

# **ARTÍCULO ORIGINAL**

# La avispa amarilla (Polistes mexicana): nuevo vector de actinomicetos en micetoma

The yellow wasp (Polistes mexicana): new vector of actinomycetum in mycetoma

Abel Martínez Reyes¹, Hernán Cruz López¹, Miguel A. Aburto Sánchez¹, Luis Isauro García², Miguel A. Camacho², Misaél Gómez Franco¹ ¹Facultad de Medicina, Universidad Veracruzana, Xalapa, Ver., México ²Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver., México

Martínez-Reyes A, Cruz-López H, Aburto-Sánchez MA, Isauro-García L, Camacho MA, Gómez-Franco M. La avispa amarilla (Polistes mexicana): nuevo vector de actinomicetos en micetoma Rev Med UV 2008; 8(1): 19-24.

## **RESUMEN**

Se presenta el caso de una mujer de 47 años de edad con una dermatosis característica de micetoma en la región dorsal izquierda del tronco. En la biopsia de piel se demostró la formación de granos característicos en tinción de PAS y Grocott. En el cultivo en medio de Sabouraud se reportó crecimiento de colonias de Nocardia, por lo que se indica tratamiento a la paciente a base de sulfas, amoxicilina y cefalosporinas. La paciente informó haber recibido una picadura de una avispa amarilla (Polistes mexicana) en el dorso del lado izquierdo a nivel de D7 y haber desarrollado las lesiones fistulosas en forma centrífuga a la picadura de la avispa. El objetivo del presente estudio es demostrar si la avispa amarilla (Polistes mexicana) es un posible vector de actinomicetos en micetoma. Para realizar los estudios, se inició la recolección de avispas en el sitio donde la paciente fue agredida; se incubaron a 37°C en medio agar Sabouraud, y se detectó crecimiento microbiano característico de actinomicetos; y al hacer tinciones de Gram y Ziehl Neelsen, se encontraron hifas y cocobacilos gram positivos y ácido-alcohol resistentes. Al purificar la cepa y realizar la prueba de hidrólisis de caseína, resultó positiva a *Nocardia brasiliensis*. Así, nuestros resultados indican que la avispa amarilla (*Polistes mexicana*) podría ser la responsable de inocular los actinomicetos con su picadura y provocar el desarrollo de micetoma, y por lo tanto es un nuevo vector de actinomicetos en micetoma.

Palabras clave: micetoma, avispa amarilla.

#### **ABSTRACT**

A 47 year-old woman developed a painful wound with fistulae characteristic of mycetoma in the left side of the dorsal region. A skin biopsy of the lesion showed characteristics grains in PAS and Grocott stains, and the Sabouraud agar culture showed growth of colonies of *Nocardia*. Therefore, treatment with sulfas, amoxicillin and cephalosporins was indicated to the patient. The patient reported to be a bite by a yellow wasp (*Polistes mexicana*) in the dorsum in the left side at D7 level and refers to have developed a localized fistulae injury in centrifugal form to the

Recíbido 15/10/2007 - Aceptado 22/04/2008

wasp bite. The objective of the present study is to demonstrate if the yellow wasp (*Polistes mexicana*) is a possible vector of actinomycetum in mycetoma.

Then we begin collection of wasps in the site where the patient was assailed; the wasps were incubating in Sabouraud agar at 37 °C, were detected microbial growth characteristic of actinomycetum and stain of Gram and Ziehl Neelsen detected and showed hyphas and coccibacillus gram positives and resistant alcohol-acid. The strain was purified and hydrolysis casein test it was resulted positive to *Nocardia brasiliensis*. Thus, the study showed that the yellow wasp (*Polistes mexicana*) could be the responsive of inoculate actinomycetum with its bite and to cause mycetoma development so; the yellow wasp (*Polistes mexicana*) is a vector of actinomycetum in mycetoma.

Key words: mycetoma, yellow wasp.

#### INTRODUCCIÓN

El micetoma es una enfermedad granulomatosa que constituye todo un síndrome anatomo-clínico y afecta piel, tejido celular subcutáneo, fascia, músculo e incluso huesos y órganos advacentes<sup>1</sup>. Es la micosis profunda más frecuente en México. La ubicación geográfica habitual de esta enfermedad se encuentra entre el Ecuador y el Trópico de Cáncer, latitudes 15° Sur y 30° Norte, siendo Sudán, La India, México, Centroamérica, Sudamérica y la Región del Mediterráneo las zonas con mayor prevalencia en el mundo<sup>2</sup>. Es más frecuente entre la segunda y cuarta décadas de la vida, predominando en el sexo masculino en una proporción 4:1. También se han reportado casos en los extremos de la vida, sin embargo son muy raros. El agente se transmite mediante inoculación en la piel<sup>3</sup>, mediante espinas, astillas, traumatismos, pérdida de continuidad en la piel<sup>4</sup>. Los campesinos y amas de casa son los más afectados, así como enfermos inmunodeprimidos<sup>2</sup>. El micetoma es una infección que se presenta en clima tropical o subtropical de altura, en donde las precipitaciones pluviales son de 150-1000mm. Los agentes que provocan micetoma son 6 actinomicetales y 31 especies de hongo<sup>5</sup>. En México, los principales agentes causales de micetoma son los actinomicetos (98%), de los cuales los principales son Nocardia brasiliensis (71%) y Actinomadura madurae (10%). El micetoma por eumicetos (2%) tiene como principales representantes

Madurela mycetomatis, Madurella grisea, Acremonium sp., Fusarium sp. y Pseudallescheria boydii. El agente Nocardia brasiliensis se encuentra en climas húmedos con precipitación pluvial de 600-2000 mm; por otra parte, A. madurae se encuentra en zonas secas a una altitud entre 1500 y 2000 metros sobre el nivel del mar<sup>6</sup>. En El estado de Veracruz, el principal patógeno causante de micetoma es N. brasiliensis<sup>7</sup>; este agente prolifera con facilidad y rapidez en diversos medios de cultivo; es especial el medio de gelosa glucosada de Sabouraud, a los 3 días se puede observar en los cultivo filamentos ramificados que son acidorresistentes al decolorarse con H2SO4 al 1-4%; las colonias se adhieren con tenacidad al agar, los filamentos profundos como los aéreos pueden fragmentarse para formar cadenas en rosario y células cocobacilares. Este agente es estrictamente aerobio8. Existen descripciones de Nocardia que datan de 1959, en donde se caracterizan por ser microorganismos gram positivos<sup>9</sup>, catalasa positivos y ácido alcohol resistentes, sin motilidad con formas ramificadas en micelios y fragmentos; in situ se observan elementos cocobacilares<sup>10,11</sup>. El diagnóstico se realiza por el cuadro clínico, examen directo, cultivos e histopatología. En el examen directo se encuentran agrupamientos de micelios formando los "granos", los cuales son diferentes de acuerdo con cada entidad etiológica. El "grano" de Nocardia es una estructura pequeña, de 50-200 micras, blanda, blanco amarillento, multilobulado o vermiforme, con numerosas clavas periféricas que dan un aspecto iridiforme. El cultivo se realiza en gelosa glucosada de Sabouraud, y en un lapso de 8-15 días se observa crecimiento de colonias blancoamarillentas con periferia anaranjada u ocre, de aspecto yesoso, superficie plegada y consistencia acartonada. Para corroborar el diagnóstico de N. brasiliensis es necesario realizar la prueba fisiológica de hidrólisis de caseína para diferenciarla de las otras cepas de Nocardia<sup>2</sup>. Dentro de las técnicas citoquímicas para detectar granos de micetoma en biopsia se utilizan Hematoxilina eosina, Ácido pervódico-Schiff (PAS), impregnación de plata (Grocott) y azul anciano<sup>12</sup>. Las nocardias son microorganismos Gram positivos; 16 especies de nocardias han sido implicadas en infecciones en seres humanos. La identificación de las especies de Nocardia se basa en la hidrólisis de tirosina. caseina, xantina e hipoxantina<sup>13</sup>. Dentro de los fármacos a los que son sensibles las nocardias se encuentran el TMS/SMX, Ceftriaxona, Cefuroxima, Imipenem, amikacina, amoxicilina clavulanato<sup>14</sup>, Dapsona, DDS, Sulfadoxina, Sulfametoxipiridazina<sup>15</sup>. En la respuesta inmune humoral mediada por anticuerpos contra antígenos de *Nocardia brasiliensis* en el suero de pacientes con micetoma, se han reconocido más de 7 antígenos que también reaccionan con los sueros de pacientes con infecciones por micobacterias, por lo cual se descartan antígenos de posible utilidad diagnóstica. Por ELISA<sup>16</sup> se puede diagnosticar parcialmente micetoma, con búsqueda del antígeno P24<sup>17,18</sup>. También se ha aislado los antígenos p21 y p26 para *Nocardia brasiliensis*<sup>19</sup>. Un pobre pronóstico en estos pacientes se asocia a una deficiencia de la inmunidad celular<sup>20</sup>. Así como de la virulencia patogénica y sitio de inoculación<sup>21</sup>.

#### ANTECEDENTES

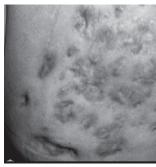
#### Historia clínica

Paciente femenino de 47 años de edad que acude al Servicio de Dermatología del Centro de Especialidades Médicas Dr. Rafael Lucio de Xalapa Veracruz con presencia de lesiones fistulosas en la región dorsal izquierda.

La paciente describe haber recibido un piquete de avispa amarilla en el dorso, del lado izquierdo a la altura de D7, y la piel reacciona con una roncha que se endurece y no se quita, y provoca dolor y comezón por 7 días; la lesión es tratada con métodos caseros, con alcohol y fomentos. Posteriormente al mes de evolución, la lesión de la picadura no había desaparecido, y a menos de un cm. había aparecido una lesión similar, y sucesivamente fueron apareciendo en forma centrífuga al piquete una roncha cada mes hasta tener varias lesiones que en conjunto abarcaban unos 4 cm de diámetro, y las primeras en salir para entonces ya se habían fistulado. A los 6 meses de evolución acude a un médico particular y le prescribe Dicloxacilina (500mg/12hrs) sin tener resultados favorables, por lo que su evolución continúa ahora con prolongación de la lesión en sentido caudal hasta llegar a unos 15 cm de diámetro; al año de evolución, las ronchas fistuladas supuraban un líquido inodoro y amarillento; además, la paciente presentaba dolor y ardor en las lesiones las 24 hrs del día, por lo que le era muy molesta. Pasa un año y medio de evolución a partir del piquete de la avispa y para entonces la lesión tenía ya un

diámetro de unos 25 cms, con lesiones fistulosas supurantes en casi toda la región dorsal izquierda desde la línea axilar posterior izquierda, abajo del omóplato izquierdo, hasta 3 cm a la derecha de la línea media posterior a la altura de D-4 a L1 (Fig 1 a y b). La paciente acude al CEMEV (Centro de Especialidades Médicas del Estado de Veracruz, Dr Rafael Lucio) al servicio de dermatología y se le diagnostica clínicamente micetoma, por lo que se le prescribe tratamiento con amoxicilina clavulanato (875mg/12hrs) y se le toma cultivo y biopsia, y sale positivo el cultivo para Nocardia brasiliensis. Por parte de patología hubo datos positivos en tinciones de PAS y Grocott encontrando los característicos granos, por lo que se le inicia tratamiento con trimetoprim/ sulfametoxazol (160/800mg) y amoxicilina clavulanato (875mg/12hrs); posteriormente agrega Cefalexina y Rifampicina al tratamiento y tienen mejores resultados, por lo que, al año y medio de tratamiento, la recuperación de la paciente fue total.





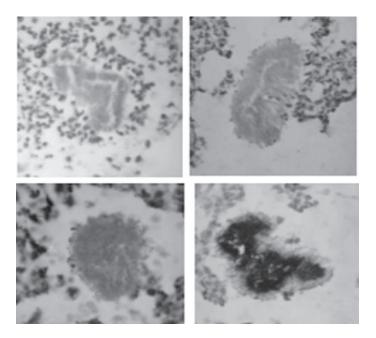
**Figura 1 a y b.** Lesión de la paciente con características clínicas típicas de micetoma, desarrollado en forma centrífuga posterior a la inoculación por picadura de avispa amarilla (Polistes mexicana).

# ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

Se tomó una microbiopsia cutánea incisional del fondo de una lesión fistulosa con la finalidad de encontrar granos característicos de micetoma y confirmar el diagnostico, así como verificar las características de dichos granos para identificar morfológicamente al agente patógeno.

Para la identificación histopatológica de *Nocardia brasiliensis* se utilizó el ácido peryódico de Schiff (PAS) en donde se produce una coloración magenta, positiva, lo que indica la existencia de polisacáridos contenidos en el cemento de unión del grano. Otra prueba es la metenamina

de plata (Grocott), con la cual se observa la coloración negra, típica de la impregnación del corte con plata<sup>12</sup> (Fig 2).



**Figura 2.** Resultado histopatológico de la biopsia cutánea de la paciente en donde se observa con técnica de PAS y de Grocott los granos caracteristicos de Nocardia brasiliensis.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Identificación del organismo agresor. Después de que la paciente diera referencia sobre la avispa que la atacó, se procedió a la captura de varias especies de avispas de la región, e identificó la paciente a una especie de avispa amarilla como su agresora, siendo esta *Polistes mexicana*, conocida en esa región como avispa carnicera (Fig 3).



**Figura 3.** Avispa Amarilla (Polistes mexicana) ejemplar colectado en el sitio donde el paciente fue agredido.

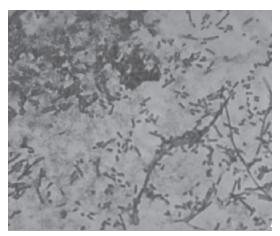
Técnica de siembra y procesamiento. Se realizaron varias capturas de avispas Polistes mexicana en la zona en la cual la paciente sufrió la agresión, las cuales fueron procesadas de inmediato. Las muestras se depositaron directamente en el medio, presionando para que queden adheridas en su totalidad, tras su captura (una por cada caja petri). El medio utilizado fue de Sabouraud glucosado con gentamicina y actidiona, que es un medio selectivo para su aislamiento, y fue incubado a 30° C por 15 días con revisión cada tercer día. Se buscaron colonias algodonosas o de apariencia de yeso.

Aislamiento e identificación del actinomiceto. De las colonias obtenidas de las cajas petri se seleccionaron las que presentaban la apariencia macroscópica de yeso, similar a la de cualquier bacteria; de éstas se realizaron diferentes transferencias a cajas petri con el medio antes descrito para tratar de aislar la muestra; después de varias transferencias, se procedió a identificar a las colonias. Para ello se realizó lo siguiente: se recogió una muestra de las cajas petri y se realizó un frotis extendido en espiral, se dejó secar a temperatura ambiente, luego se fijó la muestra al calor (flameado 3 veces aprox.). Una vez obtenidos los frotis, se realizaron las tinciones de Gram y el examen microscópico directo para la detección de bacilos ácidoresistentes (baciloscopía de BAAR) mediante la técnica de Ziehl Neelsen.

#### RESULTADOS

Identificación de la colonia como bacteriana por tinción de Gram<sup>+</sup>. En los portas se observó en microscopía de 100x, un resultado positivo; son bacterias Gram<sup>+</sup>, con una tendencia a fraccionarse y aparecen al microscopio con morfología cocobacilar (Fig 4).

Identificación de la bacteria como *Nocardia brasiliensi*, mediante la baciloscopía de BARR. Con la técnica de Ziehl Neelsen a la observación microscópica a 100x, se encontraron cocobacilos Gram positivos y acidoalcohol resistentes, lo que sugiere que las colonias aisladas son de *Nocardia brasiliensi*. Y que las avispas amarillas podrían ser portadoras de agentes patógenos causantes de micetoma (Fig 5).



**Figura 4.** Tinción de Gram de cultivo de cuerpo de avispa amarilla. Polistes mexicana en microscopio a 100x.

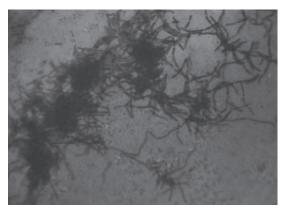


Figura 5. Tinción de Ziehl Neelsen de cultivo de cuerpo de avispa amarilla. Polistes mexicana en microscopio a 100x

#### DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran que las avispas de la especie *Polistes mexicana* pueden ser portadoras del actinomiceto *Nocardia brasiliensi* y por consiguiente transmitir la enfermedad de micetoma, ya que las avispas son insectos que están en continuo contacto con materia vegetal en descomposición, madera, tierra, lodo y detritus, que son el habitad donde se encuentran los patógenos que provocan el micetoma, para obtener materiales con la finalidad de hacer su panal. Aunque no se pudo discernir si la bacteria estaba sólo en el aguijón, ya que el crecimiento que se observó en la placa inicial se observa en todo el cuerpo de la avispa (incluyendo el aguijón), el hecho de que pueden ser inoculadas en el huésped al penetrar en la piel por medio del aguijón, como se reporta por el caso de la paciente antes descrito, nos indica que la avispa amarilla (*Polistes* 

mexicana) funciona como un vector de patógenos causantes de micetoma en humanos, y esto debe de ser considerado para un futuro diagnóstico por los médicos cuando se les llegue a presentar un paciente con síntomas de micetoma. Sin embargo, es necesario realizar más estudios clínicos en pacientes con micetoma y estudios experimentales en animales, para determinar si la frecuencia de aparición de micetoma provocada por la avispa amarilla es considerada como una posibilidad remota o su frecuencia es más alta de lo que uno se puede imaginar.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Vera L, Salinas M, Welsh O. Isolation and Purification of Two Immunodominant Antigens from *Nocardia brasiliensis*. J Clin Microbiol. 1992: 1183-8.
- Rodríguez M, Alvarado A, Del Carmen M, Ramos A. Micetoma de inoculación múltiple por Nocardia brasiliensis. Reporte de un caso. Rev Cent Dermatol Pascua. 2002; 11, (3): 126-30.
- 3. Salinas M, Torres E, Ramos A. Immune Response to *Nocardia brasiliensis* Antigens in an Experimental Model of Actinomycetoma in BALB/c mice. Infect Immun. 1999; 67 (5): 2428–32.
- 4. Lupi O, Tyring S, McGinnis M. Tropical dermatology: Fungal tropical diseases. J Am Acad Dermatol. 2005; 53 (6): 931-51.
- 5. Mendez L, Mondragón R, Manzano P. Inmunoglobulinas en pacientes con actinomicetoma por *Nocardia brasiliensis*, Rev Argent Microbiol. 2004; 36: 174-8.
- 6. Arenas R. Dermatología Atlas Diagnóstico y tratamiento. 2ª Ed. Mc Graw Hill Interamericana. 2000. México. 1- 642.
- 7. Saúl A. Lecciones de Dermatología. 14 Ed. Méndez Editores. 2000. México. 1 783.
- 8. Maraki S, Chochlidakis S, Nioti E, Tselentis Y. Primary lymphocutaneous nocardiosis in an immunocompetent patient Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2004; 3 (24): 1-4
- 9. Salinas M, Castro M, Sepulveda J. Monoclonal antibodies to P24 and P61 immunodominant antigens from *Nocardia brasiliensis*. Clin

- Diagnostic Lab Immunol. 1997; 4 (2): 133-7.
- Isik K, Chun J, Chil Y, Goodfellow M. *Nocardia uniformis* nom. rev. Int J Syst Bacteriol. 1999; 49: 1227–30.
- 11. IşiIk K, Kariptaş E. Identification and evaluation of clinically significant *Nocardia brasiliensis*. Turk J Biol. 2001; 25: 103-11.
- Palma A, Castrillón L, Padilla C, Reyes F. Caracterización histoquímica de micetomas por *Actinomadura madurae*, *nocardia brasiliensis* y *Madurella mycetomatis* Dermatología Rev Mex. 2005; 49 (2): 51-8.
- 13. A. Saubolle M., Sussland D. Nocardiosis: Review of clinical and laboratory experience. J Clin Microbiol. 2003; 41 (10): 4497–501.
- 14. Matulionyte R, Rohner P, Uçkay I, Lew D, Garbino J, Secular trends of nocardia infection over 15 years in a tertiary care hospital. J Clin Pathol. 2004; 57: 807-12.
- 15. Gómez-Flores A, Welsh O, Said-Fernandez S, et al. In Vitro and In Vivo activities of antimicrobials against *Nocardia brasiliensis*. Antimicrob Agents and Chemother. 2004; 48 (3): 832-7.
- 16. Salinas M, Welsh O, Casillas S. Enzyme-Linked

- Immunosorbent assay for serological diagnosis of *Nocardia brasiliensis* and Clinical Correlation with Mycetoma Infections. J Clin Microbiol. 1993; 31 (11): 2901-6.
- 17. Salinas M. Anticuerpos anti-*Nocardia brasiliensis* en pacientes con actinomicetoma y su utilidad clínica, Gac Med Mex. 2001; 137 (1): 1-8.
- Vera L, Johnson W, Welsh O. Distribution of a Nocardia brasiliensis Catalase Gene Fragment in Members of the Genera Nocardia, Gordona, and Rhodococcus. J Clin Microbiol. 1999; 37 (6): 1971–6.
- Salinas M, Perz I. Humoral immunity through immunoglobulin M protects mice from an experimental actinomycetoma infection by *Nocardia brasiliensis*. Infect Immun. 2004; 72 (10): 5597–604.
- 20. Conde C, Mancilla R, Ortiz L. Immunoglobulin and complement in tissues of mice infected with *Nocardia brasiliensis*. Infect Immun 1983; 40 (3): 1218-22.
- 21. Conde C, Melendra E, Fresan M, Ortiz L. *Nocardia brasiliensis*: Mycetoma induction and growth cycle. Infect Immun. 1982; 38 (3): 1291-5.