

**ESTUDIOS ANATÓMICO PATOLÓGICOS, SEROLÓGICOS E HISTOPATOLÓGICOS
DE PERROS POSITIVOS A COCCIDIOIDOMICOSIS INFECTADOS
NATURALMENTE**

ANATOMIC PATHOLOGY, SEROLOGIC, AND HISTOPATHOLOGICAL STUDIES IN
DOGS POSITIVE TO COCCIDIOIDOMYCOSIS DISEASE, NATURALLY INFECTED

**¹Ortiz-Encinas Verónica, Lares-Villa Fernando, Luna Nevárez-Pablo,
Reyna-Granados Javier, Munguía-Xóchihua Javier, Ibarra-Gámez José**

Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias. Unidad Nainari. Instituto Tecnológico de Sonora.
Sonora, México.

RESUMEN

La Coccidioidomycosis, clasificada como una saprozoonosis, es causada por el hongo *Coccidoides spp.*, del cual, a la fecha, solo se han clasificado dos especies: *C. immitis* y *C. posadassi*. La enfermedad ha sido frecuentemente reportada en áreas con climas secos y con suelos alcalinos en los cuales el hongo puede liberar un gran número de artroconideos después de la lluvia. Este estudio tuvo como finalidad investigar aquellos aspectos patológicos encontrados a la necropsia y la presencia serológica de la enfermedad, así como la presencia del hongo a nivel microscópico en perros infectados naturalmente. De los 90 animales seleccionados, el 60% estaban delgados; la Prueba de Aglutinación en Látex (PAL), clasificó al 78.8% y 21.12% fueron seronegativos. A la necropsia el 25% presentaron lesiones sugestivas a la enfermedad en uno o más órganos, y el 75% no presentaron evidencias. La presencia de caquexia, tos y claudicación resultaron ser fuentes significativas de variación ($P < 0.05$) con respecto a la variable respuesta que es la presencia de esférulas. Respecto a que si el animal está o no delgado no representó una fuente significativa de variación ($P > 0.05$). PAL está pobremente correlacionada con la aparición de lesiones en órganos durante la necropsia y a la presencia de esférula en la histopatología ($Kappa = 0.1079$, $p > 0.05$). De los 22 animales afectados, el 100% presentó lesiones pulmonares y el 77.27 % en hueso. La histopatología reveló el 25% (22 casos) presentaron la esférula de

¹Verónica Ortiz Encinas. Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias. Unidad Nainari. Instituto Tecnológico de Sonora. AV. Antonio Caso s/n. Col. Villa ITSON. Cd. Obregón, Sonora. CP 85130
veronica.ortiz@itson.edu.mx

Recibido: 17/11/2014. Aceptado: 29/01/2015.
Identificación del artículo: abanicoveterinario5(1):13-25/0000057

Sistema Superior Editorial sisupe.org

Coccidioides spp., y el 75% (66 casos) sin lesión. La correlación entre las lesiones sugestivas a Coccidioidomicosis y la presencia de esférulas de *Coccidioides spp.* es alta (Kappa= 1, $p > 0.001$). Es recomendable realizar estudios de concordancia de estos animales positivos a serología con el uso de una técnica más sensible como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Palabras claves: coccidioidomicosis, lesión pulmonar, serología, histopatología.

ABSTRACT

Coccidioidomycosis, classified as such as a saproozoonosis disease, which is produced by *Coccidioides spp.* So far this ailment just had been categorized in two strains *C. immitis* and *C. posadassi*. The disease had frequently been associated to dried environments and alkaline soils, where, after rain, fungus spread arthroconidia. The aim of this research was to study the pathological aspects found at necropsy, the serological presence and the spherules existence of the *Coccidioides spp.* microscopically in naturally infected dogs. From 90 tested animals, serology showed 78.88% positives using Particles agglutination Latex (PAL), and just 21.12% animals were serum-negatives. At necropsy, there were just 25% animals with suggested lesions to the disease in one or more organs, while 75% animals did not show affected organs. Cachexia, cough and limp were significant sources of variation ($P < 0.05$), in relation with the variable presence of spherules. If animal is skinny or not, it does not represent significant sources of variation ($P > 0.05$). PAL was poorly correlated with affected organs at necropsy and with spherule presence at histopathology (Kappa= 0.1047, $p < 0.05$). All 22 affected animals (100%) presented lungs lesions and 77.27% on bones. Macroscopic pulmonary affections were evident at level 4 (lung with more of 70% of affection) while 66 (75%) with out lesions. Kappa correlation between suggestive lesions to coccidioidomycosis and presence of spherules is high ($K = 1$, $p < 0.001$). It is necessary to conduct studies of concordance of such positive serology animals using a more sensitive technique such as Polymerase Chain Reaction (PCR).

Keywords: Coccidioidomycosis, lung lesions, bone lesions, serology and histopathology.

INTRODUCCIÓN

La coccidioidomicosis, al igual que la blastomicosis, histoplasmosis y la paracoccidioidomicosis, es una micosis dimórfica que se ha reporta en América Latina (Acha, 1992; Ampel, 2009). El agente etiológico de esta enfermedad es *Coccidioides immitis*, conocida también como Cepa Californiana o por *Coccidioides posadasii*, conocida como cepa No-californiana (San-Blas, 2004, Butkiewicz, *et al.*, 2005; Negroni, 2008). A esta enfermedad se le conoce como la enfermedad de Posadas, Fiebre del Valle del desierto o del Valle de San Joaquín.

Para su desarrollo en el suelo este hongo requiere de humedad, por lo que tiene un mejor desarrollo después de las lluvias, en el período de sequía las hifas (etapa saprófita) se dividen y se esparcen en forma de artroconideas (Laniado-Laborín, 2006), contaminando animales y humanos por vía aérea (Laniado-Laborín, 2006). Ampel (2009) señala que en Arizona se han incrementado los casos no ligados a factores climáticos, los cuales pueden ser debidos a la longevidad de la persona o a individuos con alteraciones del sistema inmunológico.

Se ha reportado la presencia del hongo desde California hasta Argentina, siendo las zonas áridas las de mayor prevalencia (Cano *et al.*, 2008; Acha, 1992). Negróni (2008) reportó casos clínicos en diferentes países de América, incluyendo Estados Unidos, México, Guatemala, Honduras, Venezuela, Colombia, Ecuador, Bolivia, Brasil, Paraguay y Argentina (Richard, 2005; Laniado-Laborín, 2006; Muñoz, 2004; Wanke *et al.*, 1999). En México, Ajello (1971) reportó una distribución similar que se ha repetido en los estados de Baja California, Chihuahua, Coahuila, Colima, Durango, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas (Laniado-Laborín, 2006).

En el estado de Sonora se han realizado diferentes estudios para identificar la presencia del hongo. Cano *et al.*, (2008) estudiaron 127 expedientes procedentes de los municipios de Hermosillo, Guaymas y Caborca; quienes presentaron manifestaciones sistémicas con tos, fiebre, pérdida de peso, exantema, adenomegalia y lesiones en piel; las cuales pueden estar estrechamente relacionados con el hongo.

En el municipio de Cajeme, en las últimas dos décadas se han realizado diferentes estudios para diagnosticar coccidioidomicosis en perros; el primer estudio se realizó en 15 perros con cuadro respiratorio crónico y/o daño articular, el 46.6% fue positivo a la prueba de la coccidioidina (Sánchez, 1993). En este estudio se consideraron la semiología, los hallazgos a la necropsia, la respuesta serológica y la presencia de esférulas, que indican la presencia del hongo en la microscopía en caninos infectados en forma natural; con el objetivo de investigar aquellos aspectos patológicos encontrados a la necropsia y la presencia serológica de la enfermedad; así como la presencia del hongo a nivel microscópico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de muestra por signología compatible a coccidioidomicosis

La clasificación de este estudio es observacional dirigido, donde se evaluaron 90 perros, de los cuales 88 manifestaban signos sugestivos de la enfermedad y dos aparentemente sanos. La semiología se enfocó a detectar animales caquéticos o con disminución progresiva de su peso, con tos y claudicación; como las principales manifestaciones de la enfermedad. Los pacientes fueron recolectados en su mayoría

del centro antirrábico de Cajeme, Sonora, y otros más (15 animales) reportados con signología sugestiva por parte de las clínicas veterinarias de Ciudad Obregón y Hermosillo, Sonora.

Se recolectaron 5 ml de sangre periférica en tubos Vacutainer (BD-Vacutainer® Becton-Dickinson Co. USA), para obtener suero conforme a las disposiciones de la Norma Oficial Mexicana de la Secretaría de Salud (SSA, 1995). Una vez obtenido el suero se realizó la prueba de aglutinación en látex, para cuantificar a los pacientes seropositivos a coccidioidomycosis.

Prueba de aglutinación en látex (PAL).

Preparación del reactivo: Se siguió la metodología y las recomendaciones del laboratorio productor, Meridian, Bioscience, Inc., Cincinnati, OH (Meridian, 2015). Se reconstituyó el suero positivo, utilizando una pipeta de 1ml o una jeringa de tuberculina; posteriormente se adicionaron 0.95 ml de agua ultra purificada a los viales del suero control, y finalmente se homogenizó la mezcla y se mantuvieron a temperatura ambiente por una hora.

Inactivación del complemento por calor: Una vez reconstituidos los controles, se procedió a inactivar los sueros y los controles negativos, colocándolos en baño María a 56°C por 30 minutos. Los sueros se enfriaron a temperatura ambiente para proceder a la realización de PAL.

Procedimiento de PAL: Se marcaron anillos negros en un portaobjeto para colocar un control positivo, un control negativo y las muestras a estudiar; como se observa en la figura 1A. Se colocaron 50 µl de suero en el área delimitada y se mezclaron con dos gotas del reactivo Cocci Látex. Se realizó el mismo procedimiento para ambos controles, positivo y negativo. Se esperó por cuatro minutos, se observó la posible aglutinación a simple vista y con ayuda del microscopio con el objetivo de 10X (Figuras 1B y 1C).

Se realizó la lectura de cada anillo después del tiempo recomendado por el fabricante; considerando negativa una suspensión homogénea de partículas sin formación de grumos (Figura 1B); como positivo se registró con una cruz (+), una granulación fina con un fondo lechoso homogéneo; dos cruces (++) , cuando se formaron pequeños grumos bien definidos con un fondo ligeramente turbio; tres cruces (+++) , cuando se observaron grumos grandes y pequeños con un fondo claro y cuatro cruces (++++), cuando hubo grumos grandes con un fondo claro (Figura 1C).

El punto de corte de la prueba se tomó a partir de 2 cruces; las muestras que reaccionaron a 2 cruces o más cruces se clasificaron como positivas para *Coccidioides* y de manera contraria, las que reaccionaron a menos de 2 cruces se reportaron como negativas.

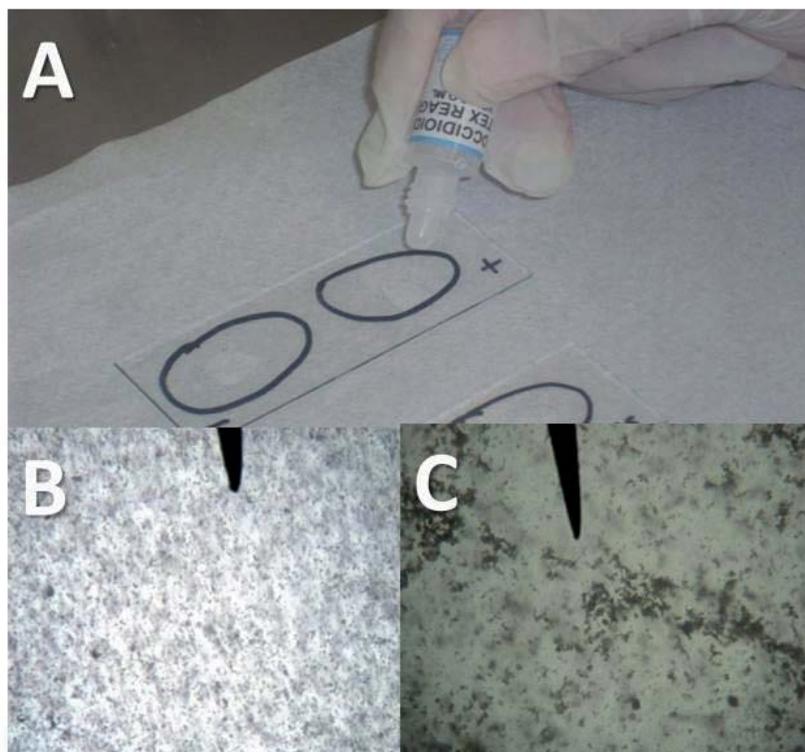


Figura 1. Prueba de aglutinación en látex. A: Representación del marcado de anillos para la prueba de aglutinación en látex (PAL) sobre portaobjetos. B: Muestra negativa ausente de acúmulos de partículas (microscopía a 10X). C: Muestra positiva con presencia de acúmulos partículas 2 cruces (microscopía a 10X).

Análisis a la necropsia

Los animales fueron sacrificados por el método de eutanasia recomendado por la Norma Oficial Mexicana (NOM-033-ZOO-1995); después de tomar la muestra sanguínea para la obtención de suero, se realizó la necropsia de acuerdo a lo establecido por Aluja y Constantino 2000, evaluando con mayor cuidado los pulmones en los que se observaron y clasificaron sus lesiones (Tabla 1A y 1B). Se realizaron cortes de tejido dañado para histopatología .

Estudio histopatológico

Se elaboraron bloques de parafina de los tejidos seleccionados, se les realizaron cortes de 5 μ m empleando un Microtomo (Leica TP 1020). Se procedió al teñido utilizando hematoxilina eosina (HE) y ácido periódico de Schiff (PAS), en el laboratorio de histopatología del departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias del Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON). Los cortes obtenidos fueron observados al

microscopio, utilizando un objetivo de 40X y 100X para detectar la presencia del hongo y clasificar las lesiones de acuerdo a los siguientes criterios:

A

Nivel	Lesión Macroscópica
0	No evidencia
1	De 1 a 2 pequeños granulomas
2	De 2 a 8 pequeños granulomas
3	Presencia de granulomas de 33 a 70%
4	> De 70% de pulmón afectado por estas lesiones

B

Nivel	Lesión Microscópica
0	No presencia de lesiones o agregados linfoides
1	< de 20% de tejido pulmonar afectado
2	De 20 al 40% de tejido pulmonar afectado
3	De 40 al 60% de tejido pulmonar afectado
4	De 60 al 80% de tejido pulmonar afectado
5	> De 80% de tejido pulmonar afectado

Tabla 1. Clasificación de las lesiones pulmonares. A, Clasificación de las lesiones pulmonares basadas en las observaciones macro de la necropsia. B, Clasificación de las lesiones pulmonares por histopatología.

Modelo Estadístico

Se utilizó un modelo de efectos mixtos incluyendo la presencia de la esférula de *Coccidioides spp.* como la variable respuesta, y como efectos fijos se incluyeron los signos sugestivos de la enfermedad, tales como si el animal estaba o no caquéxico, si estaba o no flaco, si tenía tos o no, y si claudicaba o no. La ID del animal se incluyó como el efecto aleatorio. Par correr el modelo estadístico se utilizó el procedimiento GLIMMIX para variables categóricas.

El modelo estadístico se describe a continuación:

$$Y = M + C + F + T + CL + E$$

Dónde:

Y = Presencia de la esférula

M = Frecuencia de las variables

C = Animales Caquéticos

F = Animales Delgados

T = Animales con Tos

CL = Animales con Claudicación

E = Error experimental

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 90 animales evaluados, 2 se tomaron como controles negativos al no presentar signología compatible con la enfermedad; mientras que de los 88 restantes (Figura 2-A), 35 de ellos (40%) presentaron caquexia, 53 animales estaban flacos (60%), 13 presentaron tos (15%); mientras que 22 mostraban claudicación (15%). El adelgazamiento y la caquexia de los sospechosos puede relacionarse con un proceso inflamatorio crónico, donde las células inflamatorias secretan citoquinas, interleucina 1 y 6 (IL1 e IL6), interferón gama ($IF\gamma$) y el Factor de Necrosis Tumoral (FNT); las cuales inhiben el apetito de los pacientes enfermos (Morley *et al.*, 2006).

En el presente estudio se observaron 35 animales caquéticos y 53 delgados, que fueron positivos a la serología, similar al estudio realizado por Ochoa (1999), en donde el 100% de los perros positivos a la enfermedad causada por este hongo estaban flacos y caquéticos. Cabe mencionar que el paciente adelgaza al desarrollar la enfermedad.

Los resultados obtenidos del modelo estadístico empleado indicaron que de los signos sugestivos a la enfermedad, la presencia de caquexia, tos y claudicación resultaron ser fuentes significativas de variación ($P < 0.05$), con respecto a la variable respuesta (presencia de esférulas); la cual es la prueba diagnóstica definitiva de Coccidioomicosis. Por otro lado, si el animal está o no flaco, este signo no representó una fuente significativa de variación sobre la variable respuesta antes mencionada ($P > 0.05$). Esto indica en términos prácticos que signos tales como caquexia, tos y claudicación están altamente relacionados con Coccidioomicosis; por lo que en el presente estudio se encontró evidencia científica para asumir que los signos antes mencionados son indicativos de la enfermedad.

De acuerdo con la Prueba de Aglutinación en Látex (PAL), 71 de los 90 animales (78.88%) fueron positivos; mientras que el resto, 19 (21.12%), presentaron seronegatividad (Figura 2-B). La PAL considera negativos los sueros por abajo de dos

cruces (++) , a simple vista los cuales son confirmados a través del microscopio con un objetivo de 10X. De acuerdo con lo mencionado anteriormente, el porcentaje de positivos encontrados fueron elevados en comparación a los presentados por Sánchez (1993), quien en la misma región encontró un 46.60% de positivos, utilizando la prueba intradérmica de coccidioidina.

Se tiene que considerar que las pruebas intradérmicas evalúan una respuesta inmune diferente a una serología y habría que discutir la sensibilidad y especificidad en cada caso para futuros estudios. Sin embargo, estos estudios concuerdan con los efectuados por Acosta (1995) y Alvarado (2004), quienes encontraron 80% y 96% de seropositividad, utilizando la Prueba de Aglutinación en Látex. Pappagianis (1990), comenta que PAL puede presentar falsos positivos, pero que es más específica cuando los casos son agudos. Esto concuerda con nuestros resultados, ya que en el 100% los casos que evidenciaron esférula, fueron serológicamente Positivos (+++); esto es confirmado también por Chien-Ming (2010), quien al encontrar un caso agudo sospechoso a la enfermedad lo confirmó con Prueba de Aglutinación en Látex (PAL), Inmunodifusión-precipitación en tubo (PI) y Fijación del Complemento (FC); sin embargo, se requiere de más estudios similares a éste, para poder aseverar esta hipótesis.

A la necropsia, dos de ellos (los aparentemente sanos), no presentaron lesiones sugestivas a la enfermedad. De los 88 restantes, 22 (25%) presentaron lesiones sugestivas a la enfermedad en uno o más órganos; mientras 66 animales (75%) no presentaron evidencias (Figura 2-D). La serología está pobremente correlacionada con la aparición de lesiones en órganos durante la necropsia y por lo tanto con la presencia de esférula en la histopatología, Kappa= 0.1079, $p > 0.05$.

De los 22 animales afectados, el 100% de estos presentó lesiones en pulmón; las cuales consistieron en la presentación de un puntillado blanquecino en parénquima, así como masas nodulares con una distribución generalizada; 17 (77.27%) fueron afectados en hueso, donde se encontraron masas óseas amorfas y dolor a la palpación (17 en miembro locomotor, 3 en vértebras, 3 en costillas y 1 en hueso temporal); 10 animales (45.45%) presentaron puntillado blanquecino en hígado, 8 (36.36%) con puntillado blanquecino en riñón, 10 animales (45.45%) con lesión piogranulomatosa en linfonódulo, 7 animales (31.81%) con puntillado blanquecino en bazo y finalmente 2 (9.09%) presentaron nódulos piogranulomatosos en corazón y testículo (Figura 2-C).

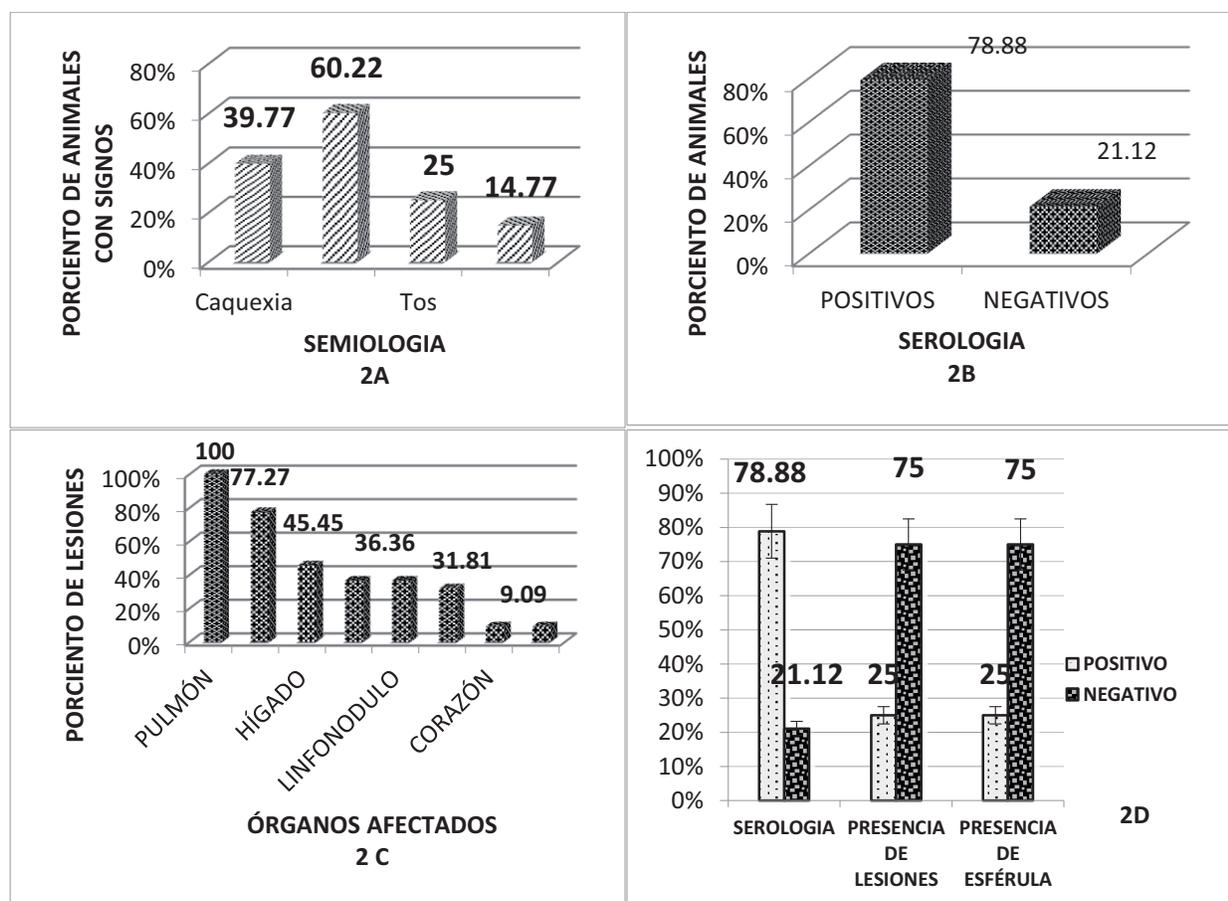


Figura 2. Resultados obtenidos de caninos con signología compatible a coccidioidomycosis. A: Muestra la cantidad de Signos presentes en los caninos muestreados: de un total de 88 caninos observados se pudieron seleccionar principalmente por presentar extremo adelgazamiento (flaco o flacura) como principal señal, luego caquexia, claudicación y finalmente tos B: Resultados de la Prueba de Aglutinación en Látex. C: Relación de órganos afectados observados a la necropsia. D: Correlación entre la presencia de casos positivos a serología, a lesiones en órganos a la necropsia y presencia de esférula en la histopatología.

Los órganos afectados coinciden con lo encontrado en el estudio de Shubitz (2010), quien reportó que las lesiones se localizaban en linfonódulo, pulmón y hueso; además observaron lesiones en corazón, mediastino y piel. Otros autores concuerdan con lo mencionado y estos reportaron que los principales órganos afectados coinciden con los encontrados en la presente investigación, tanto en localización y en aspecto de la lesión, tal es el caso de Blair (2007) y Zeppa *et al.*, (1996), quienes reportan afección en hueso y Avilés-Salas *et al.*, (2007) en linfonódulo; esto puede deberse (Laniado-Laborin, 2006) a que la enfermedad empieza como un foco primario a nivel pulmonar, y la extrapulmonar siempre es secundaria y rara, afectando huesos, meninges, piel, articulaciones y tejidos blandos.

La evaluación macroscópica de los pulmones evidenció que un 100% estaban infectados, y al clasificarse tomando como referencia la Figura 3-A, se observó que los niveles de afección se clasificaban de la siguiente forma: tres animales (13.63%) se encontraron en el Nivel 1, cuatro (18.18%) en el Nivel 2, siete de ellos (31.81%) en el Nivel 3 y ocho (36.36%) en el Nivel 4 (Figura 3-A).

En presente estudio, de los 88 animales estudiados, 22 (25%) presentaron la esférula de *Coccidioidomycosis spp.*, mientras que en 66 de ellos (75%) no se encontró evidencia de la esférula (Figura 2-D). Las lesiones macroscópicas sugestivas a Coccidioidomycosis y la presencia de esférulas de *Coccidioides spp.*, está altamente correlacionada, Kappa= 1, $p > 0.001$. Las lesiones son similares a las descritas por Deus (2009), utilizando las tinciones de Hematoxilina- Eosina (HE), tinción ácida de Schiff (PAS) o tinción de plata.

Se observó una esférula del hongo con endosporas y la presencia de una doble membrana celular que lo rodea, y a su alrededor se observaron neutrófilos, macrófagos y algunos linfocitos típicos de una lesión piogranulomatosa. De acuerdo con las lesiones pulmonares encontradas en la histopatología, se pudo clasificar en dos grupos (9.09%) con < de 20% de tejido afectado, cinco animales (22.72%) mostraron entre 20 y 40% de tejido afectado y el mismo número de animales entre 40 y 60%, seis de ellos (27.27%) entre 60 a 80%; mientras que cuatro (18.18%) evidenciaron >80% de tejido afectado por la enfermedad (Figura 3-C). Los resultados obtenidos son similares a los hallazgos reportados por Ochoa (1999), quien encontró neumonía granulomatosa multifocal coalescente, pero sin clasificar de acuerdo a los niveles de la Tabla 1-B usados en esta investigación.

CONCLUSIÓN

De los 90 perros recolectados, 53 de ellos (60%) presentaron como principal antecedente adelgazamiento, 35 de ellos presentaron caquexia (40%), el 15% presentó tos, y claudicación, con un porcentaje similar. Del total de los animales estudiados, la serología positiva fue alta, mostrando una incidencia del 78.88 % (71 animales) utilizando la Prueba de Aglutinación en Látex (PAL) y solo 19 perros (21.12 %) fueron seronegativos. A la necropsia, solo 22 (25%) presentaron lesiones sugestivas a la enfermedad en uno o más órganos; mientras 66 animales (75%) no presentaron evidencias. Los resultados obtenidos del modelo estadístico empleado indicaron que de los signos sugestivos a la enfermedad, la presencia de caquexia, tos y claudicación resultaron ser fuentes significativas de variación ($P < 0.05$), con respecto a la variable respuesta presencia de esférulas. La condición corporal no representó una fuente significativa de variación sobre la variable respuesta ($P > 0.05$). PAL está pobremente correlacionada con la aparición de lesiones en órganos durante la necropsia y por lo

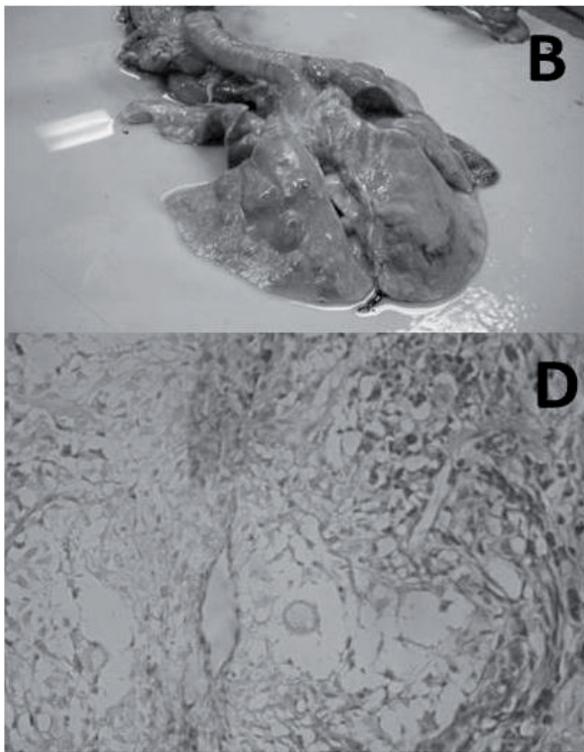
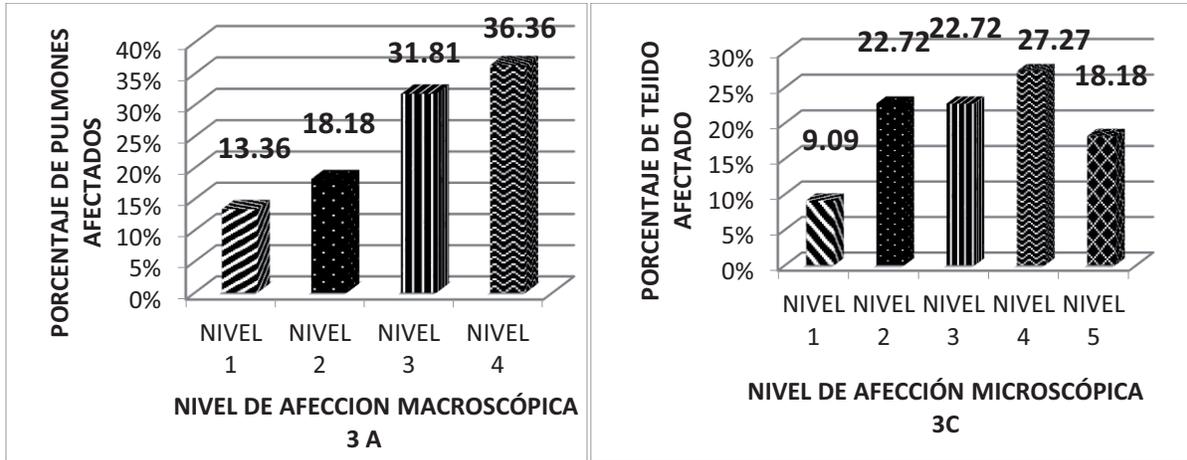


Figura 3. Afecciones macroscópicas y microscópicas de caninos con signología compatible a coccidioidomycosis.. A: Muestra la cantidad de afección pulmonar a nivel macroscópico encontrados a la necropsia. B: Lesiones macroscópica de pulmón clasificada como Nivel 4 con más de un 70% de afección. C: Muestra la cantidad de afección de tejido pulmonar a nivel microscópico encontrado a la histopatología. D: Lesiones microscópicas de tejido pulmonar clasificada como Nivel 3 con 40 a 60% de tejido pulmonar afectado.

lesión macroscópica de pulmones en mayor presencia fue la del Nivel 4, en la cual los pulmones se observaron con más del 70% del órgano afectado. El Estudio histopatológico reveló que de los 88 animales estudiados, 22 (25%) presentaron la esférula de *Coccidioidomycosis spp.* a la histopatología; mientras que en 66 de ellos (75%) no se evidenció. La correlación entre las lesiones sugestivas a Coccidioidomycosis y la presencia de esférulas de *Coccidioides spp.* es alta (Kappa= 1, $p > 0.001$). De los 22 casos pulmonares de histopatología, el mayor nivel de lesión encontrado fue el Nivel 4, donde el tejido pulmonar afectado era entre el 60 y 80%. Se efectuaron estudios de citología (resultados no publicados), la cual promete ser muy efectiva para el diagnóstico de la enfermedad en perros sospechosos a coccidioidomycosis, utilizando la técnica de aspiración con aguja fina. Es recomendable

realizar estudios de concordancia de estos animales positivos a serología con el uso de una técnica más sensitiva, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

LITERATURA CITADA

- ACHA P, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. PALTEX. OPS Pub. Cient. 1992; 503(114): 229-236.
- ACOSTA DA, Alcorn BEL. Seroprevalencia de coccidioidomycosis en caninos de Ciudad Obregón, Sonora, México, mediante la prueba de aglutinación en partículas látex. Tesis de Lic. Instituto Tecnológico de Sonora. 1995: 30-32.
- AJELLO L. Coccidioidomycosis and histoplasmosis a review of their epidemiology and geographical distribution. Mycopathologia et Mycologia applicata. 1971; 45(3-4): 221-230.
- ALUJA AS, Constantino CF. Técnicas de necropsia en animales domésticos. Manual Moderno. Segunda Edición. 2002. México, DF.
- ALVARADO BRB. Estudio serológico de coccidioidomycosis en perros domésticos en Cd. Obregón. Tesis de Lic. Instituto Tecnológico de Sonora. 2004: 11-19.
- AMPEL NM. Coccidioidomycosis: a review of recent advances. Clin Chest Med. 2009; 30: 241-251.
- AVILÉS-SALAS A, Quintero-Cuadra Y, Cornejo-Juárez P. Coccidioidomycosis extrapulmonar. Presentación de un caso y revisión de La literatura. Rev Chil Infect. 2007; 24(5): 398-401.
- BLAIR JE. State-of-the-Art treatment of coccidioidomycosis skeletal infections. Annals of the New York Academy of Sciences. 2009; 1111:442-433.
- BUTKIEWICZ CD, Shubitz LF, Dial SM. Risk factors associated with Coccidioides infection in dogs. JAVMA. 2005; 226 (11):1851-1854.
- CANO RMA, Álvarez HG, Durazo AMA, Peralta VI. Coccidioidomycosis pulmonar: 24 años de experiencia en el hospital infantil del estado de Sonora. Rev Mex Pediatr. 2008; 75(4): 162-167.
- CHIEN-MING Ch, Hua-En L, Shu-Ying L. Coccidioidomycosis with cutaneous manifestation of erythema nodosum in Taiwan. Dermatologica Sinica. 2010; 28: 154-158.
- DEUS FA. Coccidioidomycosis. J Bras Pneumol. 2009;35(9):920-930.
- LANIADO-LABORÍN R. Coccidioidomycosis: más que una enfermedad regional. Rev Onst Nal Enf Resp Mex. 2006; 19(4): 301-308.
- Meridian, bioscience. Inc. (2015). Cryptococcal Antigen Latex Agglutination System (CALAS®) On line: <http://www.meridianbioscience.com/diagnostic-products/cryptococcal-antigen-and-coccidioides/latex-agglutination/cryptococcal-antigen-latex-agglutination-system-calas.aspx>

- MORLEY JE, Thomas DR, Wilson MMG. Cachexia: Pathophysiology and clinical relevance. *Am J Clin Nutr.* 2006; 83:735-743.
- MUÑOZ B, Castañón LR, Calderón I, Vázquez ME, Manjarrez ME. Parasitic mycelial forms of *Coccidioides* Species in Mexican Patients *J of Clin Microbio.* 2004; 42(3):1247-1249.
- NEGRONI R. Evolución de los conocimientos sobre aspectos clínico-epidemiológicos de la *Coccidioidomycosis* en las Américas. *Rev Argent microbiol.* 2008; 40(4): 246-256.
- SÁNCHEZ CMA. Sensibilidad a la coccidioidina en canidos con cuadro respiratorio crónica y/o articular en Ciudad Obregón, Cajeme, Sonora. Tesis de Lic. Instituto Tecnológico de Sonora. 1993:20-26.
- SAGAR (Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural). NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres. 1995.
- OCHOA VM. Descripción de las lesiones presentes en 10 perros seropositivos a *coccidioidomycosis* en la Ciudad Obregón, Sonora. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Sonora. 1999: 23-26.
- PAPPAGIANIS D, Zimmer B. Serology of *Coccidioidomycosis*. *Clinical Microbiology Reviews.* 1990; 3: 247-268.
- RICHARD FH, Laniado-Laborin R. *Coccidioidomycosis* - A Fungal Disease of the Americas. *PLos Med.* 2005; 2(1):15-18.
- SAN-BLAS G. La micología molecular en la práctica médica del siglo XXI. *Dermatología Venezolana.* 2004; 42(1): 4-8.
- SHUBITZ LF, Dial SM, Galgani JN. T-Lymphocyte predominance in lesions of canine *Coccidioidomycosis*. *Vet Pathol.* 2010; 48(5): 1008.
- WANKE B, Dos Santos LM, Monteiro PCF, Lima MSJ, Leal FC, Ferreira FPL, Kaufman L, Pinner RW, Ajello L. Investigation of an outbreak of endemic *coccidioidomycosis* in Brazil's Northeastern State of Piauí with a review of the occurrence and distribution of *Coccidioides immitis* in three other Brazilian states. *Mycopathologia.* 1999;148:57-67.
- ZEPPA MA, Laorr A, Greenspan A, McGahan JP, Steinbach LS. Skeletal *coccidioidomycosis*: imaging findings in 19 patients. *Skeletal Radiol.* 1996; 25:337-343.