



UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO
PROGRAMA DE ESPECIALIDADES EN MICROBIOLOGÍA

*PARACOCCIDIOIDOMICOSIS, CONSIDERACIONES DE UNA MICOSIS
DESATENDIDA*

Trabajo final de investigación aplicada sometido a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Especialidades en Microbiología para optar al grado y título de Especialista en Micología Médica

ANDREA RUIZ MAYORGA

A03761

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

Octubre 2021

DEDICATORIA

A los pacientes que sufren enfermedades fúngicas y sus secuelas, las cuales en muchas ocasiones son menospreciadas y otras veces desatendidas u olvidadas. Que día a día podamos mejorar juntos su calidad de vida por medio del diagnóstico micológico.

AGRADECIMIENTOS

A la educación pública de nuestro país, por medio de la cual obtuve cada uno de los grados académicos que he alcanzado hasta el día de hoy.

Gracias infinitas a mis profesores de especialidad: Dra. Ingrid Salas, Dra. Daniela Jaikel, Dra. Lilliana Sandoval y a mi tutor el Dr. Allan Valverde. Gracias por todas las horas de esfuerzo y dedicación, por mantener viva la micología médica en Costa Rica.

A mis compañeros de especialidad por su alegría y amistad.

A mis compañeros del Hospital San Juan de Dios, gracias por todo el apoyo en cada etapa de este proceso de especialización.

A mi familia, mi mayor tesoro.

A Luis Alberto mi esposo y compañero de mil aventuras. Gracias por estar conmigo siempre.

A Dios, a quien le debo todo lo que soy.

Gracias

**SISTEMA DE ESTUDIOS EN POSGRADO
PROGRAMA DE POSGRADO EN ESPECIALIDADES EN MICROBIOLOGÍA****ACTA-72-2021****Acta presentación de Requisito Final de Graduación Trabajo de Investigación**

Sesión del Tribunal Examinador celebrada el martes 5 de octubre de 2021 con el objeto de recibir el informe oral de la estudiante **Andrea Ruiz Mayorga** carné #**A03761**, quien se acoge al Reglamento General del Sistema de Estudios de Posgrado para presentar el Trabajo Final de Graduación, para optar por el grado académico de **Especialista en Micología Médica**. Están presentes los siguientes miembros del Tribunal Examinador: Allan Valverde Vindas, Esp., quien preside y tutor, Ingrid Salas Campos, MSc. y Mariamalia Cob Delgado, MSc. lectoras.

ARTICULO 1

Quien preside solicita a la postulante realizar la presentación oral de su Trabajo de Investigación titulado: **“Paracoccidioidomicosis: una revisión bibliográfica”**

ARTICULO 2

Terminada la disertación, los miembros del Tribunal Examinador interrogan a la postulante durante el tiempo reglamentario y, una vez concluido el interrogatorio, el Tribunal se retira a deliberar.

ARTICULO 3

El Tribunal Examinador declara el Trabajo Final de Graduación: Aprobado Reprobado

ARTICULO 4

Se da lectura al acta que firman los miembros del Tribunal Examinador y el Postulante, a las 19:47 horas.

Nombre	Firma	No. Cédula
<u>Allan Valverde Vindas, Esp.</u> Quien preside	_____	<u>114290034</u>
<u>Ingrid Salas Campos, MSc.</u>	_____	<u>401380332</u>
<u>Mariamalia Cob Delgado, MSc.</u>	_____	<u>109890002</u>
<u>Andrea Ruiz Mayorga</u> Estudiante	_____	<u>111370280</u>

Observaciones: _____

1. Se solicita modificar el título del trabajo por: *“Paracoccidioidomicosis, consideraciones de una micosis Desatendida”*.

2. Se considera el trabajo merecedor de mención de honor. Por tanto, se solicita proceder con la respectiva asignación.

Nota: Solamente firmarán el acta los responsables de la actividad descrita

Si el trabajo es merecedor de mención de honor anotar en observaciones

TABLA DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
TABLA DE CONTENIDOS	v
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Definición	2
1.2. Sinonimia	2
1.3. Historia	3
2. ETIOLOGÍA	8
2.1. Descripción de los agentes etiológicos	8
2.2. Clasificación taxonómica y aspectos genéticos	10
2.3. Dimorfismo	15
2.3.1. <i>Vías de señalización intracelular del dimorfismo</i>	16
2.3.2. <i>Expresión de genes durante el dimorfismo</i>	17
2.3.3. <i>Otros mecanismos involucrados en el dimorfismo</i>	18
3. ECOLOGÍA	19
3.1. Características del hábitat de <i>Paracoccidioides</i> spp.	19
3.2. El reservorio	20
4. ASPECTOS VETERINARIOS	22
5. EPIDEMIOLOGÍA	24
5.1. Distribución geográfica	24
5.2. Fuente de infección y vía de entrada	27
5.3. Sexo y edad	28
5.4. Período de incubación	32
5.5. Factores predisponentes	32
6. PATOGÉNESIS	37
6.1. Historia natural de la enfermedad	37

6.2. Factores de virulencia	39
6.2.1. Adhesión	40
6.2.1.1. Gp43	41
6.2.1.2. 32 kDa hidrolasa (PbHAD32)	42
6.2.1.3. Proteína de 30kD (Proteína 14-3-3)	42
6.2.1.4. Enolasa	43
6.2.1.5. Malato sintasa (MLT)	43
6.2.1.6. Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH)	44
6.2.1.7. Fructuosa 1,6 bifosfato aldolasa (FBA)	44
6.2.1.8. Triosa fosfato isomerasa	45
6.2.1.9. Isocitrato liasa	45
6.2.1.10. Factor de elongación mitocondrial TufM	46
6.2.1.11. Otras moléculas asociadas a la adhesión: Aconitasa y Fosfolipasa B	46
6.2.2. Dimorfismo: cambios a nivel de la pared celular	48
6.2.3. Mecanismos de defensa contra el estrés ambiental	49
6.2.3.1. Melanina	49
6.2.3.2. Vesículas extracelulares	50
6.2.3.3. Defensa contra el estrés oxidativo	51
6.2.4. Invasión y diseminación	52
6.2.4.1. Rearreglo del citoesqueleto de las células no fagocíticas	53
6.2.4.2. Modulación de la apoptosis de células del hospedero	54
6.2.4.3. Modulación de la transducción de señales en las levaduras	54
6.2.4.4. Formación de biopelículas	55
6.2.4.5. Otros mecanismos de perpetuación del hongo	56
7. RESPUESTA INMUNE	60
7.1. Respuesta inmune innata	60
7.1.1. Respuesta innata celular	61
7.1.1.1. Receptores PRRs	62
7.1.1.2. Leucocitos polimorfonucleares y células NK	64
7.1.1.3. Macrófagos, ROS y RNS	65
7.1.1.4. Células dendríticas y otras células presentadoras de antígeno (APC)	67
7.1.2. Respuesta innata humoral	67
7.1.2.1. Sistema del complemento	68
7.1.2.2. Citoquinas	68
1) IFN- γ	68
2) IL-12	69
3) IL-4	69
4) IL-10	70
5) TNF- α	70
7.2. Respuesta inmune adaptativa	71
7.2.1. Respuesta humoral por anticuerpos	72
7.2.2. Respuesta adaptativa celular	73
7.2.2.1. Linfocitos T CD4 ⁺ y los CD8 ⁺ en la PCM	73
7.2.2.2. Linfocitos T reguladores y sus funciones en PCM	75
7.3. El granuloma en la PCM	78
7.4. Modulación de la respuesta inmune por <i>Paracoccidioides</i> spp.	81
7.4.1 Modulación de la respuesta innata	82
7.4.2 Modulación de la respuesta adaptativa	83

7.5. Vacunas contra <i>Paracoccidioides</i> spp. _____	84
8. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA PCM _____	86
8.1. La paracoccidioidomicosis como infección _____	86
8.2. Formas clínicas de la paracoccidioidomicosis _____	87
8.2.1. Forma aguda/subaguda (juvenil) _____	87
8.2.2. Forma crónica (adulto) _____	89
8.2.3. Forma residual _____	90
9. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LA PCM _____	92
9.1. Lesiones mucocutáneas _____	92
9.2. Lesiones linfáticas o ganglionares _____	93
9.3. Involucración pulmonar _____	94
9.4. Involucración ósea y formas viscerales diseminadas _____	96
9.5. Resumen de los diagnósticos diferenciales de la PCM _____	98
10. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE LA PCM _____	102
10.1. Diagnóstico micológico _____	102
10.1.1. Fase preanalítica _____	102
10.1.2. Examen directo _____	102
10.1.2. Cultivo de <i>Paracoccidioides</i> spp. _____	104
10.2. Diagnóstico histopatológico _____	107
10.3. Diagnóstico serológico _____	109
10.3.1. Intradermorreacción _____	110
10.3.2. Fijación del complemento _____	111
10.3.3. Precipitación en tubo _____	112
10.3.4. Inmunodifusión en agar _____	114
10.3.5. Técnica de aglutinación en látex _____	116
10.3.6. Inmunoelectroforesis y contraelectroforesis _____	117
10.3.6. Inmunobinding y Western blot _____	118
10.3.7. Discusión sobre las técnicas serológicas de diagnóstico de PCM _____	119
10.4. Diagnóstico molecular _____	120
10.4.1. PCR convencional _____	121
10.4.2. PCR anidado y PCR cuantitativo _____	122
10.4.3. Técnicas basadas en PCR para el tipaje de <i>Paracoccidioides</i> spp. _____	122
10.4.4. Amplificación isotérmica _____	124
10.4.5. Hibridación <i>in situ</i> _____	124
10.4.6. Espectrometría de masas y espectrometría infrarroja _____	124
10.4.7. Discusión sobre las técnicas moleculares de diagnóstico de PCM _____	127
10.5. Algoritmo propuesto para el diagnóstico de la PCM _____	127
11.1. Manejo terapéutico de la PCM leve y moderada _____	130
11.2. Manejo terapéutico de la PCM severa _____	131
11.3. Alternativas terapéuticas en poblaciones especiales _____	131
11.3.1. Embarazo _____	131

11.3.2. <i>PCM infantil</i>	132
11.3.3. <i>Pacientes en fase SIDA</i>	132
11.3.4. <i>Pacientes con patología renal</i>	133
11.3.5. <i>Pacientes con patología hepática</i>	133
11.4. Resistencia a los tratamientos contra la PCM	134
11.5. Uso de esteroides en el tratamiento contra la PCM	135
11.6. Moléculas antifúngicas en estudio	135
11.6.1. <i>Galato de decilo</i>	136
11.6.2. <i>Lectina ArtinM</i>	136
11.6.3. <i>Péptidos antibacterianos: el mastoparán</i>	137
11.6.4. <i>Derivados fúngicos: el farnesol y la citocalasina E</i>	137
11.7. Tratamientos utilizados en Costa Rica para la PCM	138
12. MODELOS DE INFECCIÓN	140
CONCLUSIONES	142
REFERENCIAS	146

RESUMEN

El presente trabajo corresponde a una revisión bibliográfica sobre el estado del conocimiento de las especies de *Paracoccidioides* spp. y los cuadros clínicos asociados a este hongo. La revisión inicia con un marco histórico sobre el desarrollo del conocimiento de la paracoccidioidomicosis a nivel latinoamericano, incluyendo un apartado sobre Costa Rica. Se detallan temas relacionados a la etiología, ecología, aspectos veterinarios y la epidemiología de la micosis.

Adicionalmente, se incluyen temas como la patogenicidad y los factores de virulencia de *Paracoccidioides* spp, así como la respuesta inmune que se desarrolla en el hospedero. Por último, y no menos importante, se describe lo encontrado en la literatura sobre los tópicos de diagnóstico diferencial, diagnóstico de laboratorio, el tratamiento contra la enfermedad, y las conclusiones del presente trabajo.

Este trabajo pretende recopilar el conocimiento básico sobre esta micosis y los últimos avances científicos reportados en la literatura en el tema de la paracoccidioidomicosis y su agente etiológico.

ABSTRACT

In this document, a literature review of the state of scientific knowledge about *Paracoccidioides* spp. species and their associated clinical manifestations was made. This review starts with a historical frame about knowledge development about paracoccidioidomycosis in Latin America, including Costa Rica. Etiology, ecology, veterinary aspects, and this mycosis epidemiology are reviewed.

Additionally, pathogenicity and virulence factors of the causing agent, *Paracoccidioides* spp., are included, as well as the host immune response to the fungus. Finally, topics such as differential diagnosis, laboratory diagnosis and the disease treatment are discussed, and the concluding remarks of this literature review are detailed.

This work tries to summarize basic knowledge about this mycosis and the latest scientific advances reported in literature about paracoccidioidomycosis and its etiological agent.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Moléculas involucradas en la virulencia de <i>Paracoccidioides</i> spp.....	58
Cuadro 2. Resumen de citoquinas involucradas según respuesta de células T colaboradoras.	81
Cuadro 3. Resumen de los diagnósticos diferenciales de la PCM.....	98
Cuadro 4. Composición de los medios Fava Neto, Kelly y Pine.....	105
Cuadro 5. Esquema terapéutico para el manejo de la PCM.....	134
Cuadro 6. Lesiones asociadas a PCM en Costa Rica y el tratamiento reportado.	138

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotografías de las observaciones microscópicas del tercer caso de PCM reportado en Costa Rica. ...	6
Figura 2. Características morfológicas de <i>Paracoccidioides</i> spp.	9
Figura 3. Morfología de las conidias de <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> y <i>P. lutzii</i>	10
Figura 4. Estructuras observadas en experimentos a apareamiento de <i>Paracoccidioides</i> spp.	12
Figura 5. Árbol filogenético esquemático de las especies del género <i>Paracoccidioides</i>	13
Figura 6. Esquema del fenómeno de dimorfismo en <i>Paracoccidioides</i> spp.	16
Figura 7. Esquema de la ecología de <i>Paracoccidioides</i> spp.	20
Figura 8. Evolución del conocimiento de la infección de <i>Paracoccidioides</i> spp. en animales.	23
Figura 9. Áreas endémicas de PCM.	25
Figura 10. Mapa de categorización de las áreas de endemidad de la PCM.	27
Figura 11. Inducción del dimorfismo por temperatura en <i>Paracoccidioides</i> spp. y efecto del estradiol.	30
Figura 12. Diagrama de la región de los genes HLA (MHC) y sus clases en el cromosoma 6.	34
Figura 13. Flujograma de la historia natural de la PCM.	39
Figura 14. Representación esquemática de la afinidad de las adhesinas de <i>Paracoccidioides</i> spp.	48
Figura 15. Adaptación, defensa contra el estrés ambiental y diseminación de <i>Paracoccidioides</i> spp.	57
Figura 16. Vías inmunológicas de respuesta ante la interacción entre <i>Paracoccidioides</i> spp. y el hospedero.	75
Figura 17. Influencia de los PRRs en la expansión de linfocitos T _{Reg} en la PCM.	78
Figura 18. Modelo para explicar las respuestas inmunes observadas durante diferentes formas de PCM.	80
Figura 19. Manifestaciones clínicas de la PCM juvenil en niños y adultos.	88
Figura 20. Manifestaciones clínicas de la PCM crónica o adulta.	90
Figura 21. Diagnósticos diferenciales de la PCM mucocutánea.	93
Figura 22. Diagnósticos diferenciales de la PCM linfática o ganglionar.	94
Figura 23. Histopatología de los diagnósticos diferenciales de la PCM pulmonar.	95
Figura 24. Diagnóstico diferencial de PCM con fibrosis pulmonar y coinfección por histoplasmosis.	95
Figura 25. Diagnósticos diferenciales de la PCM con involucramiento óseo.	96
Figura 26. Diagnóstico diferencial de PCM en una esplenomegalia masiva.	96
Figura 27. Diagnóstico diferencial de neuroparacoccidioidomicosis.	97
Figura 28. Diagnóstico diferencial de PCM en caso con involucración gastrointestinal.	97
Figura 29. Levaduras multigemantes en examen directo positivo por PCM.	103
Figura 30. Cultivos en medios sólidos a temperaturas de 25-30°C y a 37°C de <i>Paracoccidioides</i> spp.	104
Figura 31. Morfología microscópica de <i>Paracoccidioides</i> spp. incubados a diferentes temperaturas.	107
Figura 32. Ulcera de la cavidad oral teñida con hematoxilina-eosina positiva por PCM.	108
Figura 33. Tinciones especiales para hongos mostrando levaduras multigemantes de <i>Paracoccidioides</i> spp.	109
Figura 34. Principio de la prueba serológica de fijación del complemento para el diagnóstico de la PCM. ...	112
Figura 35. Fundamento de la técnica de precipitación en tubo para el diagnóstico serológico de la PCM.	113

Figura 36. Diagnóstico serológico de la PCM por doble inmunodifusión radial.	115
Figura 37. Fundamento de la aglutinación en látex para el diagnóstico de PCM.....	116
Figura 38. Fundamento de la prueba de contrainmunolectroforesis.	117
Figura 39. Fundamento de la técnica de diagnóstico serológico Dot-ELISA o immunobinding.	118
Figura 40. Identificación de hongos miceliales por espectrometría de masas.	126
Figura 41. Algoritmo de diagnóstico de la PCM, según el tipo de muestra para análisis.	128

LISTA DE ABREVIATURAS

APC	Células presentadoras de antígeno
CD	Células dendríticas
CIE	Contrainmunolectroforesis
CLR	Receptores de lectina tipo C
FBA	Fructuosa 1,6 bifosfato aldolasa
FC	Fijación de complemento
FDA	Food and Drug Administration
FISH	Hibridación fluorescente <i>in situ</i>
FT-IR	Espectrometría infrarroja con transformación de Fourier
GAL-3	Galectina 3
GAPDH	Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa
GM-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos
HE /H&E	Hematoxilina Eosina
HLA	Human Leukocyte Antigens
HSP	Proteínas de choque térmico
ID	Inmunodifusión
IDO	Indolamina 2,3 dioxigenasa
IFN	Interferón
IGS	Intergenic Spacer Regions
IL	Interleuquina
ITS	<i>“Internal Transcribed Spacer Regions”</i>
LAMP	Amplificación isotérmica mediada por bucle
LINES	<i>“Long interspread nuclear element”</i>
LTR	<i>“Long terminal repeat”</i>
MALDI-TOF	<i>“Matrix-assisted laser desorption/ionization -Time of flight”</i>
MAT	<i>“Mating Type”</i>
MHC	<i>“Major Histocompatibility Complex”</i>
MIC	Concentración mínima inhibitoria
MLSA	<i>“Multilocus sequence analysis”</i>
MLT	Malato sintasa
MR	Receptores de manosa
NK	Células asesinas naturales
NO	Óxido nítrico
OMS	Organización Mundial de la Salud

OPS	Organización Panamericana de la Salud
PABA	Ácido aminobenzoico
PAMPs	Patrones moleculares asociados a patógenos
PAS	Ácido peryódico de Schiff
PbST	Serina tiol proteinasa extracelular
PCM	Paracoccidioidomicosis
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PMN	Leucocitos polimorfonucleares
PRRs	Receptores reconocedores de patrones
RAPD	Poliformismo de ADN aleatoriamente amplificado
rDNA	Operones ribosómicos
RFLP	<i>“Restriction fragment length polymorphism”</i>
RNS	Especies reactivas del nitrógeno
ROS	Especies reactivas del oxígeno
RT	Retrotranscripción
SINEs	<i>“Short interspread nuclear element”</i>
SNC	Sistema nervioso central
SOD	Superóxido dismutasa
SSR	<i>“Short sequence repeat”</i>
T _{reg}	Células T reguladoras
TAP	<i>“Transporter associated with Antigen Processing”</i>
TGF	Factor de crecimiento transformador
T _H	Linfocitos T cooperadores
TLR	<i>“Toll like receptor”</i>
TMX-SMX	Trimetoprim sulfametoxazol
TNF	Factor de necrosis tumoral
TPI	Triosa fosfato isomerasa
TUB1	Gen de la α tubulina



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

SEP Sistema de
Estudios de Posgrado

Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.

Yo, Andrea Ruiz Mayorga, con cédula de identidad 111370280, en mi condición de autor del TFG titulado Paracoccidioidomicosis, consideraciones de una micosis desatendida

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI NO *

*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: _____ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

FIRMA ESTUDIANTE

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.