

Presente y futuro del diagnóstico inmunológico de las micosis animales

José Luis Blanco y Marta Eulalia García

Laboratorio de Micología Clínica, Departamento de Patología Animal I (Sanidad Animal),
Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, Madrid, España

Resumen

Los inconvenientes que presentan el diagnóstico clínico, microbiológico e histopatológico de las micosis animales, abre el campo hacia la búsqueda de métodos inmunológicos de diagnóstico de estos procesos. De esta forma, se pretende desarrollar técnicas sencillas y rápidas, capaces de detectar la enfermedad de forma precoz, permitiendo por ende la instauración de un tratamiento eficaz.

En nuestro laboratorio hemos aplicado una técnica ELISA indirecto para el diagnóstico de aspergilosis en perro, gato, bovino, ovino y aves, y de dermatofitosis en perro y gato. Los resultados obtenidos permiten augurar el éxito de este tipo de metodologías no sólo en el diagnóstico de las micosis animales, sino en campos tan importantes como es la elucidación de la patogenicidad fúngica o la elaboración de vacunas efectivas, sin olvidar en ningún caso la aplicación que estos conocimientos podrían tener en medicina humana.

Palabras clave

Micosis, Inmunodiagnóstico, ELISA, Animal, Aspergilosis

Present and future in the immunodiagnosis of the animal mycoses

Summary

The problems that exist in the clinical, microbiological, and histopathological diagnosis of animal mycoses establish the necessity to investigate immunological methodologies in the diagnosis of these diseases. In this way, it may be possible to develop easy and fast techniques, allowing early detection of the disease, and efficient therapy. In our laboratory we have developed an indirect ELISA methodology to the diagnosis of aspergillosis in dog, cat, cow, sheep and birds, and dermatophytoses in dog and cat. Our results suggest this kind of technique may be useful not only in the diagnosis of animal mycosis, but in important fields as the elucidation of the fungal pathogenicity or the elaboration of effective vaccines, and with the possible application in human medicine.

Key words

Mycoses, Immunodiagnosis, ELISA, Animal, Aspergillosis

En el presente trabajo intentaremos dar una visión general de la situación en que se encuentra en estos momentos el diagnóstico de las micosis animales mediante el empleo de técnicas inmunológicas, y qué es lo que podemos esperar de estas metodologías en un futuro que se encuentra cada vez más cercano. Hemos de reconocer

inicialmente nuestras escasas habilidades predictoras, por lo que nos centraremos mayoritariamente en la realidad actual, para sólo esbozar las posibilidades futuras, esperando que sea el lector quien aporte su propia opinión al respecto, que por otro lado estaríamos encantados nos comunicara en lo que podría ser el inicio de una colaboración científica futura.

Una puntualización inicial que debemos hacer es que al hablar de las dificultades que presenta el diagnóstico de las micosis, nos referiremos fundamentalmente a los procesos sistémicos, denominados en medicina humana como invasivos, que son realmente los que presentan una mayor problemática en cuanto a su elucidación. Por supuesto, mucha menor dificultad diagnóstica presentan las micosis cutáneas.

Inicialmente el diagnóstico de las micosis sistémicas puede abordarse desde cuatro puntos de vista: 1) Diagnóstico clínico. 2) Diagnóstico microbiológico. 3) Diagnóstico histopatológico. 4) Diagnóstico inmunológico.

Dirección para correspondencia:

Dr. José Luis Blanco
Laboratorio de Micología Clínica,
Departamento de Patología Animal I (Sanidad Animal),
Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense,
28040 Madrid, España
E-mail: jlblanco@eucmax.sim.ucm.es

DIAGNÓSTICO CLÍNICO

El diagnóstico clínico resulta realmente complicado de efectuar, fundamentalmente por la inespecificidad de los síntomas, que hacen que el profesional clínico sólo piense en un proceso de etiología fúngica en fases ya muy avanzadas de la enfermedad, cuando la solución terapéutica va a resultar tremendamente complicada. En definitiva, podríamos afirmar que se trata de una serie de enfermedades que siempre van a precisar de la ayuda del laboratorio para poder llegar a su diagnóstico definitivo.

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Las técnicas microbiológicas presentan una serie de limitaciones que obligan a una interpretación cuidadosa de los resultados obtenidos, tanto cuando el aislamiento resulta positivo como cuando es negativo.

Los inconvenientes del diagnóstico microbiológico se pueden resumir en dos hechos:

1º) Muchos hongos potencialmente patógenos son ubicuos en el medio ambiente, como puede suceder con miembros del género *Aspergillus*, o bien pueden formar parte de la flora saprofita normal de piel y mucosas, como sucede con especies del género *Candida*. Por ello, el aislamiento de uno de estos hongos de una lesión no siempre resulta significativo, pues podría tratarse de una especie ambiental que ha contaminado accidentalmente la muestra o bien de un microorganismo saprofito habitual que no guarda relación con el proceso en cuestión. Debido a este hecho, el diagnóstico mediante cultivo e identificación debe efectuarse con mucha precaución por la posibilidad de existencia de falsos positivos.

2º) Por otro lado, existen determinadas especies fúngicas que no son cultivables en el laboratorio o bien sólo se logran cultivar, con mucha dificultad, en medios muy específicos. Incluso en determinados casos hongos habituales, como *Aspergillus* o *Candida*, siendo los responsables de una determinada enfermedad, no conseguimos que crezcan en un primer aislamiento en el laboratorio. En todos estos casos, este tipo de metodología será fuente de un elevado porcentaje de falsos negativos.

Todo ello hace que prácticamente nunca podamos considerar el aislamiento micológico como único método diagnóstico.

DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO

La histopatología resuelve gran número de los problemas de la metodología microbiológica convencional, constituyendo hoy día, sin duda, la técnica más fiable para diagnosticar con seguridad la mayor parte de las micosis, por cuanto que evidencia la infección de los tejidos por formas fúngicas. Presenta el inconveniente inicial de su inespecificidad para determinar la etiología fúngica concreta, por cuanto que el crecimiento de un hongo en un tejido está sujeto a variaciones que imposibilitan su identificación incluso a nivel de género. Este inconveniente se puede ver minimizado por la aplicación de técnicas inmunohistológicas, donde se evidencia la especificidad de reacción de determinados antígenos fúngicos sobre los tejidos. Otros inconvenientes de esta metodología vienen determinados por su laboriosidad, y por el hecho de tratarse de técnicas invasivas, imposibles de aplicar en determinados procesos morbosos, lo cual lleva a su aplicación únicamente *postmortem*.

DIAGNÓSTICO INMUNOLÓGICO

La realización de este tipo de diagnóstico podría solventar todos los problemas asociados al diagnóstico tradicional, en el que se hace necesaria la asociación entre micología clásica e histopatología para obtener un resultado fiable, combinación que no siempre es factible.

La gran ventaja de un inmunodiagnóstico optimizado sería la alta especificidad unida a una importantísima precocidad, que permitiría la instauración de un tratamiento que hoy por hoy es efectivo sólo cuando el proceso no está muy avanzado. Otra ventaja de la aplicación de esta metodología sería la posibilidad de relacionar los valores obtenidos con la progresión o regresión de la enfermedad, lo que permitiría realizar una monitorización de la evolución del paciente.

La aproximación al desarrollo de este tipo de metodologías inmunológicas puede tener inicialmente un doble planteamiento:

1º) *Determinación de antígenos específicos fúngicos circulantes en el individuo enfermo.* Se han desarrollado diferentes kits que incorporan anticuerpos monoclonales, concretamente utilizables en candidiasis, criptococosis y aspergilosis, con resultados variables en cuanto a su efectividad. Realmente el auge de este tipo de planteamiento viene dado por el hecho de que en medicina humana las enfermedades fúngicas sistémicas se relacionan con un estado de inmunodepresión intensa del paciente, lo cual se traduce en la falta de respuesta inmune humoral, y consecuentemente en la falta de niveles apreciables de anticuerpos antifúngicos en su suero [1]. En cambio, en el caso de los animales, hemos comprobado en nuestro laboratorio, y en diferentes especies animales, que estos procesos se acompañan de un incremento significativo en el nivel de anticuerpos antifúngicos tipo IgG, lo que hace que dentro del campo de la veterinaria ésta sea la aproximación más sencilla y realizable por el momento.

2º) *Determinación del nivel de anticuerpos antifúngicos en el suero.* A pesar de ser el planteamiento más sencillo como acabamos de comentar, presenta una serie de problemas iniciales, que deben ser tenidos en cuenta:

a) los hongos son microorganismos ubicuos en la naturaleza, que están en contacto continuo con el hombre y los animales, incluso dando lugar a la producción de microcolonizaciones en individuos sanos. Esto provoca un estímulo de su respuesta inmune, traducida en el hecho de que toda la población animal presenta un determinado nivel de anticuerpos antifúngicos, lo que precisa emplear altas diluciones de suero para llevar a cabo el diagnóstico inmunológico capaz de diferenciar individuos enfermos de los que no lo están.

b) Los diferentes géneros fúngicos presentan gran cantidad de antígenos comunes, capaces de dar lugar a reacciones inmunes cruzadas, lo que implica la dificultad de este tipo de metodologías para llegar a un diagnóstico etiológico exacto.

Por todo lo expuesto, nos propusimos en nuestro laboratorio que, partiendo de la posibilidad de determinar el nivel de anticuerpos tipo IgG frente a diferentes tipos de hongos, relacionar este nivel con el estado de enfermedad del animal, mediante la aplicación de una metodología de tipo ELISA indirecto. Obtuvimos extractos antigénicos tanto miceliares o somáticos como de filtrado de cultivos, siguiendo la metodología previamente aplicada en nuestro laboratorio [2].

Una vez que tenemos desarrollada la metodología, para cada uno de los procesos morbosos y cada una de las especies animales, debemos hacer el cálculo de la línea de corte (*cut-off*) que nos determinará los animales positivos,

dudosos y negativos. Para ello se toman una serie de sueros procedentes de animales control, un mínimo de 20, sanitariamente controlados, y sin ningún antecedente de ningún tipo de enfermedad fúngica. A los valores de densidad óptica obtenidos en estos sueros control, se aplica el valor de $X + 3SD$, que nos dará la línea de corte para los valores considerados como positivos, y por tanto, animales enfermos. La aplicación de este valor nos dará una especificidad superior al 99,5% [3].

Esta técnica ha sido aplicada por nosotros con desigual éxito a diferentes procesos fúngicos y especies animales. Así, ha sido aplicada con pleno éxito, como desarrollaremos posteriormente, a las aspergilosis canina, bovina y ovina, y a las dermatofitosis canina y felina. En cambio, no ha dado los resultados apetecibles en los casos de aspergilosis y candidiasis en aves salvajes, otitis fúngicas caninas y candidiasis bovina.

En el caso de las aves salvajes, debemos resaltar que la dificultad que encontramos es en cuanto a la aplicación de un conjugado de anti-IgG específico de especie, pues al tratarse de animales de variadas familias, resulta difícil la obtención de reacciones cruzadas precisas, siendo necesario el desarrollo de una metodología específica prácticamente para cada especie de aves. Otro inconveniente adicional es la dificultad para conseguir animales que realmente podamos considerar como control.

En los otros procesos donde nuestra metodología ha fracasado, encontramos una explicación refiriéndonos a la patogenia del proceso. Si se trata de procesos sistémicos (aspergilosis) o tópicos específicos (dermatofitosis) se desarrolla una respuesta inmune específica, cuantificable y relacionable con el estado de enfermedad del individuo; en cambio, en los otros procesos, fundamentalmente candidiasis, nos encontramos con múltiples reacciones cruzadas motivadas por infecciones localizadas en diferentes puntos de piel y mucosas de ese animal, en muchos casos sin relación con el estado de enfermedad.

Un ejemplo claramente explicativo vendría dado por el estudio de los abortos fúngicos bovinos. Así, en el caso de los abortos aspergiliares, la ruta de infección se produce a partir de tracto digestivo (en menos ocasiones respiratorio), produciéndose una difusión del hongo vía hematogena hasta que se asienta en feto y placenta, ocasionando el aborto [4]. Por tanto, en estos casos se produce una estimulación generalizada del sistema inmune y en consecuencia, posibilidad clara de diagnóstico inmunológico. En cambio, en las candidiasis, la infección suele llegar vía vaginal, con lo cual ese proceso localizado puede presentar reacciones cruzadas con otras infecciones mucosas por esta levadura, dando lugar a falsos positivos como consecuencia de esas infecciones tópicas concomitantes.

Esto último es lo mismo que sucedería en el caso de las otitis caninas, donde el continuo asentamiento de levaduras, sin producir enfermedad, estimularía al sistema inmune, siendo imposible diferenciar animales con situación de enfermedad [5].

A continuación haremos un repaso de los casos en que nuestra metodología ha sido aplicada con éxito:

Aspergilosis ovina. Tuvimos ocasión de estudiar un brote de mamitis aspergilar en un rebaño de 96 animales, aplicando al suero de estos animales nuestra metodología ELISA indirecto [6]. El 100% de los animales con infección aguda o subaguda resultaron positivos. En el resto del rebaño, sin sintomatología apreciable de mamitis aspergilar, sólo el 9% resultaron positivos por inmunodiagnóstico, indicando quizás en este bajo porcentaje de animales una infección aspergilar subclínica. Queremos resaltar la utilidad de nuestra técnica en estos procesos, cada vez más frecuentes en ganado ovino por la mala uti-

lización de las cánulas de tratamiento antibiótico durante el secado de los animales. Ante la más mínima sospecha de un brote de mamitis aspergilar, y con la simple recogida de suero de los animales afectados, en menos de 3h podría obtenerse una orientación bastante certera de la posible etiología aspergilar del proceso. El diagnóstico microbiológico o histopatológico tardaría días en obtenerse.

Aborto aspergilar bovino. Hemos aplicado nuestra metodología a un total de 387 sueros de animales integrados en explotaciones con antecedentes de abortos e infertilidad, en los que no existía alguna otra causa infecciosa aparente [7]. Los resultados obtenidos aparecen recogidos en la Figura 1, con aparición de algún animal positivo en un 41% de las explotaciones. De cada explotación se analizó un número medio de 5 sueros, apareciendo en un 18% de ellas más de un animal positivo. Si nos referimos al número total de animales analizados, un 13% resultaron positivos al test de *Aspergillus*. Precisamente, este porcentaje es similar a las previsiones realizadas sobre la incidencia de abortos aspergiliares bovinos en nuestro país [8].

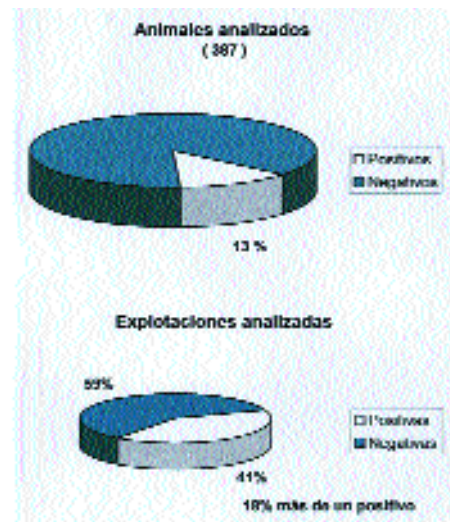


Figura 1. Resultado del test anti-*Aspergillus* realizado en ganado bovino, expresado tanto por explotaciones como por el número total de animales.

Por tanto, consideramos nuestra metodología para detectar anticuerpos anti-*Aspergillus* como muy útil para la realización de estudios epidemiológicos o en el manejo y control de las medidas a utilizar para reducir la infección por *Aspergillus* en un efectivo. Aunque deberán realizarse más análisis de casos concretos y diagnosticados por otros métodos para considerar esta prueba como un diagnóstico definitivo, el estado serológico del animal es uno de los muchos criterios a considerar en el manejo de una explotación.

Dermatofitosis caninas. Hemos aplicado nuestra técnica con éxito al diagnóstico de las dermatofitosis caninas, mediante el tapizado de las placas con una mezcla de extractos antigénicos de *Microsporium canis* y *Trichophyton mentagrophytes* [9]. La metodología se ha mostrado útil para el diagnóstico de procesos con lesiones de una antigüedad de tres semanas. Especial incidencia hemos hecho en el estudio de posibles reacciones cruzadas, obteniendo en algunos casos gráficas tan expresivas como la representada en la Figura 2, donde se observa una diferencia muy significativa entre el uso de extractos antigénicos de hongos dermatofitos, y de otros tipos de hon-

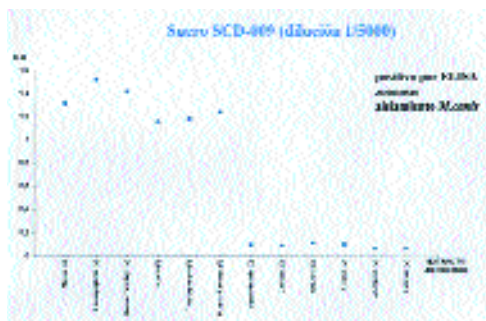


Figura 2. Inmunoreactividad por ELISA indirecto de un suero procedente de un animal con dermatofitosis frente a diferentes antígenos fúngicos dermatofíticos y no dermatofíticos.



Figura 3. Inmunoreactividad por ELISA indirecto de un suero procedente de un animal con dermatofitosis frente a diferentes antígenos fúngicos dermatofíticos y no dermatofíticos.

gos (*Malassezia pachydermatis*, *Candida albicans*, *Cryptococcus laurentii*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus fumigatus*, y *Alternaria alternata*). En esta figura se muestra la reactividad de un suero positivo a nuestro ELISA, con aislamiento microbiológico de *Microsporium canis* de las lesiones del perro, y con existencia de contagio a la familia. En algunos otros casos hemos encontrado alguna reacción cruzada, como la que se aprecia en la figura 3, correspondiente a un suero positivo a dermatofitosis por ELISA y con aislamiento de *M. canis* de las lesiones. En este caso puede observarse una elevada reactividad también frente a un extracto antigénico de *Malassezia pachydermatis*, lo cual nosotros no achacamos a la existencia de reacciones inmunes cruzadas entre ambos hongos. Consideramos que realmente lo que existió en este caso fue una infección concomitante con esta levadura, que podría aprovechar las zonas cutáneas alteradas por el dermatofito, para asentarse en estratos profundos, provocando una reacción inmune por parte del individuo capaz de ser detectada por nuestro ELISA.

Aspergilosis canina. Hemos aplicado nuestra metodología a un total de 46 sueros caninos sospechosos de padecer aspergilosis, bien en su forma de rinitis bien en su forma sistémica [10]. En este último caso hemos de referirnos a la cada vez mayor descripción en la literatura mundial de procesos en principio considerados como aspergilosis, pero que una vez elucidada su etiología concreta resulta ser otra especie fúngica, taxonómicamente cercana a *Aspergillus*, como pueden ser *Penicillium*, *Paecilomyces* o *Acremonium*, y que darían reacciones cruzadas con nuestro extracto antigénico aspergilar crudo. Por ello, preferimos en estos casos hablar de procesos de micosis sistémicas, más que de la más concreta denominación de aspergilosis. De los 46 animales analizados, nueve resultaron ser positivos, correspondientes a animales con los siguientes procesos: un perro con micosis sistémica finalmente muerto por esta enfermedad, dos animales con discoespondilitis tratados con antifúngicos y con evolución favorable, un animal con uveítis como única lesión clínica apreciable, dos perros con procesos broncopulmonares y tres con rinitis aspergilar.

El caso que consideramos más exitoso ha sido el de un perro cuya única sintomatología clínica era un proceso bronconeumónico grave, con una historia clínica de un mes, con aplicación de diferentes tratamientos antibióticos sin ningún resultado satisfactorio [11]. Cuando nos fue remitido el suero, el profesional clínico acababa de iniciar un tratamiento a base de corticoides, que quedó inmediatamente suspendido y sustituido por un tratamiento antifúngico a base de ketoconazol en cuanto se comunicó nuestro resultado de inmunodiagnóstico positivo. En la figura 4 observamos la evolución del título de anticuerpos anti-*Aspergillus* en este animal a lo largo de cuatro meses.

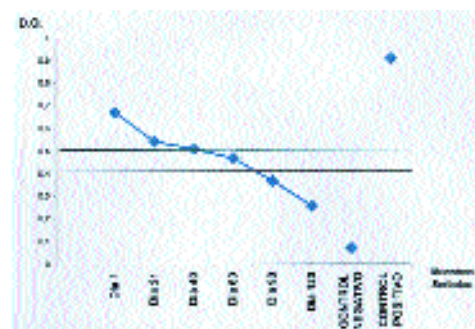


Figura 4. Evolución de la reactividad anti-*Aspergillus* del suero de un perro con bronconeumonía tratado con antifúngicos desde el día 1.

Al cabo de un mes de tratamiento, el perro estaba clínicamente curado, pero el hecho de dar un resultado inmunológico todavía positivo aconsejó la prolongación del tratamiento antifúngico, que quedó definitivamente suspendido, considerándose ya al animal curado de la enfermedad, a los cuatro meses del inicio del tratamiento, donde se obtuvo un resultado del inmunodiagnóstico claramente negativo como se aprecia en la mencionada figura.

Este éxito obtenido en este animal, nos anima a seguir en nuestro empeño de ampliar el número de procesos fúngicos y de especies animales a quienes aplicar nuestra metodología ELISA indirecto.

FUTURO DEL DIAGNÓSTICO INMUNOLÓGICO DE LAS MICOSIS ANIMALES

Ya hemos hablado de la metodología de diagnóstico inmunológico aplicada en nuestro laboratorio a las micosis animales. De la misma forma, podríamos hablar de técnicas inmunohistológicas aplicables a distintos procesos en diferentes especies fúngicas y animales en otros laboratorios del mundo. Por tanto, nos encontramos ante un presente de gran utilidad en su ayuda al diagnóstico definitivo de un tipo de procesos que durante años han permanecido sin diagnosticar o, como mucho, como hallazgo curioso de necropsia.

Los retos que quedan para el futuro, que creemos se encuentra muy cercano, podrían muy bien ser los siguientes:

* **Purificación de antígenos fúngicos.** Este aspecto permitirá la determinación de estructuras antigénicas propias de cada especie fúngica, lo cual llevará a la obtención de extractos antigénicos purificados (y no crudos como se emplean en este momento) y al diagnóstico etiológico exacto de estas enfermedades. Esto será aplicable tanto a las técnicas inmunológicas no invasivas, como es

el ELISA indirecto desarrollado por nosotros, como a las técnicas inmunohistopatológicas, que permitirán, esta vez sí con toda certeza, la identificación de un hongo en un corte de tejido.

* **Control de portadores.** El estudio de grandes poblaciones de animales permitirá la aplicación de estas metodologías para la detección de animales portadores de ciertas especies fúngicas patógenas para el hombre, y que por tanto, constituyen de alguna forma un reservorio de la enfermedad. Quizás hoy día sea especulativo todavía hablar en este sentido de *Pneumocystis carinii*, pero no lo es en el caso típico de las dermatofitosis felinas, donde un elevado porcentaje de la población son portadores asintomáticos del hongo, constituyendo la fuente de infección para otros animales de su misma o diferente especie, y para la población humana que convive con ellos.

* **Elucidación de la patogenicidad fúngica.** El conocimiento de los distintos antígenos expresados por el hongo en el individuo enfermo, llevará al conocimiento en detalle de sus mecanismos de patogenicidad, y a la respuesta de la pregunta planteada desde hace años: ¿todas las especies fúngicas consideradas como ambientales lo son tal, o dentro de ellas existen algunas cepas con determinados mecanismos de patogenicidad que las hacen capaces de asentarse en un hospedador vertebrado y dar lugar a la enfermedad? Este punto tiene una clara aplicación dentro del campo de la medicina humana, donde las aspergilosis son consideradas enfermedades de interés primario en individuos inmunodeprimidos.

* **Estudios de la respuesta inmune a los hongos.** En relación con el punto anterior, con el conocimiento de los distintos mecanismos de patogenicidad, podremos estudiar en el hospedador sus mecanismos de resistencia inmune a los hongos, y con ello la forma de potenciarlos en individuos enfermos.

* **Desarrollo de vacunas.** Siguiendo con la secuencia de descubrimientos en este campo, una vez conocidos en detalle los puntos anteriores, se podrá plantear el desarrollo de vacunas frente a determinadas enfermedades fúngicas que resulten plenamente efectivas y seguras. Concretamente ya existen vacunas frente a dermatofitosis efectivas en bovino y equino, y no sería descabellado plantear su posible utilidad en pequeños animales.

* **Establecimiento de nuevas dianas antifúngicas.** Conocidos los mecanismos de patogenicidad de los hongos, y su forma de invadir el organismo hospedador, se incrementarán los detalles sobre nuevas dianas antifúngicas, algo que podemos considerar como vital en la medicina humana en estos momentos.

Finalmente, no queremos dejar de mencionar dos alternativas al diagnóstico inmunológico que podrán ser en el futuro de una gran ayuda al diagnóstico definitivo de estas enfermedades. Estas dos alternativas son:

* **Técnicas PCR.** Permitirán no solo el diagnóstico de los procesos, sino una gran efectividad en cuanto al diagnóstico etiológico exacto. Quizás su mayor inconveniente hoy día venga precisamente dado por su gran sensibilidad, que hacen que la detección de determinadas secuencias de ácido nucleico fúngico en el individuo planteen alguna duda en cuanto a su situación exacta de enfermedad [12].

* **Estudio de metabolitos fúngicos no antigénicos.** Creemos que estos compuestos tienen una gran importancia en la patogenicidad del proceso, haciendo que el hongo, una vez asentado, pueda por una parte continuar con su progresión, y por otra paralizar las defensas inmu-

nes del hospedador. Se trata de un campo todavía poco estudiado, pero que abre unas extraordinarias perspectivas de investigación.

ESTUDIOS COLABORATIVOS

Dada la todavía baja incidencia, al menos en cuanto al diagnóstico, de estos procesos en nuestro país, la única forma de profundizar en su estudio, y en la mejora del diagnóstico inmunológico, es conseguir una alta casuística, con aislamiento de cepas, material infectado, y suero de los animales enfermos. Para ello, el único camino es el establecimiento de estudios colaborativos entre distintos laboratorios de nuestro país, para lo cual ponemos a disposición de todos los profesionales clínicos, laboratoriales e investigadores interesados, nuestra metodología de estudio, con objeto de complementar e intercambiar experiencias. Cualquier persona interesada puede dirigirse a nuestro laboratorio, cuya dirección figura en el encabezamiento de este trabajo. De hecho, sería muy interesante el establecimiento de un grupo de micología veterinaria, que desde dentro de la Asociación Española de Especialistas en Micología, impulsara unos estudios en un campo todavía yermo, pero que como creemos haber demostrado en este trabajo, presenta unas grandes posibilidades, o mejor dicho, realidades, de expansión.

Nuestras actividades de investigación y diagnóstico pueden ser consultadas con más detalle en nuestra página web, cuya dirección es <http://www.ucm.es/info/micol>, y cuya página de presentación aparece reflejada en la Figura 5.



Figura 5. Hoja de presentación de la página Web del Laboratorio de Micología Clínica de la Facultad de Veterinaria de Madrid.

Queremos expresar nuestro agradecimiento más sincero al Dr. VP Kurup, del Medical College of Wisconsin, Milwaukee, EE.UU., por sus enseñanzas en el campo de las aspergilosis que sirvieron de inicio a nuestras investigaciones en el campo de la Micología Clínica.

Bibliografía

1. Blanco JL, Guedeja-Marrón J, Caballero J, García ME. Aspergilosis: mecanismos de patogenicidad implicados y aproximación al diagnóstico laboratorial. Rev Iberoam Micol 1998; 15: 10-15.
2. Blanco JL, García ME, Kurup VP. Immunoreactivity of antigenic extracts of *Aspergillus fumigatus* isolated from different sources. Rev Iberoam Micol 1997; 14: 60-62.
3. Jacobson RH. Validation of serological assays for diagnosis of infectious diseases. Rev Sci Tech Off Int Epiz 1998; 17: 469-486.
4. Sarfati J, Jensen HE, Latge JP. Route of infections in bovine aspergillosis. J Med Vet Mycol 1996; 34: 379-383.
5. Blanco I, Blanco JL, Guedeja-Marrón J, García ME. Inmunorreactividad cruzada de sueros caninos frente a distintos antígenos fúngicos. III Symposium anual AVEDILA 1998; Barcelona.
6. García ME, Fernández-Garayzábal JF, Las Heras A, Guedeja-Marrón J, López I, Blanco JL. Diagnóstico inmunológico por una técnica ELISA de un brote de aspergilosis en ganado ovino. Producción Ovina y Caprina 1998; 23: 399-402.
7. Blanco JL, Guedeja-Marrón J, Blanco I, Artigas C, García ME. Aplicación de una técnica ELISA indirecto al inmunodiagnóstico de aspergilosis bovina. III Symposium anual AVEDILA 1998; Barcelona.
8. Espí A. Diagnóstico laboratorial de los problemas reproductivos en el ganado vacuno. Producción Animal 1998; 129: 2-22.
9. Guedeja-Marrón J, Blanco JL, Rupérez C, Artigas C, García ME. Aplicación de métodos inmunológicos al diagnóstico de dermatofitosis caninas. II Symposium anual AVEDILA 1997; Córdoba.
10. Blanco JL, Caballero J, Blanco I, *et al.* Diagnóstico de aspergilosis canina por una metodología ELISA indirecto. II Symposium anual AVEDILA 1997; Córdoba.
11. García ME, Caro A, Fragío C, Guedeja-Marrón J, Blanco JL. Un caso clínico de neumonía micótica canina. III Symposium anual AVEDILA 1998; Barcelona.
12. García ME, Blanco JL, Kurup VP. Identification of *Aspergillus fumigatus* by polymerase chain reaction. Rev Iberoam Micol 1998; 15: 25-27.