donde se da la fusión del fagosoma con los lisosomas (Newman *et al.*, 1990). Dicha fusión es muy importante, ya que permite que se cambie el ambiente de la partícula o antígeno que se ha encerrado, principalmente el pH. Esto quiere decir que, acidifica el ambiente hasta llegar a pH menor a 4 y en ese punto, se da la liberación del contenido lisosomal, que es básicamente proteasas y otras enzimas hidrolíticas (Newman *et al.*, 1990; Woods, 2002). La fusión fagosoma – lisosoma, varía de acuerdo a la cantidad de *Histoplasma capsulatum* que ingresa a la célula, es decir, cuando hay demasiada cantidad de hongo, dicha fusión puede ser inhibida (Taylor *et al.*, 1989). Aunque el fagocito acidifique el ambiente frente a una invasión de *Histoplasma capsulatum*, no afecta con gran magnitud al hongo, ya que según estudios *in vitro* realizados por Berliner (1973), resalta que el hongo, sea fenotipo A o fenotipo B, crece perfectamente en pH inicial de 5 y puede llegar hasta 12, y en algunos casos pudo desarrollar con pH entre 4 y 5. Sin embargo, a pesar de que no afecta con gran magnitud, como se mencionó anteriormente, sí llega a afectarlo de cierta forma por acción de las hidrolasas que se activan en pH bajo.

Newman *et al.* (1993) demostraron que los neutrófilos tienen potente acción contra las levaduras del hongo mediante un experimento de laboratorio, donde cultivaron las levaduras en un agar con polimorfonucleares de humanos. La capacidad de inhibir el crecimiento y proliferación del hongo se dio a las 2 horas de haber realizado el procedimiento, y gracias a esto se demostró que la mayor acción de inhibición del hongo se da en los gránulos azurófilos, ya que contienen a los lisosomas y éstos a las hidrolasas ácidas. Dentro de los gránulos azurófilos, se ha logrado identificar cuáles son aquellos específicos que actúan contra la levadura de *Histoplasma capsulatum*, como son las defensinas (HNP-1, HANP-2 y HNP-3), catepsina G y la proteína “bactericidal-permeability-increasing” (BPI), éstas 3 son las más potentes, pero también hay las que tienen acción media como las lizosimas y las elastasas (Newman *et al.*, 2000). Durante todo el proceso de replicación intracelular de las levaduras, la

degradación ocurre gracias a la síntesis de proteínas inhibitorias o cuando el paciente es tratado con anfotericina B (Woods 2002). Sin embargo, por parte de la levadura también se da un mecanismo de protección frente a la degradación a la que está expuesta, y aunque no se sabe cuáles son los genes que están involucrados en este procedimiento, se probó que el hongo modula de cierta forma la acidez del pH dentro del fagolisosoma (Eisemberg *et al.*, 1993). Durante un estudio realizado por Newman (2004) el uso de macrófagos de ratones, mostraron cierta exclusión de la bomba ATPasa de la membrana que contenía las levaduras del hongo, por consiguiente se demostró la capacidad del hongo de excluir la bomba ATPasa, así puede impedir que la membrana vacuolar acidifique el ambiente que contiene a las levaduras y evita que se liberen las enzimas hidrolíticas que atacan en el hongo en pH ácido.

### 3.6.7.2 Metabolismo del hongo (adquisición de hierro)

Los mamíferos tienen la capacidad de secuestrar hierro a través de diversos mecanismos como respuesta a la infección de algún patógeno. Algunos estudios realizados *in vitro* con macrófagos de humanos y de ratones demostraron que pueden limitar el hierro como mecanismo de defensa frente al *Histoplasma capsulatum*, ya que como muchos otros patógenos, este hongo requiere de hierro para desarrollarse.

Timmermann y Woods (1999), observaron que el suero de los mamíferos puede inhibir el crecimiento *in vitro* del *Histoplasma capsulatum* a través de la proteína transferrina, ya que el efecto inhibitorio era inversamente proporcional con los niveles de hierro, entonces usaron un quelante de hierro, deferrioxamina; la cual no es usada por el hongo eficientemente para aprovechar el hierro, por consiguiente, no permite su desarrollo y su proliferación intracelular en las células hospedadoras. La acción de la deferrioxamina puede ser revertida agregando holotransferrina. Asimismo, otros tratamientos fueron evaluados de manera artificial, como la activación de macrófagos por la citoquina, que también limita el crecimiento del hongo intracelularmente. Estos resultados son consistentes con la afirmación que limitar el hierro, es un buen mecanismo de defensa del hospedador frente a la infección de histoplasmosis. Entonces, para poder sobrevivir frente a estos mecanismos, *Histoplasma capsulatum* realiza 3 mecanismos para adquirir el hierro.

Primero, el hongo produce sideróforo hidroxamato que actúa como quelantes de hierro para competir contra la transferrina y así adquirir el hierro de otras zonas del hospedador (Howard *et al.*, 2000). El segundo mecanismo consiste en la reducción férrica, es decir, el hongo produce extracelularmente la enzima reductasa férrica, la cual usa la holotransferrina y ferrisideróforos como sustratos para generar hierro ferroso, removiendo así el hierro del hospedador (Timmermann y Woods, 1999). Estos mecanismos pueden actuar de manera independiente o complementándose, y pueden actuar cuando el hongo está en

el ambiente o cuando está dentro de la célula hospedadora (Woods, 2000). El tercer mecanismo depende del ambiente del hospedador, es decir, el nivel de pH adecuado para que trabaje la transferrina. La transferrina tiene 2 sitios de unión de hierro los cuales son ocupados por una molécula holotransferrina que conlleva a la liberación de hierro a medida que el pH está por debajo del nivel neutral hasta ser progresivamente más ácido. Si la transferrina se encuentra en una saturación y pH apropiados dentro del compartimento intracelular, esto podría suministrar hierro férrico libre disponible para el hongo. Por lo que, siguiendo estos estudios, Newman *et al.* (1994), inoculó cloroquina a ratones infectados con el hongo, y observó que la cloroquina tenía la capacidad de aumentar el pH, previniendo así, la liberación de hierro por parte de la transferrina, y por consiguiente tenía efecto inhibitorio para el desarrollo del hongo dentro de las células (Newman *et al.*, 1994).

La acidificación del ambiente intracelular puede generar la liberación de hierro por parte de la transferrina para que esté disponible para el hongo, pero esto también genera que incremente la actividad enzimática de los lisosomas para degradar el hongo, pero hay que tener en cuenta que el pH óptimo entre estos dos procesos es en cierto punto diferente, por lo que el *Histoplasma capsulatum* debe modular el pH de manera que debe estar bajo para poder adquirir el hierro, pero no lo suficiente como para activar la acción enzimática lisosomal (Woods, 2002).

### 3.6.8 Epidemiología

La histoplasmosis es una de las infecciones micóticas más comunes que afecta a los humanos (Gutiérrez *et al.*, 2014). Se sabe que su distribución es mundial, pero predomina en climas tropicales y subtropicales, principalmente en el continente americano (Monroy *et al.*, 2014). Dentro de las variedades del hongo, *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* es el único que se ha descrito en el continente americano, mientras que *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* es endémico en África Central, África Occidental y Madagascar (Cermeño *et al.*, 2006). También se han reportado casos esporádicos en diferentes países de Europa, Asia y África, aunque aún no se cuenta con los datos epidemiológicos exactos (Gutiérrez *et al.*, 2014). Muchos habitantes de Estados Unidos dan positivo a la prueba de histoplasmina, sobre todo aquellos residentes de Ohio, incluyendo perros (Prior *et al.*, 1970). Si bien la enfermedad ha sido reportada principalmente en áreas rurales, existen también ciertos brotes en habitantes urbanos, particularmente obreros, como fue el caso de un brote de histoplasmosis tras la demolición de viejas estructuras en el campus universitario de Indianápolis. Sin embargo, tanto el hombre como los animales son hospederos accidentales del hongo y no transmiten la infección aunque el guano de las aves y quirópteros contribuyen al crecimiento del agente etiológico (Acha, 2001).

Como se puede ver, es endémica de estas regiones por tener clima tropical y templado. Se han reportado casos en México, Honduras, Guatemala, Nicaragua, Costa Rica, Puerto rico, Panamá, Bélize, Jamaica, Surinam, Colombia, Venezuela, Brasil, Ecuador, Argentina y Perú (Sánchez *et al.*, 2010). Los casos reportados de Europa son raros y generalmente es porque el paciente ha adquirido la enfermedad por haber estado previamente en una zona endémica (Acha, 2001). Dentro de los infectados, se estima que en los Estados Unidos hay aproximadamente 30.000.000, incrementando 200.000 por año, sobretodo de aquellas personas procedentes de zonas endémicas, resultando en un 80% a 90% de positividad a la prueba cutánea de histoplasmina (Ajello, 1964; Sánchez *et al.*, 2010). El hongo se desarrolla mejor en suelos contaminados con heces de aves y de murciélago, pero a diferencia de las aves, el murciélago sí puede infectarse con el hongo y desarrollar la enfermedad (CDC, 2015). En el Perú, los casos reportados de histoplasmosis pertenecen en su mayoría a la zona de Alto Huallaga, donde pertenecen las provincias de los departamentos de Huánuco y San Martín, principalmente las provincias de Leoncio Prado y Tocache (distritos de Rupa Rupa, Tocache, Uchiza, Santa Lucía, Aucayacu, Puerto Inca y Zungaro), debido a que cuenta con ambientes propicios para el hongo (cavernas, cuevas, y poblaciones importantes de quirópteros y aves silvestres, relacionados a ambientes de visita turística). El distrito de Rupa Rupa, en Tingo María tiene la mayor cantidad de casos reportados porque tiene la famosa “Cueva de las Lechuzas” como reservorio del hongo que dio pie a la denominación de “fiebre de Tingo María” (Sánchez *et al.*, 2010).

### 3.6.8.2 Hábitat y fuente de infección

Como ya se mencionó anteriormente, el hongo crece en suelos contaminados con heces de aves y murciélagos, por lo que estar cerca de estas áreas contaminadas puede generar la aerosolización y la exposición de las personas a las conidias (CDC, 2008), lo que hace diferente a las heces de estas especies es el alto contenido de nitrógeno (Sánchez *et al.*, 2010). Ajello (1964), basándose en estudios realizados durante los años 1952 hasta 1955 comprobó que el hongo se encuentra principalmente relacionado a ciertos ambientes como hábitats de gallinas, donde las muestras se colectaron al azar del suelo con excretas. Durante esos años, el rol de las gallinas para la transmisión de la enfermedad era desconocido, aunque sí se confirmó que las gallinas no se infectaban con la enfermedad, ya que tras analizar muchas de ellas, todas dieron negativo a la presencia de la enfermedad. Se concluyó que las heces de las gallinas generan las condiciones adecuadas para el *Histoplasma capsulatum* en el ambiente; sin embargo, las gallinas no son las únicas especies que pueden generar dichas óptimas condiciones, también han sido reportadas las palomas (*Columba livia*), guacharos (*Steatornis caripensis*) y zanates norteños (*Quiscalus quiscula*).

En el Perú, la mayor cantidad de casos reportados pertenecen a personas que han visitado la “Cueva de las Lechuzas”, atractivo turístico de Tingo María. La cueva tiene una profundidad de 405 metros, pero solo se ha registrado vida en los primeros 265 metros, la característica de esta cueva es el hábitat natural del Guacharo (*Steatornis caripensis*) y algunos murciélagos (Sánchez *et al.*, 2010). Teniendo reportes del aislamiento de *Histoplasma capsulatum* del suelo de esta cueva (Lazarus y Ajello, 1955).

Las condiciones óptimas para el desarrollo del hongo equivalen a una temperatura entre 22°C y 29°C, precipitación anual aproximada de 1000 a 1200 mm y humedad relativa entre 67% y 87%. Este hongo, se reproduce más en verano, cuando la temperatura y la humedad son elevadas; en temporada seca se registran mayor cantidad de casos de infecciones, ya que las esporas son transportadas por el aire y polvo (Sánchez *et al.*, 2010).

### **3.6.8.3 Vía de infección**

La vía de entrada al organismo es a través del aparato respiratorio, ya que es por donde ingresan las conidias por aerosolización. Sin embargo, también hay casos de ingreso a vía cutánea, generando una lesión limitada en la piel (Sánchez *et al.*, 2010).

### **3.6.8.4 Periodo de incubación**

Aproximadamente, el periodo de incubación es entre 1 a 3 semanas, cuando la infección es hiperaguda puede desarrollarse entre 1 y 3 días, también hay casos entre 1 y 5 meses después de la exposición; es decir, tiene un promedio de 7 a 10 días (Sánchez *et al.*, 2010). Sin embargo, la enfermedad puede permanecer en el organismo durante muchos años y ser reactivada cuando el sistema inmune está comprometido (López, 2006).

### **3.6.8.5 Edad y sexo**

En general, no hay una edad específica para la presentación de la enfermedad, pero la mayor cantidad de casos reportados son personas que pertenecen al grupo etáreo de 30 a 50 años, esto es probablemente por el trabajo que realizan. Sin embargo, son los pacientes pediátricos los más susceptibles porque pueden diseminar con facilidad la enfermedad, y por consiguiente tienen pronóstico reservado. Desde el punto de vista de sexo, los casos pertenecen más a hombres que a mujeres, en una relación de 4:1 (Sánchez *et al.*, 2010).

### **3.6.8.6 Ocupación**

La mayoría de los reportes sobre los brotes de la enfermedad están relacionados con la ocupación de los pacientes, sobre todo aquellos que realizan actividades de construcción o renovación ya que son los que están más expuestos a las conidias (CDC, 2008). Dentro de estos, están aquellos grupos de alto riesgo como los agricultores, cuidadores de aves de corral, mineros, arqueólogos, espelólogos, obreros de construcción, turistas

procedentes de áreas endémicas y personas que realizan actividades como derrumbar árboles, limpiar sótanos (Sánchez *et al.*, 2010). Sin embargo, personas que realizan turismo y que de alguna forma están directamente en contacto con las cuevas, también son consideradas de alto riesgo (CDC, 2008), porque estos sitios cerrados son los que generan las condiciones ambientales adecuadas para el desarrollo del *Histoplasma capsulatum* (Sánchez *et al.*, 2010).

### 3.6.8.7 Factores predisponentes

De acuerdo a los casos reportados, la mayor cantidad de pacientes que han padecido de histoplasmosis son aquellos que tienen diferentes tipos de inmunodeficiencia como diabetes, tumores, leucemia, sida, trasplantes de órganos, que estén recibiendo algún tipo de corticoterapia; niños, adultos mayores a 55 años, etc. (Sánchez *et al.*, 2010; CDC, 2015). Sin embargo, cualquier persona que ha estado expuesto en un área endémica, puede adquirir el *Histoplasma capsulatum*, la infección puede ser asintomática o con síntomas leves, la persona puede recuperarse así no reciba ningún tipo de tratamiento farmacológico, pero aquellas que no pueden contener la infección necesitan recibir tratamiento antifúngico necesariamente (CDC, 2008).

### 3.6.9 Fuente de infección y vías de transmisión

El hongo está de manera saprófita en el ambiente, y se le puede encontrar en el suelo, su distribución no es uniforme debido a que se deben dar ciertas condiciones para que pueda crecer, como humedad y temperatura adecuadas. Cuando se han reportado brotes de histoplasmosis, por lo general han estado asociados con suelos que presentan excretas de aves o de quirópteros (Acha, 2001). Por ejemplo, ha sido encontrado alrededor de granjas de gallinas, en los dormitorios que tenían acumuladas las heces de las aves, también ha sido encontrado en perreras, casas abandonadas, bajo la sombra de árboles frecuentados por aves y en cuevas que son nidos de las aves (Price, 1966).

Aparentemente, en estos excrementos el hongo compite con otros microorganismos del suelo, según un estudio realizado por Menges y Habermann (1955) en la ciudad de Kansas, demostraron que el hongo no se encuentra en otro tipo de heces que no sean de aves, y que además las heces tienen que estar secas. Asimismo, ningún ave desarrolla la enfermedad, esto se debe a que poseen elevada temperatura corporal, la temperatura de las gallinas es de 40°C aproximadamente, mientras que otras aves poseen temperaturas entre 41°C y 43°C. Por esta razón, algunos autores consideran a las aves actúan como agentes pasivos en la epidemiología, porque sus heces favorecen el desarrollo del *Histoplasma capsulatum*. Sin embargo, los quirópteros sí pueden infectarse del hongo y eliminarlo en sus heces y así lo diseminan (Acha, 2001).

La infección ocurre por la inhalación de esporas siendo las microconidias hongo el elemento infectante, es decir, cuando hay interrupción de los focos naturales mediante ciertas actividades que permitan la diseminación y dispersión en el aire del agente como la remoción de tierra, demoliciones de edificaciones abandonadas o antiguas, visitas a cuevas (Rooks, 1954). Pero, hay probabilidades menores de que las esporas en lugar de ser inhaladas, sean ingestadas, y las lesiones se desarrollan en el tracto digestivo, hígado y bazo. Muchos autores que han reportado sus casos clínicos en humanos, creen que debe haber una infección masiva en una persona sana para que llegue a mostrar signos clínicos de la enfermedad (Price, 1966).

### **3.6.10 Manifestaciones clínicas**

Las manifestaciones clínicas van a estar de acuerdo a la edad del paciente, dosis infectante y el estado inmunológico del huésped, es decir, estos factores determinan además de la forma clínica, el pronóstico de la enfermedad (Acha, 2001). De acuerdo al espectro clínico de la enfermedad, se puede desarrollar la histoplasmosis desde formas asintomáticas hasta una enfermedad fatal que llega a ser diseminada (Silverman *et al.*, 1955). Existen diferentes clasificaciones de acuerdo a la presentación de los signos clínicos, por lo que se ha desarrollado la siguiente: Histoplasmosis primaria que puede ser asintomática o subclínica, pulmonar aguda, pulmonar crónica o cutánea primaria; histoplasmosis secundaria o diseminada en la cual se considera si es aguda, subaguda o crónica; y la histoplasmosis mediada inmunológicamente en la cual está la histoplasmosis, la fibrosis mediastínica (mediastinitis) y el síndrome ocular.

#### **3.6.10.1 Histoplasmosis primaria.**

##### **3.6.10.1.1 Histoplasmosis asintomática o subclínica.**

En este caso, la enfermedad no presenta signos clínicos ni síntomas, solo es posible detectar la enfermedad mediante la prueba cutánea de la histoplasmina, y en algunos casos a través de estudios radiológicos ya que algunos pacientes presentan focos de calcificación en el pulmón. Sin embargo, la presentación de las calcificaciones es más frecuente en zonas donde la sensibilidad a la prueba cutánea de histoplasmina es elevada que en áreas que presentan baja sensibilidad (Silverman *et al.*, 1955). Por lo general, la sintomatología es leve, ya que se ha registrado que inicia con signos que no representan riesgo alguno para las personas porque los identifican como una simple gripe, que no necesita atención médica, pasa inadvertida y se da la curación espontánea (Silverman *et al.*, 1955; Sánchez *et al.*, 2010)

##### **3.6.10.1.2 Histoplasmosis pulmonar aguda.**

La infección aguda se puede desarrollar en personas sanas, si la dosis infectante es alta y presenta infiltrados pulmonares difusos con cierto grado de dificultad respiratoria. Las placas radiográficas revelan infiltrados intersticiales difusos, asociados por lo general, con linfadenopatía hilar o mediastinal. Los

pacientes presentan signos como fiebre, sudores fríos, pérdida de peso, a veces dolores de cabeza y problemas gastrointestinales. El diagnóstico se llega mediante una buena anamnesis, al verificar la historia del paciente de visita a áreas endémicas (Wheat, 2006). El desarrollo de la enfermedad es similar al de la tuberculosis pulmonar, con una infección primaria o la activación de un foco latente, que puede causar, aunque muy raro, una reinfección. Por lo tanto, un patrón miliar es frecuente e indica una forma diseminada o que ha sido consecuencia de una exposición intensa (Sánchez *et al.*, 2010).

#### 3.6.10.1.3 Histoplasmosis pulmonar crónica.

También presenta sintomatología clínica y suele presentarse en hombres adultos con historia de enfisema, fumadores crónicos, bronquitis crónica, ya que son casos que no pueden controlar la presencia del hongo. Los pacientes presentan tos con sangre, moco o pus, bajos grados de fiebre escalofríos, sudoraciones nocturnas y pérdida de peso. En la placa radiográfica se puede observar pulmones con cavitaciones, lesiones de calcificación que también se observan en los nódulos linfáticos regionales, lo que indica que el paciente ha presentado anteriormente la enfermedad o que ha estado constantemente expuesto al hongo (Wheat, 2006). En este tipo de presentación clínica, no se suele observar manifestaciones cutáneas. La infección se puede controlar con el tratamiento micótico, pero la cicatrización del pulmón se mantiene. Sin embargo, ocasionalmente los pacientes deben hacerse análisis clínicos para controlar recaídas. Dentro de las complicaciones está la artritis, fibrosis pulmonar, pericarditis, insuficiencia respiratoria e histoplasmosis diseminada (Sánchez *et. al*, 2010).

#### 3.6.10.1.4 Histoplasmosis cutánea primaria.

Este tipo de presentación clínica se genera como consecuencia de un foco primario pulmonar sintomático (agudo o crónico) o asintomático que se ha diseminado a nivel sistémico. La histoplasmosis cutánea primaria es poco frecuente, cuando se presentan lesiones en la piel, primero se descarta la afección sistémica que puede ser sutil y con placas radiográficas de tórax aparentemente normales. En este caso, las lesiones son inespecíficas y polimórficas, similar a cualquier lesión de piel con presencia de nódulos diseminados, erisipela, úlceras; estas últimas pueden ser extensas o estar autolimitadas, por lo que estudios histológicos y serológicos son imprescindibles para llegar al diagnóstico definitivo. En la mayoría de los casos se presenta en personas inmunocomprometidas, pero también se ha presentado en individuos inmunocompetentes. En este último caso, la afección es normalmente autolimitada y en algunos casos, puede regresionar sin ningún tipo de tratamiento porque el hongo en sí, no tiene afinidad por la piel (Ramos *et. al*, 2015).

### 3.6.10.2 *Histoplasmosis secundaria o diseminada.*

La histoplasmosis diseminada se genera a partir de una infección propagada vía sanguínea desde los pulmones al resto del sistema. Es una presentación común en pacientes con el sistema inmune severamente afectado por ejemplo en casos de linfomas, alcoholismo crónico, desnutrición severa e inmunodepresión por VIH. Por lo general, la diseminación se da en la infección aguda y puede desarrollarse tras una reinfección (Sánchez *et al.*, 2010). Las manifestaciones clínicas varían en relación a la cantidad de agente al que se ha estado expuesto y el estado inmunitario del paciente, algunos pueden manifestarse inmediatamente o poco después de la exposición, como en otros casos, puede haber periodos largos sin manifestarse clínicamente y eventualmente tener recaídas sintomáticas (Gutiérrez *et al.*, 2014).

#### 3.6.10.2.1 Histoplasmosis diseminada aguda.

Es común en pacientes con leucemia, linfoma, trasplantes de órganos y SIDA. Se puede observar adelgazamiento progresivo, fiebre, anorexia, diarreas, vómitos, hepatomegalia, esplenomegalia, adenomegalia y anemia. También se presentan cuadros respiratorios con tos con expectoración mucopurulenta, y disnea. En la placa radiográfica de tórax los pulmones presentan infiltrados del intersticio pulmonar bilateral. Como es diseminada, también se presentan lesiones en la piel, ya sean nódulos o úlceras. Una de las particularidades de esta presentación clínica, es que el cuadro clínico es similar al de una septicemia con falla multiorgánica y coagulación intravascular diseminada (CID). En este caso, si no es tratada, tiene un curso fatal (Sánchez *et al.*, 2010).

#### 3.6.10.2.2 Histoplasmosis diseminada subaguda.

Este tipo de presentación es muy común en niños y pacientes con problemas en el sistema inmune. En pacientes con VIH y que presentan histoplasmosis diseminada, el mayor porcentaje de casos pertenecen a este tipo de histoplasmosis diseminada. Los signos clínicos y síntomas son inespecíficos como la pérdida de peso, fiebre que dura varios días, anorexia, diarreas y vómitos. A nivel de piel, las lesiones son pápulas de 2 a 4 mm de diámetro y son más profundas que en la histoplasmosis diseminada aguda. El aparato gastrointestinal también suele afectarse (Sánchez *et al.*, 2010).

#### 3.6.10.2.3 Histoplasmosis diseminada crónica.

La histoplasmosis diseminada crónica es más común en varones entre los 40 y 60 años y cursa con fiebre, sudoración nocturna, pérdida de peso progresiva, sintomatología respiratoria, hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenopatía, lesiones en la piel y en mucosas. En el cuadro epidérmico hay eritema, placas, pápulas, nódulos, úlceras que pueden estar también en la mucosa, por lo general, las lesiones se hallan en la cara, tronco y miembros superiores. En los pacientes con el sistema inmune comprometido, las lesiones pueden evolucionar hasta la necrosis. Sin embargo, en pacientes con VIH también se

han observado que las pápulas y los nódulos son pequeños y ampliamente distribuidos (Acuña *et al.*, 2008).

### **3.6.10.3 Histoplasmosis mediada inmunológicamente.**

Se presenta cuando hay una infección latente por la liberación de antígenos constantemente, por lo que su progresión es lenta.

#### **3.6.10.3.1 Histoplasmosis.**

La histoplasmosis es una masa fibrosa que desde el punto de vista histológico es un foco necrótico pequeño rodeado de una cápsula fibrosa. Por lo tanto, es fácil distinguirlo en placas radiográficas, suelen tener un tamaño entre 5 mm a 3 cm, por lo general tienen presentación única. A veces se confunden en su diagnóstico con tumores (Goodwin y Snell, 1969). En casos muy raros, se presentan a nivel del cerebro y los confunden con tumores cerebrales, hasta el año 2005 sólo se han reportado 11 casos a nivel mundial (Gasparetto *et al.*, 2005).

#### **3.6.10.3.2 Fibrosis mediastínica o mediastinitis.**

Es similar a la mediastinitis fibrosante, genera compresión intrínseca a nivel de la vena cava superior y del esófago. Responde bien al tratamiento farmacológico (Sánchez *et al.*, 2010).

#### **3.6.10.3.3 Síndrome ocular.**

La histoplasmosis a nivel ocular genera coriorretinitis crónica que puede producir un desprendimiento de la retina, hemorragias y cicatrices. Algunos autores describen las lesiones como pequeñas zonas blancas rodeadas de hemorragia. Si no se trata, puede ocasionar ceguera (Woods y Wahlen, 1959).

### **3.6.11 Histoplasmosis en pacientes con VIH**

Como se mencionó anteriormente, la histoplasmosis es una enfermedad oportunista porque afecta principalmente a personas con el sistema inmune comprometido, sobretodo en pacientes con el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida, incluso se sabe que es la micosis sistémica más común entre estos pacientes. Por lo tanto, las manifestaciones clínicas son de tipo sistémicas y multiorgánicas. La infección puede ser adquirida recientemente o por una infección latente, por lo que los signos y síntomas van desde pulmonares hasta epidérmicos e inclusive, se pueden observar lesiones a nivel de las mucosas (Sánchez *et al.*, 2010).

A pesar de que los tratamientos retrovirales son muy efectivos, aún se reportan tasas altas de mortalidad entre 12 y 48% en diferentes países en pacientes con histoplasmosis y que están coinfectados con el VIH. Cáceres *et al.* (2012), registraron diferentes datos porcentuales de diferentes países sobre la histoplasmosis y su relación con los pacientes VIH positivo, y por ejemplo en Estados Unidos, los casos desde 1999 hasta el 2006, representaban una mortalidad de 39%; en Colombia, entre los años 1979 – 2001 la tasa era de

33%, en Brasil, entre los años 1999 – 2005 la tasa de mortalidad era de 33% en Argentina, entre los años 1993 – 2000, la tasa era de 19%.

### 3.6.12 Histoplasmosis en animales

La histoplasmosis no solo afecta al hombre, sino también a los animales, muchos mamíferos domésticos y silvestres pueden adquirir la enfermedad, principalmente aquellos que habitan en zonas endémicas. Se ha registrado en bovinos, ovinos, equinos y con mayor frecuencia en caninos (Price, 1966; Acha, 2001)

Prior *et al.* (1970) evaluaron 837 perros de la zona de Ohio, de los cuales 5 fueron positivos a la prueba cutánea de la histoplasmina, por lo que se realizó un cultivo para confirmar la presencia del agente etiológico. Dentro de las mascotas, tanto los gatos como los perros pueden desarrollar la enfermedad, pero no hay transmisión entre los animales. Siendo los gatos más susceptibles que los perros (Brömel y Sykes, 2005). En los animales, la sintomatología clínica es similar a la de humanos, por ejemplo puede darse el caso que se infectan pero no desarrollan la enfermedad, es decir, tener la presentación asintomática. Cuando hay presencia de signos clínicos, se puede observar tos, decaimiento y pérdida de peso (CDC, 2015).

Además de los animales menores, dentro de las especies domésticas también se ha reportado en bovinos y ovinos. En los animales silvestres existen reportes en un roedor silvestre (*Proechimys guyanensis*) y de un perezoso en Brasil (Acha, 2001).

Rezabek *et al.* (1993) diagnosticaron 9 caballos con histoplasmosis durante los años 1986 – 1990. En dichos animales, generó cuadros de placentitis granulomatosa y abortos a partir del séptimo mes de gestación y causó la muerte a recién nacidos por neumonía granulomatosa.

Shacklette *et al.* (1962) trabajaron con más de 100 murciélagos recolectados de un edificio abandonado en la República de Panamá, capturaron las especies *Chilonycteris rubiginosa fusca* y *Carollia perspiculata azteca*, el 21.3% de los quirópteros dieron positivo a la presencia de *Histoplasma capsulatum*.

### 3.6.13 Diagnóstico

Existen diversas técnicas para diagnosticar la enfermedad, desde métodos directos y convencionales hasta métodos de nivel molecular.

#### 3.6.13.1 Examen en fresco y diferentes coloraciones.

El examen fresco consiste en la observación directa de la muestra clínica, algunos autores no confían en esta técnica porque el agente es intracelular y

es muy difícil poder diferenciarlo. Sin embargo, existen coloraciones que ayudan en el diagnóstico como es la tinción Whright, Giemsa, el ácido periódico de Schiff (PAS) y la plata metenamina o Grocott. Son muy usadas para las muestras de esputo y lavado broncoalveolar, también se usan en biopsias, raspados y extendidos de médula ósea. Al microscopio se observan las levaduras ubicadas intracelularmente y se colorean de acuerdo a la tinción usada. Cabe resaltar, que no debe usarse como método único de diagnóstico porque va a depender de la experiencia del observador el poder identificarlas, además de que puede confundirse fácilmente con otros agentes como *Candida spp.*, *Blastomyces dermatitides* y *Cryptococcus neoformans* (Muñoz *et al.*, 2010).

### **3.6.13.2 Cultivo microbiológico.**

Muchos autores consideran a esta prueba como la “Gold standart” ya que permite el diagnóstico definitivo del hongo. Consiste en reconocer las características morfológicas del agente en el agar desde el punto de vista macroscópico como microscópico. Se siembra material patológico en agar Sabouraud glucosado con antibiótico, siendo cloranfenicol la mejor opción, en dos tipos de temperaturas por su característica dimórfica, es decir a 28°C (temperatura ambiente) y a 37°C (temperatura corporal de un mamífero), el tiempo de incubación debe ser entre 2 y 4 semanas, aunque algunos recomiendan dejar la muestra hasta la semana 12 (Gutiérrez *et al.*, 2011).

### **3.6.13.3 Hemocultivo por lisis centrifugación.**

Este es un método poco convencional que consiste en poner una muestra de sangre a un procedimiento de lisis, donde los elementos de la sangre como los eritrocitos y los leucocitos se ponen en contacto con ciertas sustancias líticas como la saponina, de modo que son destruidos y las levaduras intracelulares se liberan (Muñoz *et al.*, 2010).

### **3.6.13.4 Biopsia.**

Esta prueba es bastante utilizada cuando las manifestaciones clínicas son de tipo muco - cutáneas. A nivel histológico se observa signos de inflamación aguda con los polimorfonucleares y macrófagos que en su interior tienen las levaduras de 2 a 4  $\mu\text{m}$  de diámetro y de forma ovalada (Sánchez *et al.*, 2010).

### **3.6.13.5 Fijación de complemento e inmunodifusión en agar gel.**

Ambas pruebas detectan anticuerpos contra *Histoplasma capsulatum*. La prueba de fijación de complemento (FC) detecta y mide anticuerpos fijadores de complemento específicos contra el hongo, se debe usar con suero o líquido cefalorraquídeo del paciente, cuando los títulos resultan entre 1:8 y 1:16 sugieren que existió un posible contacto con el hongo, pero títulos de 1:32 corresponden a una histoplasmosis activa. La prueba de inmunodifusión en agar gel, identifican bandas de precipitados denominadas H y M para el *Histoplasma capsulatum*, las cuales son proteínas que permiten diagnosticar si

estamos frente a una infección activa, sin embargo, esta prueba no difiere entre una infección pasada y una actual, porque los anticuerpos que se reconocen pueden permanecer durante años tras la infección (Muñoz *et al.*, 2010).

#### **3.6.13.6 ELISA directa e indirecta.**

Son métodos que se han usado muy poco por su difícil interpretación y estandarización. Además, cuando han sido probados con otras enfermedades fúngicas como paracoccidioomicosis, blastomicosis, aspergilosis, candidiasis y coccidioomicosis, genera reacción cruzada, afectándose su sensibilidad y su especificidad (Kauffman, 2007; Muñoz *et al.*, 2010).

#### **3.6.13.7 Antígeno urinario.**

Tiene una sensibilidad por encima del 90% en casos de enfermedad diseminada, se usa principalmente en pacientes con recaída a la enfermedad (Sánchez *et al.*, 2010).

#### **3.6.13.8 Prueba cutánea de la histoplasmina.**

Esta prueba permite diagnosticar una infección primaria, sintomática o asintomática, tanto en sujetos inmunocomprometidos como en inmunocompetentes. Consiste en inocular intradérmicamente el agente en una concentración de 1% en la región antebraquial anterior, después de 48 horas se evalúa, si se observa la formación de una pápula mayor a 5 mm de diámetro, se considera positivo. Aunque la especificidad de la prueba puede ser discutida porque genera reacciones cruzadas con otros hongos como *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis* y *Paracoccidioides brasiliensis*. Se usa principalmente en estudios epidemiológicos (Torres *et al.*, 2000).

#### **3.6.13.9 Pruebas moleculares.**

Se ha utilizado la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en casos experimentales porque para diagnóstico de la enfermedad no ha sido del todo definido su uso porque no se pueden estandarizar los métodos para confirmar la presencia del hongo (Kauffman, 2009).

#### **3.6.13.10 Rayos X**

Si bien este tipo de diagnóstico no es específico, son muy útiles e imprescindibles cuando se presentan los cuadros respiratorios (Monroy *et al.*, 2014). Durante un estudio realizado por Conces *et al.* (1993) en pacientes VIH positivo, se realizaron radiografías de tórax a 50 pacientes, de los cuales 27 presentaron placas radiográficas aparentemente normales (sin lesiones aparentes) y 23 con ciertas anomalías como opacidades irregulares y nodulares.

El tratamiento a seleccionar depende de las manifestaciones clínicas del paciente y patologías asociadas. Los compuestos azólicos como el ketoconazol, itraconazol, fluconazol y posaconazol, así como la anfotericina B son los más usados y eficaces contra el *Histoplasma capsulatum* (Negróni *et al.*, 2010).

La anfotericina B tiene como mecanismo de acción alterar la permeabilidad de la membrana, lo que conlleva a la pérdida de moléculas importantes para el hongo, tiene 2 formas de presentación: convencional y liposomada. La primera, se aplica en dosis de 0.7 – 1 mg/kg/día IV hasta alcanzar dosis de 35 mg/kg en 2 a 4 meses, entre los efectos adversos está la nefrotoxicidad. La segunda, se aplica en dosis de 3 – 5 mg/kg/día hasta llegar a dosis de 100 – 200 mg/kg en 2 a 4 meses, por lo general esta dosis se usa en pacientes con VIH y cuando la histoplasmosis está en fase diseminada, no es tan nefrotóxica como la convencional (Sánchez *et al.*, 2010).

Los fármacos azoles tienen actividad fungistática, es decir, inhiben la mutilación del lanosterol de la membrana por su unión a la enzima del citocromo P 450, lo que conlleva a la acumulación de esteroides y de ergosterol, y así se genera pérdida de integridad de la membrana del hongo (Sánchez *et al.*, 2010).

Para la histoplasmosis pulmonar aguda se da un tratamiento corto de anfotericina B vía intravenosa durante 2 a 3 semanas (Acha, 2001). Negróni *et al.* (2010) establecieron tratamientos de la histoplasmosis diseminada progresiva: para la diseminada crónica, itraconazol (100 – 200 mg por 6 meses), anfotericina B (0.7 mg/kg de 2 a 3 meses), y ketoconazol (400 mg por 12 meses); para la diseminada subaguda, itraconazol (600 mg por 2 a 3 días; 400 mg por 3 meses) y anfotericina B (0.7 mg de 2 a 3 meses); para la diseminada aguda, anfotericina B (0.7 mg/kg de 2 a 3 meses).

Según Kauffman (2009) el tratamiento adecuado corresponde al uso de itraconazol frente a una infección leve a moderada y el uso de anfotericina B cuando la infección es severa. Dentro de la familia de los azoles, el fluconazol es considerado como segunda opción porque sus niveles de concentración al inicio son bajos pero duran lo suficiente como para evitar recaídas en comparación con el itraconazol. El ketoconazol es el menos usado porque es más tóxico y menos efectivo que el itraconazol. El voriconazol y el posaconazol también se consideran de segunda línea porque no hay reportes que se hayan usado en el tratamiento de histoplasmosis.

Wheat *et al.* (2007) crearon una guía práctica específica para el tratamiento de la histoplasmosis en todas sus presentaciones, desde una presentación limitada a una diseminada. Además, propone tratamientos de por vida generando una morbilidad alta en el paciente. Para la histoplasmosis pulmonar aguda y crónica el uso de itraconazol, la concentración es de 200 mg 3 veces

al día durante 3 días y luego 1 o 2 veces al año para evitar recaídas. Para la histoplasmosis diseminada, recomienda la administración de itraconazol y de anfotericina B. Los tratamientos para mujeres embarazadas y niños solo varían en las concentraciones ya que no tienen efectos adversos inmediatos.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 *Lugar de estudio.*

El trabajo de investigación se realizó en la provincia de Lima, Departamento de Lima, está ubicado en la región central y occidental del territorio peruano, abarcando zonas interandinas y del litoral. Tiene una extensión de 34 948. 57 km<sup>2</sup>, lo que equivale a un 2.7% del territorio nacional. El clima es variado, templado, húmedo y con alta nubosidad en invierno en la zona costera, donde las precipitaciones son escasas y solo se producen las garúas (INEI, 2015). Los lugares de obtención de muestras para las palomas de Castilla fueron la iglesia La Merced, iglesia San Agustín, Iglesia Santa Rosa, iglesia San Francisco, Granja El Arriero y la universidad Científica del Sur. Por otro lado, las muestras de las palomas mensajeras fueron obtenidas de 4 palomas distintos.

### 4.2 *Población y muestra.*

Para esta investigación se trabajó con 2 tipos de poblaciones, finita (palomas mensajeras) y no finita (palomas de Castilla). Para la población no finita de las palomas de Castilla, se utilizó la siguiente fórmula:

Con un prevalencia de 1.3% en base a un trabajo realizado en Venezuela en el año 2006 (Cermeño et al., 2006) para *Histoplasma capsulatum* en palomas de Castilla.

$$n = \frac{Z^2 \alpha / 2p(1-p)}{E^2} \rightarrow \frac{(1.96)^2 \times 0.013(1-0.013)}{(0.05)^2}$$

Y obtenemos 19.7, que equivale a

20.

Resultando 20 individuos como mínimo. Pero, se trabajó con 126 muestras y se utilizó el método de selección de muestra de tipo dirigida. Las muestras se recolectaron del suelo, fueron seleccionadas por el área más cercana de anidación y secas, condición necesaria para la presencia del hongo.

Para la población finita de palomas mensajeras, se utilizó la siguiente fórmula:

Con una prevalencia referencial de 1.3% y una población aproximada de 3000 ejemplares (dato obtenido por la Asociación de Colombófilos del Perú),

$$n = \frac{Z^2 \alpha / 2p(1-p)N}{(N-1)E^2 + Z^2 \alpha / 2p(1-p)} \rightarrow \frac{(1.96)^2 \times 0.013(1-0.013)(3000)}{(3000-1)(0.05)^2 + (1.96)^2 \times 0.013(1-0.013)}$$

Y obtenemos 19.59, que equivale a 20

Resultando 20 individuos como mínimo. Sin embargo, se utilizó 119 muestras. Las muestras se recolectaron de los palomares y se utilizó método de selección muestral de tipo dirigida.

### 4.3 Toma y remisión de muestras

Las muestras se recolectaron entre los meses de Setiembre, Octubre, Noviembre y Diciembre del 2015. Se tomaron las heces secas de diferentes ubicaciones de la ciudad de Lima. De cada lugar, se recolectó aproximadamente 20 gramos de heces secas. Todas las muestras fueron colocadas en bolsas plásticas con cierre hermético y fueron remitidas al laboratorio de Microbiología de la Universidad Científica del Sur para ser procesadas el mismo día.

Se tomaron las medidas de bioseguridad que correspondían, se usó mascarilla descartable SEGRE para protección de todo tipo de partículas, mameluco descartable DUPONT para protección de partículas secas y guantes desechables ANSELL.

### 4.4 Procesamiento de muestras

El procesamiento de las muestras se realizó en base a la técnica descrita por Cermeño (2006), donde las heces fueron mezcladas con solución salina estéril

en una concentración de 1:10 durante 5 minutos con un homogenizador. Luego, dicha solución se dejó reposar durante 30 minutos. Se retiró una alícuota de 0.1 ml del sobrenadante y fue sembrado en agar Sabouraud. Por la característica dimórfica del hongo, se prepararon 2 tubos por muestra, uno fue incubado a 37°C y el otro a temperatura ambiente (28°C aproximadamente). La observación se realizó diariamente.

#### **4.5 Identificación**

Luego del crecimiento, se identificaron mediante sus características macroscópicas, por la forma, color, tiempo de crecimiento, y características microscópicas. Para el crecimiento en forma de levadura, con un ansa estéril se tomó la muestra y se colocó en una lámina portaobjetos con una gota de lactofenol, se mezcló hasta obtener una solución uniforme, se colocó una lámina cubreobjetos y observó en el microscopio a un aumento de 100X, de acuerdo a sus características morfológicas, se realizaban pruebas adicionales para identificar una especie específica (tinta china, prueba de urea, etc.). Cuando la colonia presentó crecimiento tipo moho, se utilizó cinta adhesiva, una impronta que se colocó en una lámina portaobjetos con una gota de lactofenol y posterior observación en el microscopio a un aumento de 10X, para reconocer ciertas características morfológicas como la presencia de un conidióforo, se incrementaba el aumento a 100x para poder identificar la especie. Los diagnósticos se realizaban de acuerdo a las características macroscópicas y microscópicas de cada colonia.

#### **4.6 Análisis de datos**

Se obtuvo el porcentaje de presentación del *Histoplasma capsulatum* en base a las 245 muestras recolectadas y se utilizó el programa de simulación estocástica beta – pert (@Risk).

## VI. RESULTADOS

Se tomaron 245 muestras de heces de palomas domésticas (*Columba livia*) en la ciudad de Lima, tanto de palomas de Castilla como de palomas mensajeras. Los lugares de obtención de muestras para las palomas de Castilla fueron la iglesia La Merced (n=30), iglesia San Agustín (n=12), iglesia Santa Rosa (n=30), iglesia San Francisco (n=13), Granja El Arriero (n=24) y la Universidad Científica del Sur (n=17). Por otro lado, las muestras de las palomas mensajeras fueron obtenidas de los siguientes lugares: palomar 1 (n=30), palomar 2 (n=24), palomar 3 (n=31) y palomar 4 (n=34).

El 0.41% (1/245) de las muestras tomadas fueron positivas a la presencia del hongo *Histoplasma capsulatum*. El modelo de simulaciones estocásticas de distribución beta demostró una prevalencia mínima de 0.36% y una máxima de 0.45%.

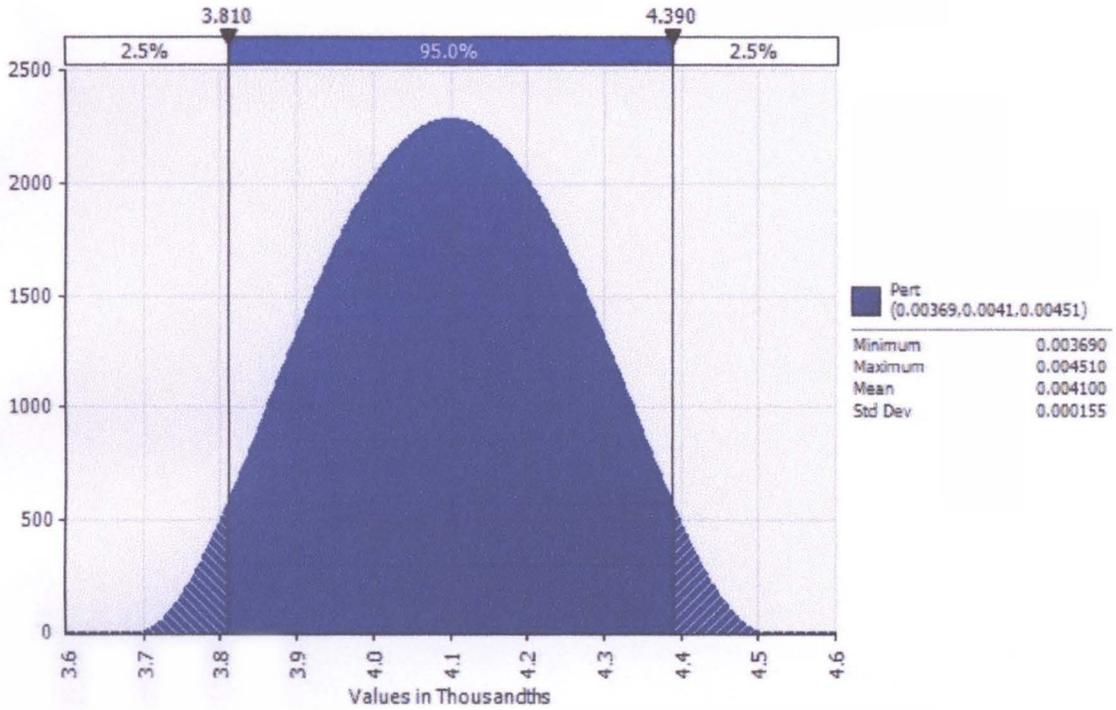
Tabla 1.- Porcentaje del total de muestras positivas de acuerdo al origen (N=245).

Lugar	Positivo		Negativo		Total N
	n	%	n	%	
Palomar 1	0	0	30	12.2	30
Palomar 2	0	0	24	9.8	24
Palomar 3	0	0	31	12.7	31
Palomar 4	0	0	34	13.9	34
Iglesia La Merced	0	0	30	12.2	30
Iglesia Santa Rosa	0	0	30	12.2	30
Iglesia San Agustín	1	0.4	11	4.5	12
Iglesia San Francisco	0	0	13	5.3	13
El Arriero	0	0	24	9.8	24
UCSUR	0	0	17	6.9	17
<b>TOTAL</b>	<b>1</b>	<b>0.4</b>	<b>244</b>	<b>99.6</b>	<b>245</b>

Tabla 2.- Porcentaje del total de muestras positivas de acuerdo al tipo de paloma.

Tipo de paloma	Positivo		Negativo		Total N
	n	%	n	%	
Mensajera	0	0	119	100	119
De Castilla	1	0.8	125	99.2	126
<b>TOTAL</b>	<b>1</b>		<b>244</b>		<b>245</b>

Gráfico 1.- Distribución de la prevalencia del hongo *Histoplasma capsulatum* por distribución estocástica beta – pert (@Risk).



## VII. DISCUSIÓN

Existen diferentes estudios sobre la histoplasmosis, enfermedad causada por el hongo *Histoplasma capsulatum*. En el presente estudio se determinó la presencia del hongo en las heces de palomas mensajeras y de Castilla de la ciudad de Lima, las muestras fueron tomadas del suelo; al igual que el estudio realizado por Emmons (1949), que reportó por primera vez al hongo aislado a partir de 384 muestras de suelo, resultando 0.52% (2/384) de muestras positivas al hongo en mención, éstas fueron inoculadas en ratas, las cuales al desarrollar la enfermedad, reconfirmaron la presencia del hongo. Zeidberg *et al.* (1952), reporta 23.4% (70/299) muestras positivas del suelo del condado Williamson, en base a la reacción positiva a la histoplasmina, muestras que fueron confirmadas mediante la inoculación en ratones. Por ello, el muestreo para el presente estudio se realizó a partir de muestras del ambiente vinculadas a áreas de anidación, en este caso, se tomaron 245 muestras, se cultivaron en agar Sabouraud, y se procedió a su identificación micológica.

Para el diagnóstico de la histoplasmosis hay diversas pruebas que van desde métodos directos y convencionales hasta pruebas moleculares. En el caso de las primeras está el examen directo realizado con diferentes coloraciones, hemocultivo por lisis centrifugación (Muñoz *et al.*, 2010), cultivo microbiológico, biopsias, prueba de antígeno urinario (Sánchez *et al.*, 2010), prueba cutánea de la histoplasmina (Torres *et al.*, 2000) y rayos X (Monroy *et al.*, 2014); entre las pruebas inmunológicas está la prueba de fijación de complemento, inmunodifusión en agar gel (Muñoz *et al.*, 2010), ELISA directa e indirecta (Kauffman, 2007); y la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (Kauffman, 2009). De todas éstas, la prueba "Gold standart" para el diagnóstico de la presencia del hongo es la del cultivo microbiológico (Gutiérrez *et al.*, 2011), prueba que fue utilizada en el presente estudio.

La muestra para el aislamiento de *Histoplasma capsulatum* es de heces secas por estudios que demostraron un mejor desarrollo en heces libres de humedad, debido a la alta cantidad de nitrógeno y fosfatos que contienen las heces secas (Menges y Habermann, 1955).

Se ha registrado la presencia del hongo *Histoplasma capsulatum* en el ambiente de acuerdo a estudios realizados en 2 cuevas de Sudamérica y en el estado de Bolívar (Venezuela). Uno de los estudios se realizó en una cueva de Venezuela, la cual era hábitat natural del guacharo (*Steatornis caripensis*), en este caso, las muestras tomadas del suelo fueron procesadas, y el sobrenadante obtenido fue inoculado en ratones. De las 15 muestras obtenidas, 2 resultaron positivas (13.3%) (Ajello *et al.*, 1959). El segundo estudio realizado en una cueva, fue en Perú, en la famosa “Cueva de las Lechuzas” (Tingo María), la cual también es hábitat natural del guacharo, en este caso, las muestras fueron sembradas en agar Sabouraud e inoculadas vía intraperitoneal en ratones. De las 16 muestras obtenidas, 11 resultaron positivas (68.75%) (Lazarus y Ajello, 1955). Ambas cuevas tiene la característica que se dividen en 2 partes: la parte externa, la cual es donde transitan los turistas, y la parte interna, que es donde habitan las aves y de donde se tomaron las muestras del suelo para estudio. El tercer reporte de *Histoplasma capsulatum* en el ambiente, fue registrado en el estado de Bolívar, Venezuela; las muestras fueron recogidas en diferentes localidades de la ciudad, especialmente donde se registraron sitios de anidación de las palomas de Castilla, y fueron incubadas en agar Sabouraud bajo condiciones de laboratorio. De las 116 muestras, 1 resultó positiva (1.3%) (Cermeño *et al.*, 2006). Tanto el estado de Bolívar como la ciudad de Lima, presentan rangos de temperatura similares. En el caso del estado de Bolívar, la temperatura oscila entre 23.7°C y 28.2°C (Cermeño *et al.*, 2006); por otro lado, en la ciudad de Lima, la temperatura oscila entre 17°C y 28°C (INEI, 2015), es decir son ciudades de clima subtropical, de manera que permiten que desarrolle el hongo (Gutiérrez *et al.*, 2011). De las 245 muestras que fueron recolectadas en el presente estudio, se obtuvo 0.41% (1/245) de positivos (Tabla 1) siendo un porcentaje bajo en comparación con otros estudios, y esto probablemente se deba a que las muestras fueron tomadas durante los meses de setiembre y octubre, donde las temperaturas oscilan por debajo de los 24°C siendo temperaturas menores a las óptimas requeridas por el hongo en estudio; además, las muestras fueron recolectadas, en su mayoría de lugares abiertos y ventilados.

El *Histoplasma capsulatum* es un hongo dimórfico, es decir, su desarrollo va a darse de acuerdo a la temperatura a la que se enfrenta. Se sabe que crece, de manera saprófita, principalmente en climas tropicales y subtropicales donde la temperatura oscila entre 22 y 29°C (Fernández *et al.*, 2011) y cuando el hongo es cultivado e incubado entre 28 y 37°C en el laboratorio, se puede observar su

fase filamentosa. Por tal motivo, en este estudio, el hongo fue cultivado a diferentes temperaturas, una a temperatura ambiente y otra a 37°C; de éstos la muestra creció a 37°C y fue de tipo filamentosos (López, 2006), en contraposición a otras publicaciones que afirman que el crecimiento se da principalmente en temperaturas menores a 37°C (BMJ, 1945; Zeidberg y Ajello, 1954; Goos, 1964; Medoff *et al.*, 1987; Weaver *et al.*, 1996; Acha y Szyfres, 2001; Woods, 2002).

La ecología del hongo ha sido ampliamente estudiada y diversas publicaciones confirman que el hongo está de manera ubicua en el ambiente, pero que se encuentra en las excretas secas de las aves y murciélagos, sustrato necesario para poder desarrollarse, por lo que frecuentemente ha sido aislado de cuevas, minas, edificaciones abandonadas, granjas y gallineros, o en cualquier lugar de anidación de estas especies (Zeidberg y Ajello, 1954; Emmons, 1957; Emmons, 1958; Price, 1966; Acha y Szyfres, 2001; Cermeño *et al.*, 2006; Dighe *et al.*, 2009). Sin embargo, también ha sido relacionado a otras especies, por ejemplo en Perú, el hongo ha sido aislado de la “Cueva de las Lechuzas”, hábitat natural de los guacharos (*Steatornis caripensis*) (Lazarus y Ajello, 1955), y también se ha podido aislar de las excretas de los zanates norteños (*Quiscalus quiscula*) (Ajello, 1964). El presente estudio, reporta la presencia de *Histoplasma capsulatum* relacionada a la paloma de Castilla debido a la alta densidad de aves en zonas urbanas y esto es porque en el centro de la ciudad de Lima las edificaciones son antiguas y altas, convirtiéndolas en sitios de anidación ideales para las palomas de Castilla (Ferman *et al.*, 2010). Por tal motivo, no existe un control directo de las palomas y de sus excretas, a pesar de que diferentes distritos de la ciudad de Lima tienen ordenanzas con el fin de controlar la población, pero éstas solo prohíben la alimentación y crianza de las palomas. Entonces, cada vez la población de palomas incrementa, y por consiguiente, la acumulación de excretas, generándose así el sustrato que el hongo necesita para poder desarrollarse.

Se observó durante el proceso de desarrollo del hongo, que el crecimiento de éste era a partir de las 48 horas de incubación. Sin embargo, la colonia no creció sola, ya que al estar en agar Saboraud, que es específico para el desarrollo de hongos, crecieron más especies. De acuerdo a Goos (1964) el hongo difícilmente crece en menos de 24 horas de incubación y que además, otros hongos del ambiente que crecen más rápido pueden inhibir su crecimiento. Por tal motivo, una vez que se confirmó el *Histoplasma capsulatum* en una de las muestras mediante identificación en el microscopio, la muestra ya no pudo desarrollar más porque otras especies, como el *Rhizopus sp.*, invadieron el área de crecimiento, agotando el sustrato disponible.

El aspecto más importante del estudio, es la importancia en salud pública. Como ya se describió anteriormente, el hongo se encuentra en el ambiente de

manera ubicua, ingresa al organismo vía oronasal, y para que se desarrolle la enfermedad depende de la carga infectiva y estado inmunitario del organismo, que permita su rápida adherencia, colonización, invasión y daño celular (Emmons, 1957). Por ello, las personas que tienen mayor riesgo son aquellas inmunocomprometidas, con tratamiento de corticoterapia como los que reciben trasplantes de órganos, diabéticos, gerontes o niños, y pacientes con el VIH. De éstos, los más afectados son los pacientes con SIDA, se sabe que en algunos casos, la confirmación de histoplasmosis puede conllevar al diagnóstico del SIDA (Alva *et al.*, 2010). Cáceres *et al.* (2012) reporta entre 12 a 48% de mortalidad en el continente americano de pacientes con VIH positivos que desarrollaron histoplasmosis en países subdesarrollados y con poco acceso a servicios médicos.

En nuestro país, la forma más rápida y directa de adquirir la infección es a través de las heces de la paloma doméstica (*Columba livia*). Como se ha descrito anteriormente, existen 2 tipos comunes en nuestro ambiente, la paloma mensajera y la paloma de Castilla. Lo que las diferencia son sus características morfológicas, ya que la paloma mensajera tiene un aspecto más atlético en comparación con la paloma de Castilla (Castelló, 2014). De las muestras tomadas e incubadas, la que resultó ser positiva fue recogida de uno de los sitios de anidación de las palomas de Castilla en el centro de Lima. De acuerdo a un estudio realizado en Milán, se encontró una relación positiva entre la densidad de palomas aumentada en el centro de la ciudad que en los alrededores, y esto se debe principalmente a que las edificaciones en el centro de las ciudades son antiguas (Sacci *et al.*, 2002), y la ciudad de Lima es un claro ejemplo de que esto, se observa una mayor población de palomas de Castilla en el centro de la ciudad que en los alrededores. Por otro lado, todas las muestras tomadas e incubadas de las palomas mensajeras resultaron negativo (Tabla 2) a la presencia del hongo, esto se explica porque a diferencia de las palomas de Castilla que habitan sin ningún tipo de control en zonas urbanas (Skutch, 1989), las palomas mensajeras tienen propietarios que llevan un manejo productivo específico para el mantenimiento de estas especies. Según Castelló (2013) el manejo de los palomares es importante para evitar cualquier tipo de contaminación, por ejemplo, el palomar debe estar ubicado en una zona despejada, de tal forma que el sol penetre el palomar para disminuir la carga microbiana patógena; otro punto a tener en cuenta es la densidad animal por palomar (1 m<sup>3</sup> de aire por pareja), debe tener ventanas que permitan una buena ventilación.

Asimismo, la limpieza debe ser diaria con rasquetas para remover las excretas que quedan adheridas al suelo y posteriormente la desinfección. Entre los colombófilos del país la limpieza consiste básicamente en la remoción de excretas, se desinfecta con amonio cuaternario y se flamean los palomares cada 7 días; algunos de ellos también utilizan el creso. Por estas razones, al no

encontrar rangos de temperatura y humedad adecuados, el hongo potencialmente no ha crecido en los palomares (comunicación personal).

## VIII. CONCLUSIONES

- La frecuencia de *Histoplasma capsulatum* es 0.41% en heces de palomas domésticas (*Columba livia*) en la ciudad de Lima, Perú.
- El programa de simulación estocástica beta-pert (@Risk) determinó una prevalencia mínima de 0.369% y máxima de 0.451% de *Histoplasma capsulatum* en heces de palomas domésticas (*Columba livia*) en la ciudad de Lima, Perú.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- Abidi F, Roh H, Keath E. Identification and characterization of a phase-specific, nuclear DNA binding protein from dimorphic pathogenic fungus *Histoplasma capsulatum*. *Infection and Immunity*. 1998; 66(8): 3867 – 3873.
- Acha P, Szyfres B. Zoonosis. Tercera Edición. Washington: Organización Panamericana de la Salud; 2001.
- Acuña S, Sehtman A, Donatti L, Tiraboschi N, Allevato M, Cabrera H. Histoplasmosis diseminada crónica. A propósito de un caso con características clínicas inusuales. *Actualizaciones Terapéuticas Dermatológicas*. 2008; 31: 38 – 43.
- Ajello L. Relationship of *Histoplasma capsulatum* to avian habitats: A review. *Public Health Reports*. 1964; 79(3): 266 – 270.
- Ajello L, Briceño – Maaz T, Campins H, Moore J. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from an oil bird (*Steatornis caripensis*) cave in Venezuela. *Micopathologia*. 1960; 12(3): 199 – 206.
- Ali S, Allah B, Hussain I, Sajid M, Rafique M. Ecology of feral pigeon (*Columba livia*) in urban áreas of Rawalpindi/Islamabad, Pakistan. *Pakistan Journal of Zoology*. 2013; 45(5): 1229 – 1234.
- Alva E, Vásquez J, Frisancho O, Yoza M, Yábar A. Histoplasmosis colónica como manifestación diagnóstica de SIDA. *Revista de Gastroenterología del Perú*. 2010; 30(2): 163 – 166.
- Amolsch A, Wax J. Histoplasmosis in infancy, report of a case. *The American Journal of Pathology*. 1939; 15(4): 477 – 482.
- Barbero A. The battle: A new history of Waterloo. Reprinted Edition. California: Walker & co; 2006.
- Berliner M. *Histoplasma capsulatum*: Effects on pH on the yeast and mycelial phases in vitro. *Sabourandia*. 1973; 11: 267 – 270.
- Blechman A. Pigeons: The fascinating saga of the world's most revered and reviled bird. Reprint edition. New York: Grove/Atlantic, Inc; 2006.

- BMJ. Histoplasmosis. The British Medical Journal. 1945; 2(4412): 125-126.
- Borges-Walmsley M, Walmsley A. cAMP signalling in pathogenic fungi: controls of dimorphic switching and pathogenicity. Trends in Microbiology. 2000; 8(3): 133 – 140.
- Brömel C, Sykes J. Histoplasmosis in dogs and cats. Clinical Techniques in Small Animal Practice. 2005; 20(4): 227 – 232.
- Brummer E, Stevens D. Antifungal mechanisms of activated murine bronchoalveolar or peritoneal macrophages for *Histoplasma capsulatum*. American Journal of Clinical and Experimental Immunology. 1995; 102: 65 – 70.
- Bullock W, Wright S. Role of adherence-promoting receptors, CR3, LFA-1, and p150,95, in binding of *Histoplasma capsulatum* by human macrophages. The Journal of Experimental Medicine. 1987; 165: 195 – 210.
- Cáceres D, Gómez B, Restrepo A, Tobón A. Histoplasmosis y sida: factores de riesgos clínicos y de laboratorio asociados al pronóstico de la enfermedad. Revista Infectio. 2010; 16(supl 3): 44 – 50.
- Casanovas L, De Simón M, Ferrer M, Arqués J, Monzón G. Intestinal carriage of campylobacters, salmonellas, yersinias, and listerias in pigeons in the city of Barcelona. Journal of Applied Bacteriology. 1995; 78: 11 – 13.
- Castelló S. Colombofilia estudio completo de las palomas mensajeras. Reprinted edition. London: Forgotten books; 2014.
- Castillo J. Anacreonte, Safo y Tirteo. Madrid: Imprenta Real; 1832.
- [CDC] Centers for Disease Control and Prevention. [Internet]. United States: Centers for Disease Control and Prevention; [Consultado el 11 de Mayo de 2015]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/fungal/diseases/histoplasmosis/>
- [CDC] Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of histoplasmosis among travelers returning from El Salvador – Pennsylvania and Virginia, 2008. Morbidity and Mortality Weekly Report. 2008; 57(50): 1349 – 1353.
- [CFSPH] The Center for Food Security and Public Health. Clamidiosis aviar. Institute for International Cooperation in Animal Biologics. Iowa State University. 2009.
- Cermeño J, Hernández I, Cabello I, Orellán Y, Albornoz R, Padrón E, Godoy G. *Cryptococcus neoformans* and *Histoplasma capsulatum* in dove's (*Columbia livia*) excreta in Bolívar State, Venezuela. Revista Latinoamericana de Microbiología. 2006; 48(1): 6 – 9.
- Conces D, Stockberger S, Tarver R, Wheat L. Disseminated histoplasmosis in AIDS: finding on chest radiographs. American Journal of Roentgenology. 1993; 160: 15 – 19.
- Daniels L, Berliner M, Campbell C. Varying virulence in rabbits with different filamentous types of *Histoplasma capsulatum*. Journal of Bacteriology. 1968; 96(5): 1535 – 39.
- Digue N, Pattan S, Bhawar S, Gaware V, Hole M, Chavan P, Parjane S. Darling's disease: a review. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2009; 1(1): 88 – 101.

- Draheim J, Mitchell J, Elton N. Histoplasmosis: fourth case report from the canal zone. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 1951; 31(1): 753 – 760.
- Eissenberg L, Goldman W, Schlesinger P. *Histoplasma capsulatum* modulates the acidification of phagolysosomes. *The Journal of Experimental Medicine*. 1993; 177: 1605 – 1611.
- Emmons C. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil. *Public Health Reports*. 1949; 64(28): 892 – 896.
- Emmons C. Histoplasmosis: PHR review. *Public Health Reports*. 1957; 72(11): 981 – 988.
- Ferman L, Peter H, Montalti D. A study of feral pigeon *Columba livia* var. in urban and suburban áreas in the city of Jena, Germany. *Arxius de Miscel·lània Zoològica*. 2010; 8: 1 – 8.
- Fernández C, Illnat M, Martínez G, Perurena M, Monroy E. Una actualización acerca de histoplasmosis. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2011; 63(3): 189 – 205.
- Gasparetto E, de Carvalho A, Alberton J, Davaus T, Albonei M, Yamauchi E, Bleggi L. Histoplasmosis como lesão isolada do sistema nervoso central em paciente imunocompetente. *Arquivos de Neuro – Psiquiatria*. 2005; 63(3-A): 689 – 692.
- González D, Silva F, Moreno L, Cerda F, Donoso S, Cabello J, López J. Detección de algunos agentes zoonóticos en la paloma doméstica (*Columba livia*) en la ciudad de Chillán, Chile. *Revista Chilena de Infectología*. 2007; 24(3): 199 – 203.
- Goodwin R, Snell J. The enlarging histoplasmosis. *American Thoracic Society Journals*. 1969; 100(1): 1 – 12.
- Goos R. Germination of the macroconidium of *Histoplasma capsulatum*. *Micología*. 1964; 56(5): 662 – 671.
- Gutiérrez S, Flores O, Alonso D, Macías R, Espino E. Enfermedad del viajero. Histoplasmosis diseminada en paciente inmunocompetente. *Medicina Interna de México*. 2014; 30: 335 – 338.
- Haag-Wackernagel D. Regulation of the street pigeon in Basel. *Wildlife Society Bulletin*. 1995; 23(2): 256 – 260.
- Hansmann GH, Schenken JR. A unique infection in man caused by a new yeast-like organism, a pathogenic member of the genus *Sporobolus*. *Am. J. Path.* 1934; 10(6): 731 – 738.
- Harlin R. Pigeons. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*. 1994; 24: 157 – 173.
- Harris E. Report for the control of the pigeon population in Trafalgar Square. Reporte no publicado de Department National Heritage.
- Howard D, Rafie R, Tiwari A, Faull K. Hydroxamate siderophores of *Histoplasma capsulatum*. *Infection and Immunity*. 2000; 68(4): 2338 – 2343.
- [INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática [Internet]. Perú: Dirección Nacional de Estadística e Informática Departamental; [Consultado el 31 de Mayo de 2015]. Disponible en: [https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones\\_digitales/Est/Lib0510/Libro.pdf](https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib0510/Libro.pdf)
- Johnston R. Feral pigeons. *The Kansas School Naturalist*. 1998; 45(2): 3 – 15.

- Kapperud G, Stenwig H, Lassen J. Epidemiology of *Salmonella typhimurium* O:4 – 12 infection in Norway. *American Journal of Epidemiology*. 1998; 147(8): 774 – 782.
- Kauffman C. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. *Clinical Microbiology Reviews*. 2007; 20(1): 115 – 132.
- Kauffman C. Histoplasmosis. *Clinics in Chest Medicine*. 2009; 20(1): 115 – 132.
- Keath E, Abidi F. Molecular cloning and sequence analysis of yps-3, a yeast-phase-specific gene in the dimorphic fungal pathogen *Histoplasma capsulatum*. *Microbiology*. 1994; 140: 759 – 767.
- Lafuente M. *Historia General de España*. Navarra: Urgoiti Editores; 2002.
- Lazarus A, Ajello L. Aislamiento de *Histoplasma capsulatum* del suelo de una cueva en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 1955; 9(2): 5 – 12.
- López C. Dimorfismo y patogenia de *Histoplasma capsulatum*. *Revista Argentina de Microbiología*. 2006; 38: 235 – 242.
- Medoff G, Kobayashi G, Painter A, Travis S. Morphogenesis and pathogenicity of *Histoplasma capsulatum*. *Infection and Immunity*. 1987; 55(6): 1355 – 1358.
- Menges R, Habermann R. Experimental avian histoplasmosis. *American Journal of Veterinary Research*. 1955; 16(59): 314 – 320.
- Monroy E, Fernández C, Díaz R, Martínez G, Illnat M, Perurena M. Evaluación de cuatro métodos de extracción del ADN de *Histoplasma capsulatum* y su uso en reacciones de PCR. *Vaccinotor*. 2014; 23(2): 49 – 56.
- [MDJM] Municipalidad de Jesús María. Ordenanza N° 364 – MDJM. Ordenanza que protege la salud humana y de las palomas urbanas. 2011.
- [MDSM] Municipalidad de San Miguel. Ordenanza N° 288 – MDSM. Ordenanza que protege la salud humana y establece medidas de control en el crecimiento poblacional de las palomas en el distrito de San Miguel. 2015.
- [MSB] Municipalidad de San Borja. Ordenanza N° 458 – MSB. Ordenanza que protege la salud humana ante la proliferación de palomas en el distrito de San Borja. 2011.
- [MSS] Municipalidad de Santiago de Surco. Ordenanza N° 334 – MSS. Régimen de aplicación de sanciones y cuadro de infracciones y sanciones de la municipalidad de Santiago de Surco. 2009.
- Muñoz C, Cano L, González A. Detección e identificación de *Histoplasma capsulatum* por el laboratorio: de los métodos convencionales a las pruebas moleculares. *Revista Infección*. 2010; 14(S2): S145 – S158.
- Negroni R, Arechavala A, Maiolo E. Histoplasmosis clásica en pacientes inmunocomprometidos. *Medicina Cutánea Ibero-Latino-Americana*. 2010; 38(2): 59 – 69.
- Newman S, Bucher C, Rhodes J, Bullock W. Phagocytosis of *Histoplasma capsulatum* yeasts and microconidia by human cultured macrophages and alveolar macrophages. *The Journal of Clinical Investigation*. 1990; 85: 223 – 230.

- Newman S, Gootee L, Gabay J. Human neutrophil-mediated fungistasis against *Histoplasma capsulatum*. The Journal of Clinical Investigation. 1993; 92: 624 – 631.
- Newman S, Gootee L, Brunner G, Deepe G. Chloroquine induces human macrophage killing of *Histoplasma capsulatum* by limiting the availability of intracellular iron and is therapeutic in a murine model of histoplasmosis. The Journal of Clinical Investigation. 1994; 93: 1422 – 1429.
- Newman S, Gootee L, Gabay J, Selsted M. Identification of constituents of human neutrophil azurophilic granules that mediate fungistasis against *Histoplasma capsulatum*. Infection and Immunity. 2000; 68(10): 5668 – 5672.
- Newman S. *Histoplasma capsulatum*: diary of an intracellular survivor. En: Richard Calderone & Ronald Cihlar editors. Fungal pathogenesis, principles and clinical applications. Basel, Marcel Dekker, Inc. 2004. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=II1EnrYrkPMC&pg=PA81&lpg=PA81&dq=Histoplasma+capsulatum:+diary+of+an+intracellular+survivor.&source=bl&ots=fSdWXGoHC1&sig=0z8V1-wH6IWpZMjb2-farHhsjvo&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjgip7axe3KAhVJpR4KHTqzCgAQ6AEIHTAA#v=onepage&q=Histoplasma%20capsulatum%3A%20diary%20of%20an%20intracellular%20survivor.&f=false>
- Price E. Histoplasmosis – Its relationship to birds. University of Nebraska. Internet Center for Wildlife Damage Management. 1966.
- Prior J, Cole C, Torbet V. An evaluation of the histoplasmin reaction in the detection of naturally occurring histoplasmosis in dogs. Public Health Reports. 1970; 64(48): 1562 – 1566.
- Ramírez O, Amador M, Camacho L, Carranza I, Chaves E, Moya A, Vega M, Vardesia J, Quiroz W. Conocimiento popular de la paloma de Castilla (*Columba livia*) en el parque central de Alajuela. Zeledonia. 2008; 12(1): 14 – 19.
- Ramos C, Fuertes M, Cortez F, Carayhua D. Histoplasmosis cutánea de tipo ulcerosa. Piel. Formación continuada en dermatología. 2015; 30(5): 1 – 3.
- Rezabek G, Donahue J, Giles R, Petrites M, Poonacha K, Rooney J, Smith B, Swerczek T, Tramontin R. Histoplasmosis in horses. Journal of Comparative Pathology. 1993; 109: 47 – 55.
- Rooks R. Air-borne *Histoplasma capsulatum* spores. Science, New Series. 1954; 119(3090): 385 – 386.
- Rosario I, Acosta B, Colom F. La paloma y otras aves como reservorio de *Cryptococcus* spp. Revista Iberoamericana de Micología. 2008; 25: S13 – S18.
- Sacchi R, Gentilli A, Razetti E, Barbieri F. Effects of building features on density and flock distribution of feral pigeons *Columba livia* var. *domestica* in an urban environment. Canadian Journal of Zoology. 2002; 80(1): 48 – 54.
- Sánchez-Saldaña L, Galarza C, Cortéz F. Infecciones micóticas sistémicas o profundas: histoplasmosis. Revista Dermatológica del Perú. 2010; 20(1).
- Shacklette M, Diercks F, Gale N. *Histoplasma capsulatum* recovered from bat tissues. Science, New Series. 1962; 135(3509): 1135.
- Silverman F., Schwarz J, Lahey M, Carson R. Histoplasmosis. American Journal of Medicine. 1955; 19(3): 410 – 459.



- Skutich A. Guía de aves de Costa Rica. Segunda edición. Santo Domingo de Heredia: InBio; 1998.
- Taylor M, Espinosa M, Iturbe R, Rico B, Casasola J, Goodsaid F. Evaluation of phagolysosome fusion in acridine orange stained macrophages infected with *Histoplasma capsulatum*. American Journal of Clinical and Experimental Immunology. 1989; 75: 466 – 470.
- Timmermann M, Woods J. Ferric reduction is a potential iron acquisition mechanism for *Histoplasma capsulatum*. Infection and Immunity. 1999; 67(12): 6403 – 6408.
- Tewari R, Berkhout F. Comparative pathogenicity of albino and brown types of *Histoplasma capsulatum* for mice. The Journal of Infection Diseases 1972; 125(5): 504 – 508.
- Toro H. Palomas: Historia, presencia en Chile y riesgos asociados. Departamento de Patología Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Revista Tecnovet. 2000; 6(2).
- Torres J, Ribas E, Gascón J, López O, Espasa M. Utilidad diagnóstica de la prueba intradérmica con histoplasmina, en áreas no endémicas de histoplasmosis. Revista Iberoamericana de Micología. 2000; 17: 97 – 101.
- Weaver C, Sheehan K, Keath E. Localization of a yeast-phase-specific gene product to the cell wall in *Histoplasma capsulatum*. Infection and Immunity. 1996; 64(8): 3048 – 3054.
- Wheat L. Histoplasmosis: a review for clinicians from non – endemic areas. Mycoses. 2006; 49: 274 – 282.
- Wheat L, Freifeld A, Kleiman M, Baddley J, McKinsey D, Loyd J, Kauffman C. Clinical practice guidelines for management of patients with histoplasmosis: 2007 update by the Infectious Disease Society of America. Clinical Infectious Disease. 2007; 45(7): 807 – 825.
- Woods A, Wahlen H. The probable role of benign histoplasmosis in the etiology of granulomatous uveitis. Transactions of the American Ophthalmological Society. 1959; 57: 318 – 343.
- Woods J. *Histoplasma capsulatum* molecular genetics, pathogenesis, and responsiveness to its environment. Fungal Genetics and Biology. 2002; 35: 81 – 97.
- Zeidberg L, Ajello L. Environmental factors influencing the occurrence of *Histoplasma capsulatum* and *Microsporium gypseum* in soil. Journal of Bacteriology. 1954; 68(2): 156 – 159.

## X. ANEXOS

Cuadro 1.- Adaptaciones ambientales de *Histoplasma capsulatum*

Environmental stimulus or condition	<i>H. capsulatum</i> feature for response, avoidance, survival, or modulation
Temperature of 37°C	Morphogenesis or dimorphic transition from mold to yeast phase Yeast phase-specific or temperature-regulated gene expression (e.g., <i>yps-3</i> , <i>CBP1</i> , <i>ole1</i> , <i>hsp</i> genes)
Oxidative and/or nitrosative stress	Host cell entry via $\beta 2$ integrins rather than traditional opsonophagocytosis Catalase production Alternate oxidase production
Deleterious host intracellular compartmentalization with hydrolytic degradative enzymes and acid pH	Protein synthesis  Survival in phagolysosome Prevention or avoidance of phagosome-lysosome fusion Modulation of microenvironmental pH
Iron limitation	Partial exclusion of host ATPase/proton pump from vacuole membrane Siderophore production Production of ferric reducing activities (extracellular ferric reductase, extracellular ferric reductant, cell surface ferric reducing agent)
Uracil limitation	Modulation of microenvironmental pH <i>URA5</i> expression and orotidine 5'-monophosphate pyrophosphorylase production
Infection of host macrophage or animal	Gene upregulation (e.g., p100 homolog gene) or specific expression (e.g., <i>RANI</i> homolog antisense transcript)
Late growth phase or high cell density	Cell wall $\alpha$ -1,3-glucan production

Fuente: Woods, 2002.

Cuadro 2.- Capacidades genéticas moleculares para la manipulación experimental de *Histoplasma capsulatum*.

Tool, technique, or application	Reference
Chemical transformation using lithium acetate and polyethylene glycol	Worsham and Goldman, 1990
Electrotransformation	Woods <i>et al.</i> , 1998a
Selectable/counterselectable marker <i>URA5</i> and uracil-auxotrophic recipient strains	Woods and Goldman, 1992; Woods <i>et al.</i> , 1998a,b; Worsham and Goldman, 1988, 1990
Dominant selectable marker <i>hph</i> encoding hygromycin resistance	Woods <i>et al.</i> , 1998a
Reporter genes encoding $\beta$ -galactosidase ( <i>lacZ</i> ) and GFP	Kügler <i>et al.</i> , 2000b; Patel <i>et al.</i> , 1998; Woods <i>et al.</i> , 1998a
Episomes: telomeric linear plasmids	Woods and Goldman, 1992, 1993; Woods <i>et al.</i> , 1998a
Random mutagenesis via integrative transformation	Retallack <i>et al.</i> , 2000
Homologous gene targeting	Sebghati <i>et al.</i> , 2000; Woods <i>et al.</i> , 1998b
Gene overexpression	Fisher <i>et al.</i> , 1999
Recombinant protein production	Fisher and Woods, 2000; Kügler <i>et al.</i> , 2000b
Complementation of mutations	Sebghati <i>et al.</i> , 2000
Promoter trapping for <i>in vivo</i> expression technology	Retallack <i>et al.</i> , 2000

Fuente: Woods, 2002.