

# Esporotricosis: Avances recientes en el diagnóstico de laboratorio, histopatología y la epidemiología en México

**Palabras clave:** Especies del *Sporothrix*, tipos clínicos, epidemiología, diagnóstico de laboratorio, técnicas del ADN-molecular.

**Key words:** *Sporothrix* species, clinical types, epidemiology, laboratory diagnosis, DNA-molecular techniques.

Recibido: 20/03/2012

Aceptado: 24/05/2012

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: <http://www.medicgraphic.com/patologiaclinica>

Teodoro Carrada Bravo\*

\* Sporotrichosis Research Unit. Tropical Medicine Research Center.

Correspondencia:

Teodoro Carrada Bravo  
Calzada de los Rincones 694, Las Plazas  
36620 Irapuato, Guanajuato, México.  
E-mail: drcarradabravo@hotmail.com

147

## Resumen

La esporotricosis es una infección subaguda o crónica, causada por especies distintas del grupo *Sporothrix*. La infección se adquiere generalmente por inoculación cutánea. La lesión inicial suele ser una pápula, nódulo o placa verrucosa presente en el sitio de la inoculación; a veces evoluciona a la forma pustular y se ulcerá (esporotricosis fija). La variedad linfocutánea se caracteriza por una cadena ascendente de nódulos a lo largo de los canales linfáticos. Rara vez son afectados otros tejidos por la diseminación hematogena; cuando se observa, afecta principalmente personas inmunocomprometidas (1.5% de los casos). El diagnóstico de laboratorio definitivo requiere el aislamiento del *Sporothrix schenckii* en los medios de cultivo. Los hallazgos histopatológicos son: granulomas supurantes con neutrófilos, histiocitos y células gigantes, rodeadas por linfocitos y plasmocitos; así como demostración de «cuerpos asteroides» o levaduras en la biopsia, y análisis molecular del ADN por restricción enzimática, método utilizado en la investigación epidemiológica. Este trabajo presenta la revisión crítica de los métodos de laboratorio disponibles, con la descripción actualizada del agente etiológico y la epidemiología de la esporotricosis en México.

## Abstract

Sporotrichosis is a sub acute or chronic infection caused by multiple distinct species of *Sporothrix*. Infection is usually acquired by cutaneous inoculation, an initial papule, nodule or verrucous lesion forms at the site of skin inoculation, and it becomes pustular and ulcerates (fixed type). In the lymphocutaneous form, an ascending chain of nodules develops along skin lymphatic channels. Rarely other tissues are involved by hematogenous dissemination particularly in immunocompromised hosts (1.5% of cases). Definite laboratory diagnosis requires the isolation of *Sporothrix schenckii* in culture. The histologic findings are: a suppurating granuloma with neutrophils, histiocytes and giant cells surrounded by lymphocytes and plasma cell, «asteroid bodies» or yeast forms can be demonstrated in the biopsy samples. Antibody measurement techniques are also available, as well as molecular DNA-restriction-analysis, used as epidemiology research tools. This paper presents an up-date critical review of laboratory diagnostic methods and techniques available, with a full recent description of the etiologic agent, and the epidemiology, of sporotrichosis in Mexico.

## Introducción

**L**a esporotricosis es una infección micótica subaguda o crónica, causada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii* presente en los suelos.<sup>1,2</sup> Clásicamente, se había identificado una sola especie, pero con la revolución molecular-filogenética se ha podido reconocer cuando menos cinco clases diferentes, distribuidas por regiones geográficas diversas, tales son: *S. schenckii sensu strictu*, *S. brasiliensis* y *S. globosa*, capaces de causar enfermedad humana y animal; las otras dos son *S. mexicana* y *S. albicans* no asociadas con ninguna enfermedad.<sup>3-5</sup> Los casos clínicos son causados por la inoculación traumática de los hongos existentes en la materia orgánica y los suelos ricos en humus vegetales, o por astillas de madera de la corteza de los eucaliptos y pinos que penetran la piel; a veces las lesiones se propagan por los vasos linfáticos regionales, aunque la diseminación hematogena ha sido infrecuente.<sup>6</sup> Ocasionalmente, el agente es inhalado o llega a la conjuntiva, generando neumonías o blefaroconjuntivitis. Las personas inmunodeprimidas suelen sufrir lesiones extensas y múltiples; el alcoholismo crónico y la diabetes mellitus descontrolada parecerían ser los factores de riesgo en la forma osteoarticular.<sup>7</sup>

148

## Las formas clínicas

La esporotricosis cutánea es una enfermedad polimorfa con tres formas de manifestaciones clínicas y algunas variantes morfopatológicas<sup>8</sup> (*cuadro I*). La cutánea linfática o linfagítica, predomina en extremidades superiores (antebrazo y manos) y en la cara de los niños.

El traumatismo frecuentemente pasa inadvertido y, después de un periodo de incubación promedio de tres semanas (rango: cinco días a seis meses), sobre el dedo inoculado comienza un proceso inflamatorio localizado de aspecto banal: aumento de volumen, enrojecimiento, ulceración y costras, los bordes levantados y el color rosado

a violeta, es el llamado chancro esporotricósico (*figura 1*). La lesión inicial suele ser poco dolorosa y no involuciona con los medicamentos antibacterianos habituales. Persiste así por semanas o meses, y puede dejar cicatrices residuales. Con mayor frecuencia, después de dos a tres semanas, sobre el dorso de la mano aparece otra lesión semejante (*figura 2*). Luego, otras más siguen el trayecto de los linfáticos en forma escalonada; se ulceran cubriendose de costras, en ocasiones confluyen y se profundizan por necrosis, alcanzando incluso el tejido óseo subyacente, es la esporotricosis gomosa hiperérgica (*figura 3*). Los ganglios linfáticos son atacados rara vez.

Los niños sufren arañosos sobre la cara al estar jugando en los matorrales espinosos; de este modo se producen lesiones sobre la punta de la nariz,

Cuadro I. Tipos clínicos de la esporotricosis.

<b>A. Cutáneas*</b>
Linfocutánea
Fija o localizada**
- Nodulopapular
- Ulcerosa (chancro)
- Verrucosa (placa)
- Furunculoide
<b>B. Mucosas</b>
Ocular***
Nasal
Laringea
Otras
<b>C. Extracutáneas</b>
Osteoarticular y tendinosa
Pulmonar
Meníngea
Diseminada****
<b>D. Esporotricosis-infección, sin lesiones aparentes</b>

\* Las fuentes de la infección son las plantas espinosas (rosales, bugambilias), el contacto con el musgo *Esfagnum* o la paja mojada y los arañosos o mordeduras de gatos infectados.

\*\* Los enfermos habrían tenido contacto previo con los antígenos fúngicos, por ello desarrollaron inmunidad celular protectora (prueba de la esporotricina positiva).

\*\*\* La variante palpebraconjuntival se ha observado en niños de las regiones hiperendémicas.

\*\*\*\* Lesiones múltiples, curso clínico acelerado y gran cantidad de levaduras en las úlceras, particularmente en aquellos sujetos inmunodeficientes debido al VIH.



**Figura 1.** Chancre esporotricósico ulceroso del dedo anular derecho, registrado después de un microtraumatismo causado por un carrizo seco. El *S. schenckii* se cultivó a partir de las escamas y el pus enviados al laboratorio.



**Figura 2.** Esporotricosis linfágica del dedo índice derecho, porción distal, registrado en ama de casa quien se espinó al cultivar los rosales. Obsérvese la úlcera distal, seguida por dos nódulos rojovioláceos no ulcerados. Las levaduras se demostraron en la biopsia; el hongo se recuperó por cultivo de las escamas y costras.



**Figura 3.** Esporotricosis gomosa hiperérgica del brazo, detectada en un jardinero joven. Obsérvense las lesiones ulcerosas y profundas con bordes levantados y violáceos.

Imágenes en color en: [www.medigraphic.com/patologiaclinica](http://www.medigraphic.com/patologiaclinica)



**Figura 4.** Al estar jugando fuera del hogar, los niños se arañan la nariz (lesión primaria), aparecen luego dos cadenas bilaterales de linfáticos lineales e hinchados sobre las mejillas. La esporotricosis facial es prevalente en las regiones endémicas de Jalisco y Puebla, México.



149

**Figura 5.** Esporotricosis fija (localizada). Se observa la placa verrugosa única y fisurada, sin propagación distal, en un alfarero quien había manejado el zacate seco para empaque por más de 15 años. Los microtraumatismos repetidos confieren inmunidad residual protectora.



**Figura 6.** Esporotricosis diseminada ulcerosa. Mujer de 42 años con diabetes mellitus tipo 2 descontrolada. La señora vendía y manejaba tierra para macetas.

seguidas por dos cadenas nodulares sobre ambos lados de la cara<sup>9</sup> (*figura 4*). A veces, se forman placas de color rojo violáceo, con lesiones satelitales más pequeñas. Se ha descrito también la variedad micetomatoide con lesiones fistulosas, supurantes, y aumento de volumen regional.<sup>10</sup>

En el diagnóstico diferencial del síndrome linfocutáneo se deben considerar la tuberculosis y las micobacteriosis, la tularemia, la coccidioidomicosis, la blastomicosis, el micetoma y otras micoses (*cuadro II*).<sup>1,2</sup>

La forma cutánea fija es más frecuente en las regiones geográficas hiperendémicas; es donde la población ha sufrido la infección inaparente y se ha sensibilizado frente a los antígenos del *S. schenckii* (prueba de la esporotricina positiva). En esta variedad no hay diseminación; la lesión inicial permanece como nódulo, chancro único o placa escamoverrucosa con los bordes bien limitados<sup>11</sup> (*figura 5*). El diagnóstico diferencial debe hacerse con leishmaniasis, cromomicosis, tuberculosis y nevo verrugoso. La forma diseminada ha sido la menos frecuente de todas (2%); se ha registrado principalmente en las personas inmunodeprimidas con SIDA,<sup>12</sup> diabetes mellitus descontrolada, linfoma, o uso de medicamentos inmunosupresores. Las

150

#### Cuadro II. Organismos causantes del síndrome cutanlinfangitis nodular

- A) Causas frecuentes
  - Sporothrix schenckii*
  - Nocardia brasiliensis*
  - Mycobacterium marinum*
  - Leishmania brasiliensis*
- B) Causas poco frecuentes
  - Nocardia asteroides*
  - Mycobacterias atípicas*
  - Francisella tularensis*
  - Blastomyces dermatitidis*
  - Coccidioides immitis*
  - Cryptococcus neoformans*
  - Histoplasma capsulatum*
  - Streptococcus aureus*
  - Pseudomonas pseudomallei*
  - Bacillus anthracis*
  - Virus del cowpox

lesiones nodogomosas o las placas verrucostrosas múltiples se distribuyen sobre la piel (*figura 6*), los huesos y otros órganos.

La lesión osteoarticular se diagnostica sólo cuando el clínico es alerta y cuidadoso. En una revisión de 30 casos extracutáneos, 80% tuvieron lesiones óseas, con artritis destructiva y osteolítica,<sup>13</sup> sinovitis o periostitis, principalmente en los huesecillos del carpo, metacarpo (*figura 7*) y tibia, radio-cúbito, fémur y costillas. Los enfermos se quejaban por dolor, hinchazón articular y limitación progresiva de la movilidad articular. La punción permitió obtener un exudado serosanguinolento, rico en proteínas y leucocitos, el cual se aprovechó para ser inoculado en los medios de cultivo apropiados. En general, las levaduras fueron más abundantes en los casos con esporotricosis extracutánea.

La esporotricosis pulmonar es causada por la inhalación de las esporas. Se ha diagnosticado principalmente en los hospitales urbanos que tienen la fortuna de contar con un laboratorista capacitado en micología clínica. Hoy en día se considera una enfermedad no rara, capaz de producir neumonitis lobar, pleuritis y lesiones cavitadas de pared delgada<sup>14</sup> (*figura 8*). En el diagnóstico diferencial deberá considerarse tuberculosis, histoplasmosis, paracoccidioidomicosis, coccidioidomicosis y blastomicosis.<sup>15</sup>

Los ojos han sido atacados con frecuencia baja, principalmente los párpados,<sup>16</sup> la conjuntiva y el aparato lacrimal (70% de los casos publicados), con lesiones ulcerosas o gomosas, que suelen extenderse por la órbita.

## Ecología y epidemiología

La esporotricosis es cosmopolita: en América,<sup>17</sup> los países con mayor número de casos publicados son: Brasil, México, Colombia, Perú, Uruguay, Venezuela, Costa Rica, Guatemala y los Estados Unidos de Norteamérica; Australia en Oceanía; en Asia son Japón, India, China oriental y Corea del Sur. En África sólo la República de África del Sur. En



Figura 7. Esporotricosis osteoarticular dolorosa de la muñeca y los dedos de la mano, registrada en un joven de 27 años VIH positivo. El hongo se cultivó a partir del exudado sinovial, obtenido por punción.



Figura 8. Esporotricosis pulmonar observada en un carpintero. En la placa simple del tórax se ven dos lesiones cavitadas con pared delgada, situadas en los lóbulos superiores. Los frotis y cultivos para *Mycobacterium* sp fueron repetidamente negativos, el *S. schenckii* se cultivó en las muestras obtenidas por endoscopia bronquial.

151



Figura 9. La esporotricosis es endémica en la República Mexicana, principalmente en los estados del centro, centro-occidente y regiones costeras con clima templado o tropical lluvioso. Se han registrado brotes epidémicos pequeños en Ciudad Juárez, Chihuahua, y en Monterrey, Nuevo León, originados por la importación de cerámica envuelta en zacate seco de Jalisco. Cortesía del Professor Pedro Lavalle, Centro Dermatológico Pascua, México, D.F.

Europa se conocen focos endémicos pequeños en Italia del Sur, España y las Islas Británicas.<sup>10</sup>

En México ocupa el segundo lugar entre las micosis subcutáneas, después del micetoma. Dos entidades federativas han registrado el mayor número de casos confirmados: la Ciudad de México<sup>18,19</sup> y Jalisco,<sup>20,21</sup> seguidos por Guanajuato (Acámbaro y Dolores Hidalgo).<sup>22</sup> Otro foco endémico principal se encuentra en la Sierra Norte de Puebla (Huachinango, Necaxa, Xicotepec de Juárez),<sup>22-24</sup> extendiéndose por los valles y cañadas de la Sierra Madre Oriental por Hidalgo y Veracruz (las Huastecas),<sup>25,26</sup> además del Estado de México, Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Nayarit, San Luis Potosí, Zacatecas y Querétaro (*figura 9*).

La esporotricosis ha sido muy rara o inexistente en los estados áridos de la frontera norte, la península de Baja California, Sinaloa<sup>27</sup> y Yucatán.<sup>28</sup> No hay estudios suficientes para juzgar la importancia de la endemia en el sureste tropical y selvático. No se ha podido establecer una relación clara de la incidencia según meses del año, porque los enfermos acuden a los servicios de salud tardíamente, pero en el Centro Dermatológico Pascua, en la Ciudad de México, Distrito Federal, se registró una afluencia mayor a fines del otoño cuando se ha levantado la cosecha del maíz-rastrojo y, en la época invernal seca, particularmente a comienzos de noviembre, cuando tiene lugar la fiesta de los Fieles Difuntos: los mexicanos desde tiempos prehispánicos celebran la muerte preparando bellas ofrendas florales y guirnaldas, esperando el regreso anual de los familiares fallecidos.<sup>22</sup> La venta de rosas y adornos florales se dispara también el 12 de diciembre con la fiesta de la Virgen Guadalupana patrona de México, y durante las festividades navideñas, el 14 de febrero día del amor y la amistad. México es la tierra del maíz, las flores y las rosas y las artesanías de barro hechas a mano; estas últimas se producen en Tlaquepaque y Tonalá, Jalisco, y se acostumbra empacarlas con zacate seco para su exportación a Monterrey, Nuevo León, y Ciudad Juárez, Chihuahua, en donde se han registrado algunas epi-

demias «de los alfareros».<sup>29,30</sup> La esporotricosis es dermatosis ocupacional propia de los campesinos (25%), en contacto diario con la tierra, la leña, las acacias, la paja mohosa del trigo y los zacates diversos, usados también para llenar los huacales con frutas tropicales, otros oficios de riesgo alto son los desempeñados por albañiles, y trabajadores de la construcción, pepenadores, plantadores de árboles, madereros, carpinteros, floricultores, cafetaleros y trabajadores de los viveros. Tienen riesgo importante también las amas de casa (25%), al cultivar y mantener gran variedad de plantas de ornato, rosales, bugambilias y cactáceas espinosas. Los menores de 15 años (29%) se infectan al jugar entre los matorrales secos y espinosos, produciéndose lesiones faciales y de los miembros superiores, rara vez sufren las mordeduras y arañazos de ratas, ardillas, tejones, gatos domésticos, iguanas o las picaduras de insectos.

Las regiones endémicas reconocidas tienen como características: clima subtropical o templado con lluvias abundantes en verano, temperatura media anual que no rebasa 39 °C e invierno frío (2 a 10 °C) con heladas y granizadas ocasionales. En general, la esporotricosis es más prevalente en las comunidades rurales con nivel socioeconómico bajo. En el laboratorio el desarrollo óptimo del *Sporothrix schenckii* se da entre 25 y 27 °C, Brown y colaboradores demostraron que el hongo crecía bien sobre las maderas usadas en los andamios de las minas (26-28 °C), siempre y cuando la humedad relativa no cayera por debajo de 92%; sin embargo, el hongo parecería ser resistente al frío, habiéndosele aislado incluso a partir de las carnes refrigeradas.

Experimentalmente, la doctora Kwong-Chung observó que las capas termotolerantes, a 37 °C se multiplicaban en los órganos internos de las ratas y ratones inoculados, pero crecían mejor y más rápidamente en los testículos. Los roedores mantenidos entre 2 y 5 °C presentaban lesiones miliares abundantes en las vísceras y músculos de las plantas traseras; a 13-17 °C los animales

mostraban lesiones sólo en las plantas posteriores, pero a 31 °C no se desarrollaba ninguna lesión.

La esporotricosis endémica es muy rara en las regiones geográficas áridas o desérticas del mundo; por el contrario, se han descrito ciertas regiones hiperendémicas situadas en lugares montañosos lluviosos y húmedos con inviernos fríos, tal es el caso de Abancay, Apurinac, en los Andes peruanos. En el noroeste de la India se ha descrito otro foco en Himachal-Pradesh, situado dentro del cinturón lluvioso del sub-Himalaya, extendiéndose hacia el noroeste por Manipur, Assam y Bengala occidental, localidades en la cuenca hidrológica de los grandes ríos Ganges y Bramaputra. En México, el doctor Pedro Lavalle identificó como una zona «rural e hiperendémica», compuesta por varios pueblos y rancherías indígenas del norte montañoso en Puebla.

En la práctica clínica, la esporotricosis cutánea ha mostrado predilección por las partes más frías y expuestas del cuerpo humano; en los 822 casos clínicos de Jalisco: punta de la nariz, párpados y mejillas de los niños (15.57%); los dedos y dorso de las manos, las muñecas y los brazos (45.62%); las porciones distales de las extremidades inferiores (23.11%); tronco (7.06%); diseminada (1.22%) y sin determinar (7.42%).<sup>20-47</sup> En las series clínicas publicadas en México, se registró poca diferencia en la distribución según géneros 1: 1; pero al examinar las edades, el grupo más afectado fue el de niños menores de 15 años (30%), seguido por los adolescentes y adultos jóvenes de 16 a 45 años (32.61%), y los adultos mayores 46 a 61 o más (28.45%).

Hasta hace muy poco, se creía que el *Sporothrix schenckii* (Hektoen y Perkins, 1900) era una especie única. Hoy sabemos que existen cuando menos cinco clases distintas dentro del complejo molecular, separado por el conocimiento de las secuencias de tres genes: la quitina sintetasa, beta-tubulina y calmodulina.<sup>3,48</sup> Antes de 1962, el profesor F. Mariat había observado la gran variedad morfológica de 10 cepas mexicanas y la virulencia desigual

para los ratones y los cricetus (hámster); en esta última especie, el hongo suele formar «cuerpos asteroides» y granulomas mixtos con presencia de levaduras redondas (*figura 10*) y en «navette» (puro habanero), y ocasionalmente filamentos tisulares.<sup>49</sup>

Algunas cepas mexicanas virulentas forman microconidios triangulares de paredes gruesas, solitarios o agrupados «en racimo» color café oscuro, por la presencia de melaninas<sup>50</sup> (*figura 11*). Los microconidios hialinos examinados al detalle suelen ser globosos (*S. brasiliensis* y *S. globosa*); triangulares o en «navette» (*S. schenckii sensu stricto*), francamente ovoides y de un tamaño más grande (*S. mexicana*) (*figura 12*). Para los laboratoristas con menor entrenamiento micológico, he preparado un esquema simplificado para reconocer con seguridad al *S. schenckii*: a) micelio tubular fino y ramificado hialino, b) conidias en «flor de durazno» (simpodiales) agrupadas sobre un talluelo (conidióforo) en ángulo recto; y c) conidias ovoides y sésiles solitarias (radulosporas), teñidas de color azul lactofenol<sup>50-52</sup> (*figura 13*).

El cuadro III muestra las propiedades fisiológicas diferenciales más recomendadas para separar las cinco clases principales incluidas dentro del grupo *Sporothrix schenckii*, y las propiedades antifúngicas medidas *in vitro* contra varios medicamentos de uso clínico en humanos y animales. En 1969, Ajello y Kaplan reportaron otra especie llamada *S. schenckii var lutei*, poseía conidios más grandes hasta 10 µm, formaba también blastoconidias y cuerpos escleróticos muriformes (con septación interna), con micelio pigmentado y, pudiera confundirse con los cuerpos encontrados en los tejidos de quienes sufren la cromoblastomicosis.<sup>53</sup> Más recientemente, Marimon y colaboradores han presentado argumentos para considerarlo como especie totalmente separada del complejo *S. schenckii*.<sup>4</sup> El primer caso fue aislado de una lesión osteolítica en la cabeza de un hombre sudafricano;<sup>53</sup> el segundo caso se reportó en Italia, basándose sólo en el examen histopatológico<sup>54</sup> y el tercer caso se diagnosticó en la India.<sup>55</sup>

**Cuadro III.** Diferenciación fenotípica de cinco especies propuestas dentro del complejo-grupo filogenético del hongo *Sporothrix schenckii*.

Especie propuesta	Presencia de colonias sésiles pigmentadas	Colonias en ADP a 30 °C con diámetro < 50 mm	Crecimiento a 37 °C	Asimilación de carbohidratos	
				Sacarosa	Rafinosa
<i>S. albicans</i>	No	Sí	Sí	(+)	(-)
<i>S. brasiliensis</i>	Sí	No	Sí	(-)	(-)
<i>S. globosa</i>	Sí	No	No	(+)	(-)
<i>S. mexicana</i>	Sí	Sí	Sí	(+)	(+)
<i>S. schenckii sensu stricto</i>	Sí	No	Sí	(+)	(+)

- De las 127 cepas estudiadas, todas crecieron entre 20-30 °C y ninguna se desarrolló a los 40 °C. El gene nuclear de la calmodulina es un buen marcador de todas las especies; así se demostró que *S. albicans*, *S. inflata* y *S. lutei* son especies muy diferentes al *S. schenckii*. El género *Ophiostoma stenoceras* no es el telemorfo (fase sexuada) del *S. schenckii*.
- Agar-dextrosa-papa, aunque en los laboratorios clínicos se usa el agar-glucosado de Sabouread con antibióticos.

## Diagnóstico por laboratorio

En el laboratorio clínico pueden recibirse los productos biológicos siguientes: a) pus, o escamas de lesiones cutáneas, tomadas con bisturí de hoja fija, recuperándolas en una caja de Petri o portaobjetos limpios, colocándolos debajo del área afectada; en el segundo caso, se recubren con otro portaobjetos y se envuelven con la hoja de papel, anotando los datos del enfermo. Las lesiones exudativas se toman con hisopo estéril y humedecido, colocándolo dentro de un tubo de ensayo. Las muestras deben ser transportadas y procesadas rápidamente en el laboratorio. Antes de tomar la muestra, debe hacerse la limpieza de la piel con una torunda impregnada con alcohol al 70%, para quitar las bacterias contaminantes superficiales. La calidad de la toma, la limpieza y la experiencia-preparación y meticulosidad del laboratorista son vitales para evitar los desperdicios y malos diagnósticos.

El profesor Elbio Gezuele del Instituto de Higiene en Uruguay, demostró la importancia de desechar el pus que surgía a la digitopresión primaria mediante la limpieza con grasa estéril y lavado suave con suero fisiológico, comprimiendo nuevamente hasta obtener pus y exudado serosanguinolento

mezclados, procedentes de los granulomas más profundos.

El examen micológico intensivo y más productivo se realizó por microscopia «en fresco», con aumento medio 200X, entre lámina y laminilla, con un máximo de dos-cinco laminillas/caso y con observación microscópica «meticulosa y dedicada». En un grupo de 48 pacientes se logró demostrar los «cuerpos asteroides» (CAS) extracelulares que están formados por una levadura central única o monobrotante, redondeada por clavas radiales, con longitud desde muy pequeñas hasta dos o tres veces el diámetro de la levadura, con formas aciculares o triangulares más gruesas. A veces, se registró otro morfopatrón «en cascara» y concéntrico, que simulaba una pared gruesa alrededor de la levadura única. Al teñir con Gram o PAS, en pocos casos, se logró observar levaduras alargadas en «puro habaño» intracelulares, encontradas principalmente en las etapas más tempranas de la infección (*figuras 14 y 15*). Con la búsqueda sistemática de CAS en fresco, se acortó el plazo del diagnóstico, siendo un método práctico, eficiente, barato y al alcance de los laboratorios pequeños con laboratoristas deseosos de hacer bien su trabajo, con máximo beneficio para el enfermo, el médico tratante y la institución.<sup>56-58</sup>

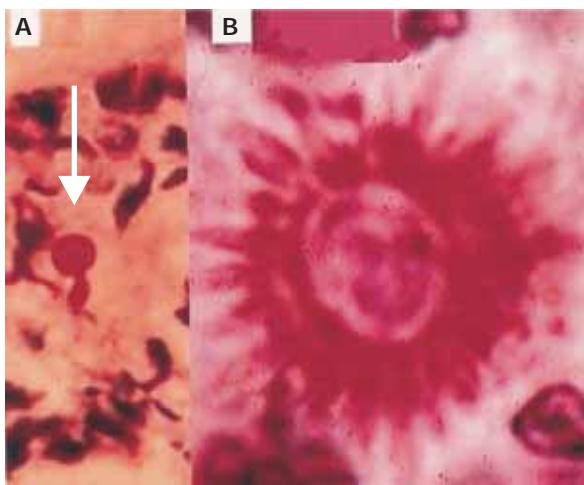


Figura 10. A: levadura redondeada de color rojo brillante, (flecha) dentro de microárea necrótica. B: cuerpo asteroide con microclavas periféricas radiales observadas en los tejidos del hámster inoculado. PAS. Objetivo de inversión 1, 200X.

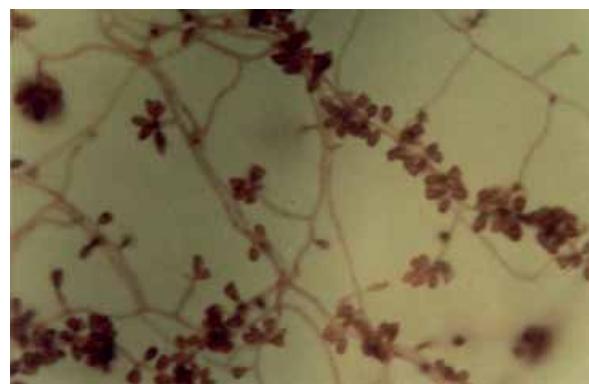
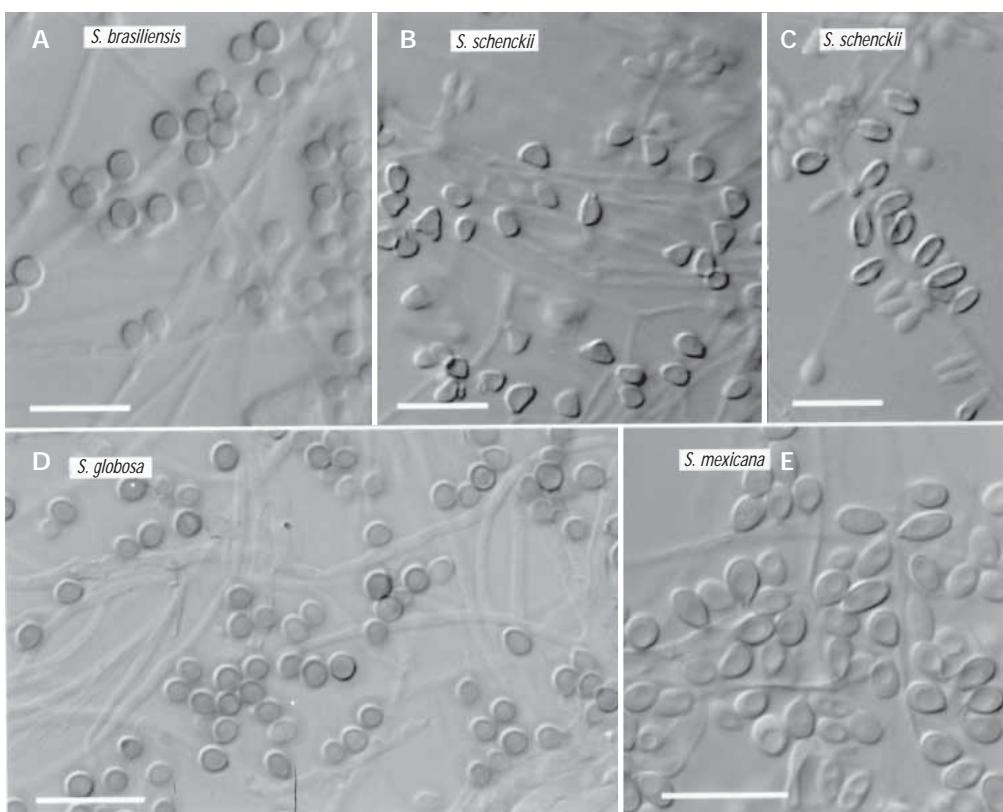


Figura 11. Se ven las hifas ramificadas y tubulares (1-2  $\mu$ m de diámetro), recargadas con microconídios en forma de un «matraz invertido y triangular», sésiles y solitarios o bien agrupadas en racimos (simplo diales), sostenidos por un conidióforo corto. 1,417X.

Imágenes en color en: [www.medigraphic.com/patología-clínica](http://www.medigraphic.com/patología-clínica)



155

Figura 12. El tamaño medido y la forma de los microconídios son criterios útiles para lograr una taxonomía de mejor calidad y consistencia diagnóstica.

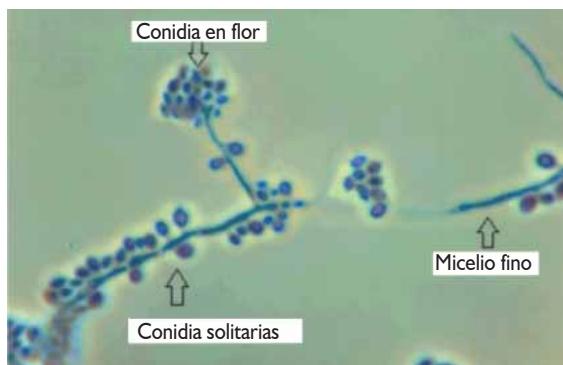
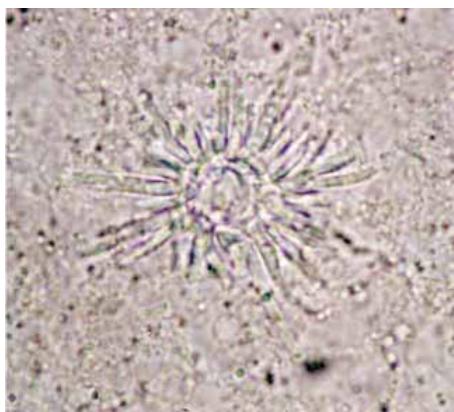


Figura 13. Microestructuras características y diagnósticas del complejo *Sporothrix schenckii*. Tinción azul-algodonoso de lactofenol, 1,200X.



156

Figura 14. Examen microscópico «en fresco» del líquido sero-hemático en esporotricosis. Se ve un cuerpo asteroide con la levadura única en el centro y las clavas radiadas periféricas, 1,000X. Cortesía del Instituto de Higiene de Montevideo, Uruguay.

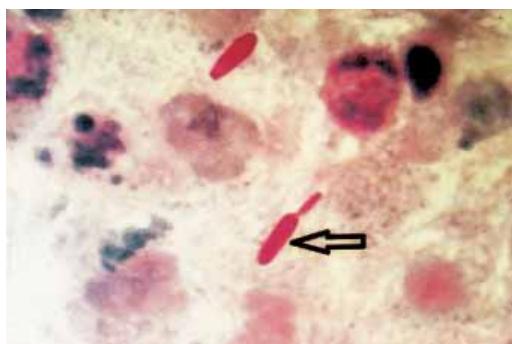


Figura 15. Frotis teñido del líquido serohemático en la esporotricosis temprana. En el centro se ven dos levaduras alargadas «en puro», teñidas de color rojo carmín intenso. Tinción de PAS, 1,200X.

Imágenes en color en: [www.medigraphic.com/patologiaclinica](http://www.medigraphic.com/patologiaclinica)

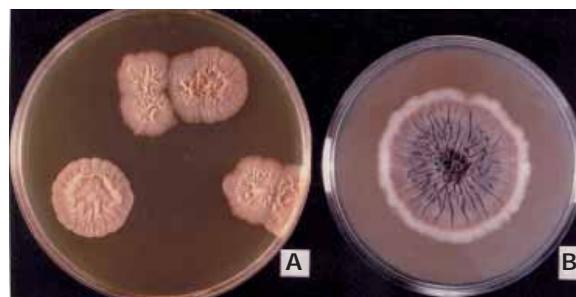


Figura 16. A: Colonia joven del *Sporothrix schenckii* (cinco días) húmeda y cremosa. B: Colonia madura (2.5 semanas) color marrón, con pliegues longitudinales y cráter central. Medio papa-dextrosa-agar con ciclohexamida a 25 °C.



Figura 17. Colonia membranosa. La periferia es de color más oscuro, en el centro se ven manchones de micelio blanco. Agar Saboureaud a 20°C



Figura 18. Examen microscópico del micelio ramificado. La punta del señalador muestra dos varas «simpodulosporas en flor de durazno», las radulosporas (conidios) abundantes, miden 2 x 3 a 2 x 6  $\mu\text{m}$  y se unen en «camisa» sobre las hifas, por medio de pedículos muy pequeños.

## Cultivos

El aislamiento del hongo se consigue al sembrar el pus, el líquido sinovial o el material de biopsia obtenido por punch 3-5 mm a partir de una lesión dura y elevada. El *S. schenckii* es resistente a la ciclohexamida y crece en los medios micológicos sólidos a 25-30 °C. Se acostumbra extender el pus o el material de biopsia molido en mortero estéril sobre la superficie del agar de Saboureaud, añadido con productos antibacterianos (cloranfenicol), y cuando se les incuba a 35-37 °C, se detiene o se anula el crecimiento del hongo. Es conveniente mantener los tubos en observación por días a tres semanas.<sup>50,59</sup>

Las colonias filamentosas jóvenes son húmedas, de color blanco o cremoso que a los pocos días toman color marrón claro o negro (*figuras 16 y 17*) a veces, la coloración es sólo sectorial y el centro umbilicado con estriaciones del centro a la periferia, pero nunca son flocosas, ni agodonosas, aunque la colonia sea negra las hifas (micelio) son hialinas, < 3 µm de diámetro, septadas y ramificadas «en haz», con diámetro colonial promedio 3-4 cm a las dos semanas (*figura 18*). Para mantener las características coloniales es ventajoso liofilizarlas.<sup>59</sup>

La fase levaduriforme se obtiene a 37 °C sembrando el micelio en medios enriquecidos como agar-sangre, agar-infusión-cerebro-corazón; el crecimiento aparece entre tres y cinco días: colonias cremosas, húmedas y blanquecinas de aspecto bacteriano. Microscópicamente se ven las levaduras (blastocnidias) 2-4 x 3-6 µm, ovales o subglobosas con brotes múltiples. En tales condiciones, la levadura genera dos proteinasas: la I con peso molecular (pm) de 36 mil 500 (semejante a quimiotripsina), y la II con peso molecular de 39 mil (semejante a catespsina), capaces ambas de hidrolizar el estrato córneo, las colágenas y la elastina, probablemente funcionan como factores de la virulencia fúngica.

## Histopatología

La biopsia-punch de la lesión se parte en dos fragmentos: la mitad se usa para el cultivo, y la

otra porción se fija en formaldehído al 10% para ser procesada en el laboratorio de histología, por inclusión en parafina y cortes seriados<sup>60</sup> múltiples (cuando menos 20). El método es rápido, resulta mejor cuando el patólogo examina meticulosamente muchos cortes, bien teñidos y con técnicas adecuadas: hematoxilina-eosina, periódica-ácido de Schiff (PAS) y metenamina-plata de Gomori (GG). La primera es más útil para valorar la respuesta inflamatoria piogranulomatosa con pequeños cúmulos de polimorfonucleares neutrófilos, rodeados por células epiteloides, linfocitos y células gigantes multinucleadas.<sup>61</sup> En la epidermis hay una hiperplasia pseudoepiteliomatosa (*figura 19*) con hiperqueratosis y paraqueratosis. Los granulomas suelen ser tuberculoides, histiocíticos o supurativos (mixtos), con microabscesos intraepidérmicos<sup>57,62</sup> (*figuras 20 y 21*).

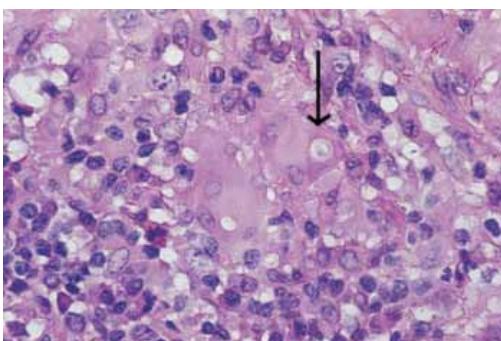
En otros cortes es posible observar, dentro del granuloma, la levadura única y central, rodeada por un material eosinofílico, con clavas periféricas, características de los cuerpos asteroideos<sup>63</sup> (*figura 22*), realmente son depósitos de complejos inmunes depositados y acumulados sobre la superficie vellosa-antigénica de la levadura.<sup>64</sup>

Se acostumbra inocular en el testículo de un cobayo o ratón las cepas aisladas en el laboratorio. El estudio histológico permite demostrar las levaduras: redondeadas, naviculares o en «puro habanero»<sup>65,66</sup> (*figura 23*). A veces el patólogo recibe la biopsia previamente fijada, y ya no es posible realizar el cultivo. En tales casos, el hongo se demuestra con el uso selectivo de los anticuerpos marcados con fluoresceína o avidina-peroxidasa (*figura 24*). De ese modo, puede confirmarse el diagnóstico etiológico con gran seguridad y rapidez.<sup>67,68</sup>

Los gatos domésticos afectados por la esporotricosis suelen presentar lesiones ulcerosas diseminadas, principalmente sobre la cabeza y patas delanteras (*figura 25*). El raspado de tales lesiones, al ser examinado en preparaciones microscópicas de frotis delgados, después de teñirlo con Gram o Giemsa, muestran miríadas enormes

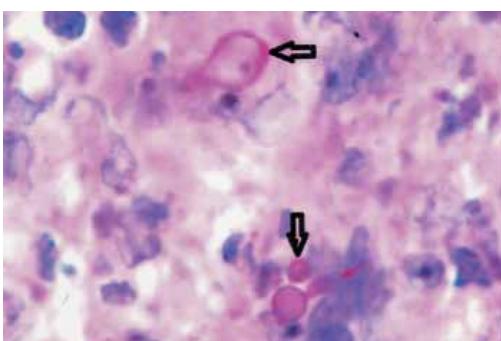


**Figura 19.** Esporotricosis localizada, biopsia de piel. Hipertrofia pseudoepitelomatosa epidérmica, muy prominente, con granulomas mixtos, supurativos (neutrófilos, macrófagos y linfocitos-activados), en la dermis alta. Tinción HE, 216X.

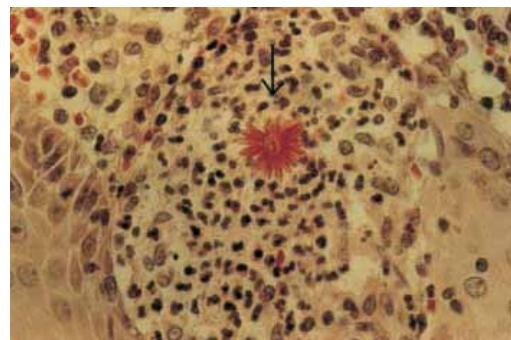


158

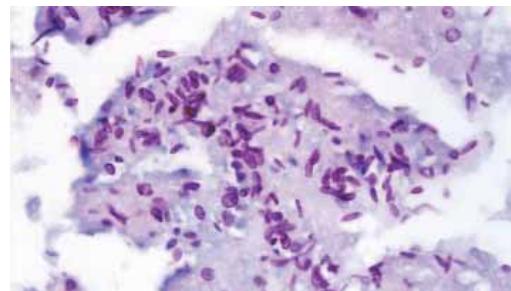
**Figura 20.** Esporotricosis localizada en la dermis alta, se ven granulomas con neutrófilos, células epitelioideas abundantes y linfocitos. La flecha señala una levadura única, rodeada por un halo birrefringente. El diagnóstico: granuloma micótico inespecífico. Tinción HE, 208X.



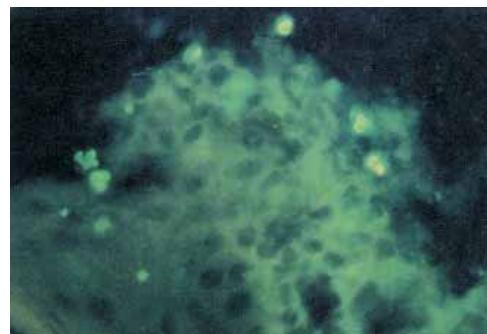
**Figura 21.** Corte microscópico seriado del caso 20. Con la tinción de PAS se encontraron dos levaduras: la de arriba, ovoide con un brote único; la de abajo, es redondeada, la pared celular del hongo se tiñe más intensamente de rojo, con dos brotes (flechas). Diagnóstico: Esporotricosis granulomatosa.



**Figura 22.** Esporotricosis linfagítica. En la dermis alta, se ve un granuloma con abundantes neutrófilos, rodeados por hileras como palizadas de células epitelioideas y linfocitos, la presencia de un cuerpo asteroide eosinófilico, característico. Diagnóstico: Esporotricosis granulomatosa piógena. Tinción HE, 1,350X.



**Figura 23.** Corte histológico de un testículo de ratón, inoculado con *Sporothrix schenckii*. Se ven levaduras abundantes, teñidas de color rojo magenta con múltiples formas: redondeadas, ovoides, naviculares y de un «puro habanero». Tinción PAS, 1,350X.



**Figura 24.** Corte de piel prefijado en formaldehído. Se usaron los anticuerpos específicos, preparados en los conejos de laboratorio y marbetados con fluoresceína. Las levaduras tomaron el color verde-amarillo (como estrellas brillantes). Inmunohistotinción, 200X. Diagnóstico: Esporotricosis.

Imágenes en color en: [www.medigraphic.com/patologiaclinica](http://www.medigraphic.com/patologiaclinica)

de levaduras intra y extracelulares (*figura 26*); por tal razón, los felinos son sumamente contagiosos y pueden pasar la infección con facilidad a las amas de casa, los niños y los veterinarios, cuando son manejados sin precaución. El hongo se ha encontrado también en las uñas, la cavidad oral y en las secreciones respiratorias de los gatos atacados por el *S. schenckii*; por tales razones, la infección suele transmitirse también por arañazos, rasguños o mordeduras de los felinos enfermos, incluso al manejárslos descuidadamente, aunque no exista ningún antecedente de traumatismo cutáneo previo. En Río de Janeiro, Brasil, se ha descrito una epizootia felina brutal y galopante con muchas víctimas humanas, desatada principalmente en las favelas urbanas más pobres, en donde existe una población humana y hacinada en convivencia diaria con gatos callejeros infectados y, a veces, la infección se contagia también a los perros del vecindario.<sup>69-71</sup>

## Pruebas inmunológicas

La intradermorreacción con esporotricia micelial (IRE) se efectúa usando la fracción química del complejo molecular péptido-polisacárido, constituido por ramnomananas (penta y tetrasacáridos) específicos del *S. schenckii* (*figura 27*). Experimentalmente, las ramnomananas no reaccionaban con la concavalina-A en pruebas de precipitación y doble difusión; sin embargo, la fracción glicopeptido (péptino-ramnomananas) sí reaccionó con lectina A. Las cadenas de oligosacáridos O-ligadas tenían hasta cinco monosacáridos y se logró individualizarlos químicamente: D-manosa, ácido D-glucurónico; residuos de L-ramnosa. La presencia adicional de D-manopiranósido 2-O sustituido con otro residuo de manosa terminal no reductora explicaría la reacción con la lectina A. Además, las cadenas O-glicosídicas poseían ciertos determinantes antigenicos del ácido-D-glucurónico mono y disubstituido por manosa terminal (L. Lópes Alves, 1994). Con tal estruc-

tura elaborada, los científicos hicieron factible la preparación de un antígeno purificado y altamente específico para uso clínico (serodiagnóstico); debe aclararse que el pentámero de ramnomananas con ácido glucurónico no ha sido encontrado en ninguna otra especie de hongo patógeno conocida (*cuadro IV*). En Brasil se encuentra en desarrollo final un método de ELISA con sensibilidad de 90%, al haberse probado contra los sueros de 92 humanos enfermos, todos ellos con cultivo positivo. Esta prueba novedosa ha servido incluso para confirmar el diagnóstico en algunas lesiones fijas y pequeñas, que no pudieron ser confirmadas con otros métodos micológicos.

En la piel se inyecta 0.1 mL del antígeno péptido polisacárido crudo y la lectura se hace a las 48 horas, considerándose positiva cuando la induración es de 5 mm o mayor (esa dosis corresponde aproximadamente a  $5 \times 10^7$  células/mL).<sup>72</sup> La prueba IRE puede ser diagnosticada con algunos pocos resultados negativos, principalmente en los enfermos inmunodeprimidos (SIDA), con lesiones diseminadas. Las personas sanas habitantes de las áreas endémicas pueden haber tenido una infección previa, subclínica y silenciosa con IRE positiva, o bien, pudieron haber sido expuestos a los antígenos del *S. schenckii* por la ocupación (jardineros, campesinos, trabajadores de los viveros, veterinarios), por ello la IRE se ha usado también en las encuestas epidemiológicas. El antígeno (Ag) no está disponible comercialmente; pero en México, Brasil<sup>73</sup> y la India

159

**Cuadro IV. Inhibición máxima (%) del péptido ramnomanoso por inmunoprecipitación contra diferentes o-ligados, oligosacáridos (a la concentración de  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ).\***

Oligosacárido	Porcentaje de inhibición
Trisacárido	28
Tetrasacárido	63
Pentasacárido	82
Tri+pentasacárido	95

\* Modificado: por cortesía de L Travassos y LLópes-Alvares, São Paulo, Brasil.

ha sido aplicada sin efectos adversos, la desventaja principal es el dolor local, por lo que la gente se resiste a ser inyectada o no acude a la lectura del resultado. Nosotros comparamos el uso del polisacárido precipitado contra el antígeno levaduriforme completo en 359 enfermos respiratorios: los que reaccionaron con el polisacárido fueron 33 (9.1%) y frente al Ag levaduriforme 139 (38.7%); el mayor porcentaje de reacciones cruzadas se dio con *Histoplasma capsulatum*.<sup>74</sup> En 1963, Rotberg A y Abram Z, académicos de la Escola Paulista de Medicina, publicaron dos casos de esporotricosis linfocutánea, con edades promedio de 13.6 años, observadas en la Secundaria del Seminario de São Paulo. Se investigó la prevalencia de los reactores positivos a la esporotricina en otros 59 niños sanos y alumnos de las dos escuelas, con reactividad cutánea promedio de 28.8%. Sin embargo, en un subgrupo de 19 escolares que acostumbraban jugar entre los matorrales espinosos del traspasio fue 63.1%; contra sólo 12% en 40 niños no expuestos a los traumatismos causados por las plantas y leños espinosos.<sup>75</sup> Estos resultados apoyaron la hipótesis de la esporotricosis endémica y subclínica existentes en los lugares geográficos favorables al desarrollo y la penetración del hongo.

160

Algunos pocos laboratorios acostumbran titular los sueros de los enfermos con formas cutáneas diseminadas, lesiones osteoarticulares, enfermedad pulmonar o meningitis (líquido cefalorraquídeo), utilizando la prueba de aglutinación con partículas de látex sensibilizado (AL). Generalmente se obtienen títulos en los rangos de 1:4 a 1:512, considerándose positivos aquéllos de 1:4 o más como evidencia presuntiva de la esporotricosis, aunque se han descrito reacciones inespecíficas en el rango bajo 1:4 a 1:8; pero en la esporotricosis pulmonar, los títulos crecientes o un título alto y sostenido son valiosos para afianzar la sospecha del clínico astuto.<sup>76</sup>

En Venezuela, se ha usado la prueba de inmunodifusión, aunque sólo es positiva en 80% de los casos.<sup>77</sup>

## La nueva epidemiología molecular

Los trabajos del profesor A. González Ochoa facilitaron la obtención de reactivos de laboratorio, útiles para explorar la inmunidad celular en la esporotricosis endémica<sup>32,78,79</sup> (*figura 28*). En todas las series publicadas se ha demostrado la importancia de la ocupación como un factor de riesgo, principalmente en los campesinos y jardineros (*figura 29*) que trabajan en contacto diario con la tierra fértil y húmeda, rica en material vegetal (tierra para macetas), así como en quienes manejan zacates secos para empaque, rosales paja mohosa o musgo esfagno de jardinería almacenado, tienen un riesgo considerablemente mayor.<sup>80</sup>

En la República del Uruguay, se confirmó repetidamente la incidencia estacional restringida de la esporotricosis humana asociada a la captura y cacería del armadillo *Dasyurus septemcinctus* o «mulitas» (*figura 30*). El animal excava madrigueras y túneles en la tierra y los rellena con zacate en el que el doctor Mackinnon aisló el hongo.<sup>81,82</sup> En México, el enfermo más joven fue un recién nacido; la madre lo acostó en el piso sobre un petate y, al dejarle solo, una rata le infligió varias mordeduras en la cara, habiendo desarrollado la esporotricosis linfágica bilateral (*figura 31*).<sup>83</sup> En el Estado de Jalisco, México, en un lapso de 37 años se diagnosticaron 822 casos nuevos, de los cuales 238 (29%) fueron en niños menores de 15 años;<sup>20</sup> mientras que en el Servicio de Dermatología del Hospital General de la Ciudad de México, en el lapso de 1994-2004, hubo 112 casos confirmados y, de ellos, 25 correspondieron a niños; cinco de éstos fueron infectados por mordeduras o lesiones ocasionadas por animales: tres por mordedura de ardillas, otro por el arañoazo de un gato y, sólo uno por la mordedura de rata.<sup>1,83</sup>

En 1992, un veterinario guanajuatense presentó lesión ulcerosa sobre el dorso del dedo índice de la mano izquierda (*figura 32*), fue tratado con antibióticos sin mejoría. Dos semanas después presentó



Figura 25. Gato doméstico con úlceras profundas y supurantes, situadas sobre la cabeza y las patas delanteras del animal enfermo, con esporotricosis.

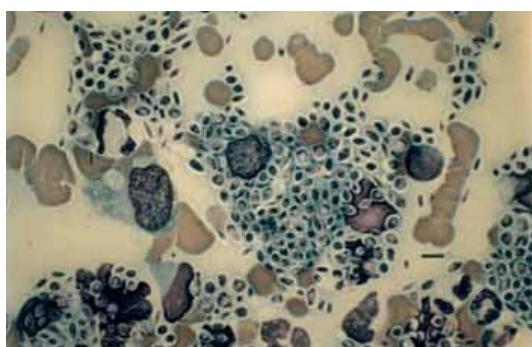


Figura 26. Frotis de un felino (caso de la figura 25). Se ven levaduras ovoides y alargadas incontables, rodeadas por un halo birrefringente, algunas están dentro de los macrófagos. Los felinos infectados son muy contagiosos, por lo que deben manejarse con guantes y mucha precaución.

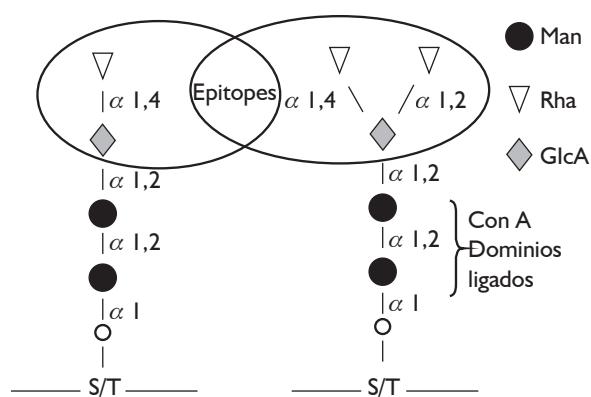


Figura 27. La superficie vellosa más externa del *Sporothrix schenckii* lleva un antígeno muy específico de péptidos-polisacáridos, que se liga con la concavalina A. Las ramnomananas constitutivas tienen la capacidad de inducir la síntesis de inmunoglobulinas de las clases IgM, IgG e IgA. Cortesía del profesor Luis Travassos, Sao Paulo, Brasil.

Imágenes en color en: [www.medigraphic.com/patologiaclinica](http://www.medigraphic.com/patologiaclinica)



Figura 28. El gran investigador y dermatólogo profesor Antonio González Ochoa, trabajó en la clínica y el laboratorio, generó trabajos científicos numerosos sobre la epidemiología y el diagnóstico laboratorial de las micosis endémicas. Fue el sembrador y forjó así un grupo creciente de interesados en el estudio de los hongos patógenos en México.



Figura 29. Los campesinos y los jardineros del Bajío mexicano trabajan durante el verano lluvioso, en contacto cotidiano con la tierra, la leña, los carizos, las puntas de rastrojo, los zacates y las plantas o matorrales espinosos, capaces de causarles traumatismos de la piel, por donde penetra el hongo, iniciando así el proceso de la esporotricosis cutánea, subclínica o sintomática.



Figura 30. Los armadillos sudamericanos llevan el *Sporothrix schenckii* en las uñas de las patas. Los cazadores se infectan cuando intentan desalojar el animal de la guarida subterránea o al arañarse con las herramientas impregnadas con tierra.

seis nodulaciones escalonadas, eritomatovioláceas que seguían el trayecto ascendente de los linfáticos. Se tomó muestra por aspiración de una lesión dura y no abierta, y biopsia del reborde primario ulcerado; en el cultivo se aisló *S. schenckii*. Tres semanas antes de comenzar el chancre digital, el veterinario trató a un gato callejero, macho, el cual tenía úlceras necróticas sobre la cabeza, se pensó eran consecuencia de la pelea sostenida contra otro gato. Las heridas del animal fueron limpiadas, desbridadas y suturadas. Tres semanas más tarde el gato fue llevado a revisión; en ese momento las úlceras estaban más extendidas por necrosis periférica con exudado purulento abundante (*figura 33*). En la muestra teñida por Giemsa se observaron neutrófilos y macrófagos numerosos, en algunos pocos campos microscópicos había levaduras redondeadas y en «puro habanero», 30-10 µm de diámetro, la siembra en agar micobiótico con cicloheximida se identificó la colonia del *Sporothrix schenckii*. El gato debilitado al extremo sufrió la eutanasia y no se hizo el estudio *post mortem*.

162

En los Estados Unidos de Norteamérica en el lapso 1982-1991, se publicaron ocho instancias de esporotricosis humana adquirida por manejo de gatos enfermos (*cuadro V*). En 1992, el doctor

Kurt Reed,<sup>84-91</sup> de los Laboratorios Marshfield, Wisconsin, EUA, tuvo la oportunidad de examinar con detalle las cepas aisladas de otro gato enfermo y también los cultivos logrados de un veterinario con lesión facial ulcerada; este profesional había manipulado sin precaución al gato enfermo.<sup>92</sup> El doctor Reed hizo uso del método genético molecular de Cooper y Dixon:<sup>93,94</sup> el ADN aislado del hongo fue separado en el laboratorio y sometido a proceso de partición enzimática con endonucleasas de restricción, los fragmentos resultantes fueron separados por electroforesis en gel de acrilamida, finalmente se obtuvieron dos tiras con bandas teñidas (*figura 34*), al compararlas visualmente se demostró que los perfiles moleculares de ambos aislamientos eran idénticos, es decir, se confirmó la hipótesis inicial de que el gato enfermo era la fuente única de la infección ocupacional en el veterinario. En otros laboratorios de investigación se han desarrollado técnicas muy finas para analizar la ultraestructura de las levaduras del *S. schenckii* (*figuras 35 y 36*).

Se afirmaba que la transmisión zoonótica de la esporotricosis era muy rara.<sup>92</sup> Sin embargo, a partir de 1998 en las favelas más pobres y marginadas de Río de Janeiro, Brasil, se diagnosticó una epidemia de esporotricosis humana con crecimiento expo-

Cuadro V. Casos y brotes de esporotricosis humana adquirida por manejo, arañazo o mordeduras de gatos en los Estados Unidos de Norteamérica, 1982-1991.

Referencia	Número de casos		Enfermos con antecedentes traumáticos en el sitio infectado		
	Propietarios de gatos	Veterinario y/o ayudante	n	Total	Año
84	4	2	0	6	1982
85	0	2	1	2	1983
86	0	1	1	1	1984
87	1	2	1	3	1985
88	2	5	3	7	1986
89	1	2	3	3	1989
90	1	0	0	1	1991
91	0	1	0	1	1986
Total	9	15	9	24	

Fuente: Cortesía del Dr. Kurt D Reed, Marshfiel Lab Microbiology, Wisconsin, USA.



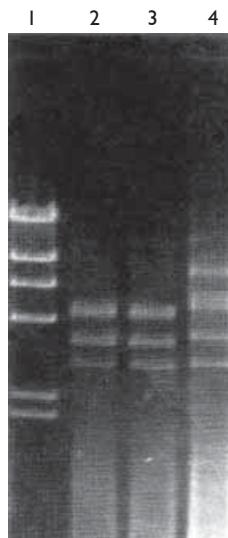
**Figura 31.** En Guadalajara, Jalisco, se diagnosticó el caso más joven de esporotricosis, registrado en un neonato de cuatro días. Fue mordido en la cara por una rata y, a pesar del tratamiento, tuvo cicatrices residuales deformantes. Cortesía del Dr. Barba-Rubio.



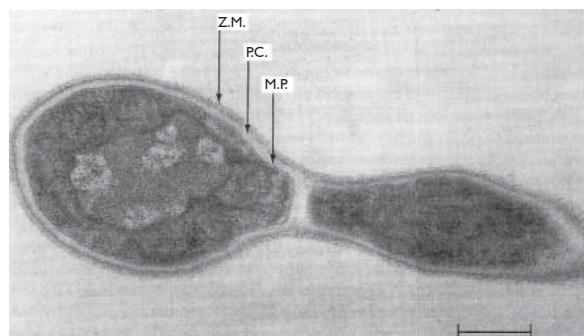
**Figura 32.** Esporotricosis ulcerosa inicial (chancro), registrada en un médico veterinario, más tarde presentó lesiones nodulares alineadas (variedad linfagítica). La enfermedad se asoció con el manejo descuidado de un gato con úlceras supurantes.



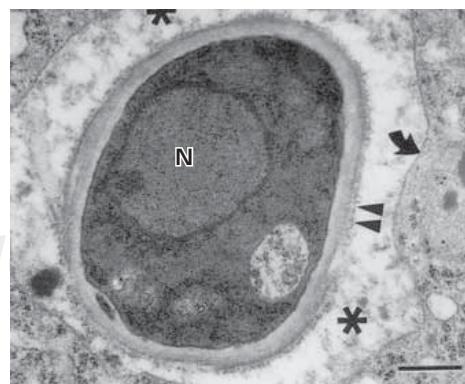
**Figura 33.** Gato con múltiples úlceras necróticas y supurantes, dispuestas sobre la cabeza, cara y patas delanteras. En el cultivo se aisló *S. schenckii*. Este animal infectó al veterinario de la figura 32.



**Figura 34.** Perfiles moleculares del ADN generados por la digestión con la enzima Hae-III. La columna 1 muestra los marcadores guía producidos por el ADN del fago lambda digerido. Las columnas 2 y 3 muestran los perfiles idénticos de las cepas aisladas del veterinario y del gato enfermo, y la columna 4 corresponde a otra cepa del *S. schenckii* distinta. Cortesía del Laboratorio de Micología Marshfield en Wisconsin.



**Figura 35.** La levadura del *S. schenckii* fijada con glutaraldehído-permanganato. Lleva tres capas externas: Capa vellosa (ZM), lleva el péptido ramnano antigénico del hongo; pared celular (PC) con quitina laminar y membrana plasmática (MP). Esta levadura tiene un brote único. Microscopio eléctrico de transmisión, 14,000X.



**Figura 36.** Ultraestructura de la levadura dentro de la vacuola fagocítica (N = núcleo del hongo). La capa vellosa-granular más externa (punta de flechas-dobles), el antígeno específico se «desgrana» y, de este modo, se induce la síntesis de los anticuerpos y la respuesta inmune celular tardía (asteriscos). La flecha incurvada corresponde a la pared de vesícula fagocítica del macrófago. MET, 14,000X.

Imágenes en color en: [www.medigraphic.com/patologiaclinica](http://www.medigraphic.com/patologiaclinica)

nencial, asociada a la presencia de gatos callejeros atacados violentamente por la misma enfermedad.<sup>95,96</sup> De 1998 a 2004 se contabilizaron 759 casos humanos y 1,503 en gatos domésticos o callejeros convivientes. Este brote representó un incremento alarmante; en un lapso de 12 años previos se habían registrado tan sólo 13 casos felinos, estudiados por los especialistas del Instituto de Investigaciones «Oswaldo Cruz».

De 1985 a 2008 se lograron confirmar 804 casos humanos nuevos con incremento anual neto de 85%. Las personas más atacadas eran amas de casa con edad promedio de 40-49 años, todas ellas en contacto cercano y cotidiano con gatos enfermos (*figura 37*). Las víctimas eran mujeres muy pobres, vivían en condiciones de hacinamiento y mal nutrición crónica; con el interrogatorio cuidadoso se recogió el antecedente de haber sido mordidas o arañadas (68%). En las uñas y también en la cavidad oral de los felinos atacados se pudo recuperar repetidamente al *Sporothrix schenckii*. Con análisis estadístico se estableció la frecuencia de formas clínicas registradas en la esporotricosis epidémica: 66% linfocutánea; 25% fija-localizada y, sorprendentemente, 9% tuvieron formas diseminadas<sup>97</sup> (*figuras 38 y 39*). Debo apuntar que la diseminación sistémica del hongo fue facilitada por la coexistencia comunitaria de personas inmunodeficientes como sigue: afectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) hubo 14; tuberculosis pulmonar avanzada tres; lepra lepromatosa dos y virus humano T-linfotrópico dos. En la subpoblación de los enfermos VIH positivos registrados, 36% tuvieron esporotricosis diseminada y grave.<sup>97</sup> La presencia de grupos humanos pobres, mal nutritos y sujetos inmunodeprimidos fue propicio para el crecimiento de la epidemia gatuna-humana, arrolladora y mortífera.

Las investigaciones moleculares sirvieron para confirmar la identidad de las cepas humanas y felinas; aparentemente, el brote fue causado por una cepa única. Como es sabido, los gatos callejeros tienen la costumbre de afilar las uñas en la

tierra humedecida; suben también a los árboles y breñales, raspando las cortezas de los vegetales; por ello, los gatos enfermos y sanos acarrean en las uñas al *Sporothrix schenckii*. En la época de celo son frecuentes las peleas entre gatos machos; de tal modo, el hongo penetra en la piel de los felinos, infectándolos, puede diseminarse y a veces los mata. Algunos gatos lograron morder y contaminar a los perros callejeros criollos (*figura 40*). Entre 1998-2003 se confirmaron 44 casos de esporotricosis canina en Río de Janeiro;<sup>98</sup> sin embargo, los perros, a diferencia de los gatos, generaron una forma de esporotricosis con granulomas bien organizados y muy escasas levaduras presentes en los tejidos (*figura 41*) y no se demostró que los canes con lesiones limitadas pudieran infectar a las personas.<sup>99</sup>

El medicamento de elección usado para tratar los humanos fue el itraconazol 100 mg/día (n = 514, 64%). La terbinafina a dosis 500 a 1,000 mg/día se usó en 184 (23%). La anfotericina-B, medicamento más toxicó, se aplicó sólo en seis enfermos hospitalizados. ¿Cuál fue la evolución de los enfermos postratamiento seguidos durante tres a seis meses? Al menos 2% tuvieron recaídas y hubo necesidad de un segundo tratamiento. Curiosamente hubo 90 enfermos (11%) que se curaron espontáneamente sin ningún medicamento; 9% se perdieron sin regresar al hospital; sólo seis fueron hospitalizados y hubo dos defunciones. En total, 81% se clasificaron como «curados».<sup>99</sup>

La epizootia feroz no se ha apagado y continúa presente en Río de Janeiro, São Paulo, Río Grande do Sul y otros estados de Brasil; por ello, concurrirá mantenerse alerta y muy atento. El *Sporothrix schenckii* guarda todavía muchas sorpresas; su presencia epidémica debe ser motivo de interés para los investigadores y de preocupación para las autoridades sanitarias de todo el mundo. El científico Japonés Hiroshi Ishizaki perfeccionó un método para analizar el ADN mitocondrial (mtc) y ribosomal (rib) del hongo:<sup>100,101</sup> las levaduras cultivadas se digieren con zimolysasa para romper la pared celular por sonicación y separar el ADN-mtc

por centrifugación a 20 mil y luego se digiere con Hae-III; los fragmentos de la digestión enzimática se depositan sobre gel de agarosa 0.8% y se tiñen con bromuro de etidio, y para visualizarlos se usa la luz ultravioleta (*figura 42*). Se prepara en paralelo el ADN ribosomal: las levaduras se suspenden en



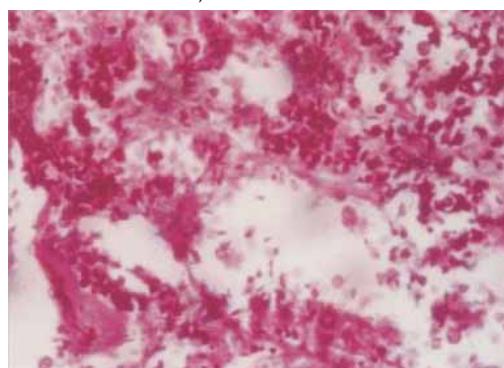
**Figura 37.** Señora (ama de casa) que convivió con un gato blanco de cabeza café, macho, con edad tres años. El *S. schenckii* se recuperó por cultivo en la pata delantera izquierda y ulcerada del animal y del brazo derecho de la mujer con esporotricosis fija ulcerosa. Cortesía del IPEC, Río de Janeiro, Brasil.



**Figura 38.** Esporotricosis diseminada ulcerosa cutánea. Obsérvense las lesiones en la cara anterior y alta del tórax y en las extremidades superiores. Esta forma es más frecuente en personas inmunodeprimidas o infectadas por el VIH.

Imágenes en color en: [www.medigraphic.com/patologiaclinica](http://www.medigraphic.com/patologiaclinica)

Tinción PAS 1,000 X. Fase levaduriforme

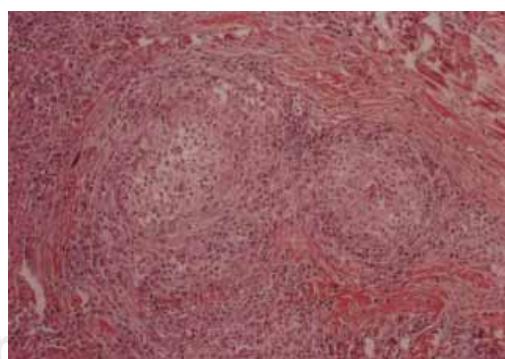


**Figura 39.** Biopsia de piel del caso ilustrado en la figura 38. Se observa la dermis ocupada por levaduras de color rojo abundantes, de forma redondeada, algunas con brotes periféricos. En el cultivo se aisló *S. schenckii*.



165

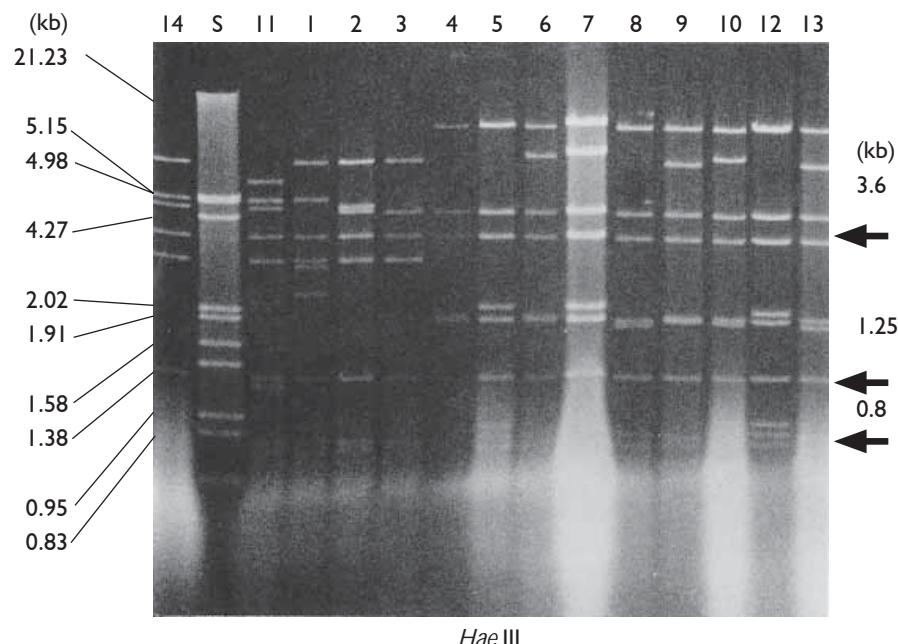
**Figura 40.** Los canes de Río de Janeiro fueron víctimas también del ataque por gatos con esporotricosis. Este perro tuvo una lesión nasal, limitada a la fosa izquierda. Fue curado con itraconazol.



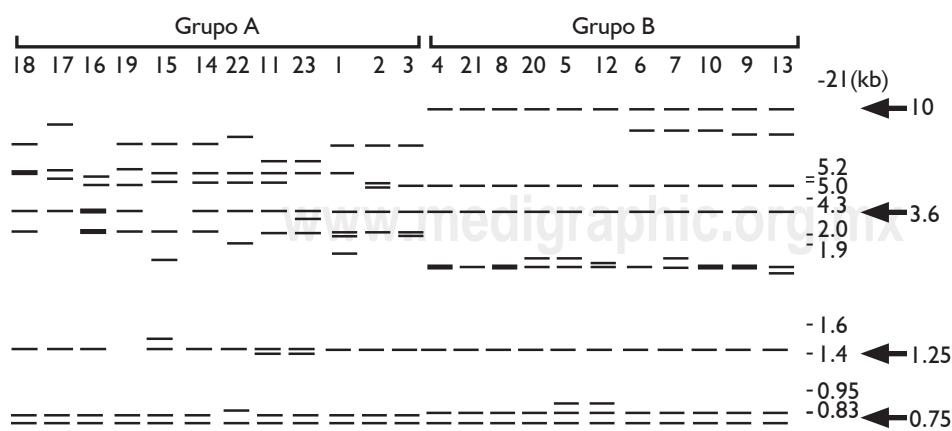
**Figura 41.** Los perros con esporotricosis cutánea desarrollan granulomas de células epiteloides, linfocitos activados y bandas de colágeno en la periferia, pero es raro encontrar las levaduras del hongo en las lesiones. Tinción HE, 240X.

desoxicícolato sódico, se muelen y se calientan, y luego se añade alcohol isopropílico, el sobrenadante se centrifuga a 19 mil. El ADN se lava con etanol y se disuelve en agua destilada. Para digerirlo se han usado tres enzimas de restricción: Hae III, EcoRV y Bgl II. Se procede a contar el número de bandas comunes en cada par y, con ayuda de la computadora, se calcula el porcentaje de divergencia molecular para construir el árbol filogenético. Los investigadores japoneses han reconocido dos categorías grupales principales A y B (*figura 43*), habiéndose

encontrado una correlación estrecha de ciertos genotipos con el origen geográfico de la cepa aislada como sigue: del grupo A tipo 14 en Costa Rica; tipo 2 en los Estados Unidos de Norteamérica; tipo 3 en Venezuela y tipo 17 en Sudáfrica. En lo referente al grupo B, se encontró en Australia el tipo 13; Japón tipos 5 y 4; China tipo 4, los aislamientos procedentes de la India, Corea, Tailandia, España e Italia eran todos del tipo B. Por el contrario, se demostró que 41 de 48 aislamientos en México, tres de cinco en Guatemala, cinco de nueve en Colombia y tres

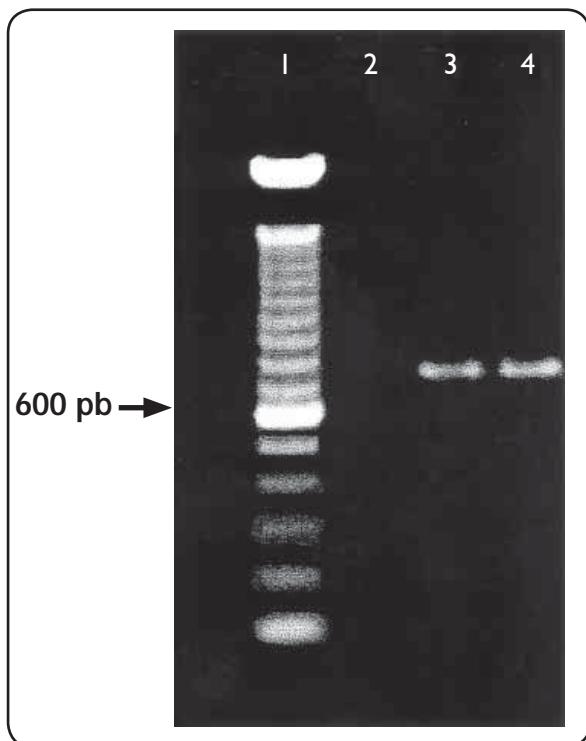


**Figura 42.** Patrones de los genotipos diversos del *S. schenckii* obtenidos por la digestión del ADN mitocondrial con la enzima endonucleasa de restricción Hae III. Los números arriba indican los tipos con bandas diferentes o semejantes; del lado derecho se apunta el tamaño relativo del marcador. Cortesía del profesor, Hiroshi Ishizaki, Universidad de Kanazawa, Japón.



**Figura 43.** Genomapa esquemático del ADN mitocondrial de *S. schenckii*. Hay dos grupos mayores A y B: el primero es predominante en Sudáfrica y las Américas; los tipos B se han encontrado en Australia, Asia y en Europa Mediterránea. Cortesía del profesor Hiroshi Ishizaki, Universidad de Kanazawa, Japón.

de cuatro en Brasil pertenecían todos al grupo A; sin embargo, en la República Mexicana había una enorme genodiversidad con más de la mitad de los genotipos conocidos presentes en su territorio, con



**Figura 44.** Gene calmodulina (CAL), usando dos iniciadores CLI-CL2 A. Columna 1 ADN 100bp; 2 control negativo; 3 *Sporothrix* CBS 39; 4 *Sporothrix* IPEC 35.

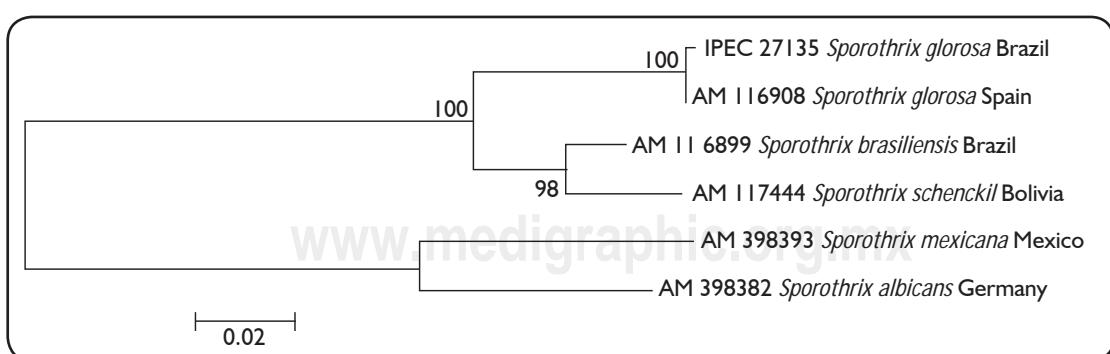
un predominio numérico de A13, A10, A28, B27, A25 y A14, en este orden de frecuencia.<sup>101</sup>

El ADN purificado de la levadura por extracción con fenol/cloroformo/alcohol isoamílico se usa para secuenciar la calmodulina (CAL)<sup>102</sup> nuclear en un medio de MgCl<sub>2</sub>, aplicando la polimerasa del ADN con dos iniciadores: CL1 (5'-GA(GA)T(AT) CAAGGAGGCCTTCTC-3') y CL2 A (5'-TTTTT-GCATCATGAGTTGGAC-3') a la temperatura de 60 °C para obtener las bandas características de la enzima CAL (*figura 44*). El análisis filogenético se facilita con el uso de la computadora y el empleo del método de Tamura y colaboradores (<http://www.megasoftware.net/>) versión MEGA<sup>103</sup> (*figura 45*).

## Discusión

El rendimiento del laboratorio clínico tradicional se media en función de la productividad bruta: el número de cultivos hechos/día, la cantidad de biopsias procesadas con técnica de tinción HE, las pruebas serológicas efectuadas, etcétera. Hoy en día, se hace mayor énfasis en la calidad en términos de rapidez, confiabilidad, coste, sobre todo los beneficios y satisfacción obtenidos por los enfermos y los proveedores de servicios (laboratoristas, médico tratante, técnicos del laboratorio, histopatológicos).<sup>104</sup> Un cierto laboratorio

167



**Figura 45.** Historia filogenética de seis especies *Sporothrix* incluidas en cada una de las ramas. Obsérvese la cercanía entre *S. brasiliensis* y *S. schenckii sensu stricto*. El análisis se realizó con el Software MEGA-4.

de micología médica de México, Distrito Federal, informó: «el examen directo no es muy útil para establecer el diagnóstico porque las levaduras no se ven con las tinciones convencionales Gram, Giemsa, PAS, Grocott, no hacen las estructuras fúngicas más visibles y, en nuestra experiencia, sólo en 1 a 2% de los casos se encontraron las formas «en cigarrillo», halladas casi siempre en la esporotricosis experimental de las ratas y conejos.<sup>10</sup> Por el contrario, en el Departamento de Parasitología y Micología del Instituto de Higiene en Montevideo, Uruguay, en una muestra de 45 enfermos se pudieron observar los «cuerpos asteroides» en 93.75% sin ninguna tinción y, con ese resultado rápido y más eficiente, se inició el tratamiento, sin esperar el resultado del cultivo. La enorme diferencia entre los dos procesos de diagnóstico merece una reflexión profunda: la toma de muestra «tradicional» por compresión digital simple o por hisopado de las lesiones cutáneas dio productividad máxima de 43.7%; pero los expertos del Uruguay cambiaron la metodología: a) se desechó el pus inicial y se obtuvo una muestra más profunda y serosanguinolenta; b) prefijado máximo de cinco portaobjetos (láminas), por cada enfermo estudiado, y c) observación microscópica meticulosa y exhaustiva del campo total en cada lámina, realizado por observadores previamente capacitados. El rendimiento logrado con el método innovador fue de 93.7% (con diferencia + 50%), el proceso mejorado resultó ser práctico, más barato y realizable en cualquier laboratorio de micología. Cuatro factores podrían explicar la ganancia lograda: 1) La sospecha clínica temprana de la esporotricosis. 2) Toma de muestra apropiada. 3) La microscopia en fresco, hecha por personal motivado y capacitado. 4) El ahorro de tiempo y recursos, con alto rendimiento.<sup>105</sup>

El cultivo en Agar de Saboureaud-glucosado con antibióticos es el estándar de oro;<sup>50</sup> sin embargo, en las muestras prefijadas en formaldehído o mal manejadas no es posible realizarlo. La histopatología es otro recurso disponible. En Queensland, Australia,

el doctor P. Bullpitt estudió 29 biopsias y demostró, mediante cortes seriados, la presencia de levaduras y cuerpos asteroides en casi 100% de los casos investigados y teñidos con HE y PAS;<sup>60</sup> mientras que con el método tradicional se le ha encontrado rara vez.<sup>10,19,52</sup> Hoy en día es aconsejable medir la sensibilidad y la especificidad de las pruebas. Los autores japoneses han introducido la «mejora continua» y el perfeccionamiento de los métodos para lograr el rendimiento óptimo, sin olvidar el cálculo del coste-beneficio. Es fundamental también calcular el tamaño de las muestras y reforzar el proceso de capacitación y competitividad en los patólogos clínicos.

Algunos laboratoristas del viejo cuño eran más bien administradores de oficina y rara vez gustaban de sentarse a trabajar en una muestra de laboratorio. He tenido la feliz oportunidad de conocer muy de cerca algunos ejemplos de alta calidad con excelente rendimiento: mi maestro genial, Don Antonio González Ochoa era dermatólogo-tropicalista y clínico astuto, disfrutaba de trabajar en el laboratorio y, para bien de muchos, fue investigador creativo, así como profesor distinguido, formador de alumnos y profesionales destacados, según testimonio escrito del micólogo norteamericano JW Rippon.<sup>65</sup> El segundo caso se dio con el doctor Don Pedro Lavalle, dermatólogo formado en el prestigiado Centro Dermatológico Pascua, abrazó la micología médica y tuvo el gran acierto de asociarse con el profesor F. Mariat, del Instituto Pasteur de París, Francia. La mancuerna fenomenal arrojó resultados magníficos, muchas publicaciones clásicas con gran calidad e innovadoras,<sup>106-112</sup> muestras del talento y del trabajo en equipo y armónico. Sirva este trabajo modesto como un reconocimiento merecido al gran dúo de vuelos altos y tan productivos. Don Pedro fue y es una puerta abierta, amigo generoso y micólogo ejemplar, de vida sobria y fructífera. Las generaciones nuevas ganarán mucho con repasar y leer el legado rico de esos tres grandes constructores.<sup>6,19,22,25,31,32</sup>

## Agradecimientos

Tener amigos honestos, leales y bondadosos ha sido el mejor regalo en mi vida personal. Este trabajo es un reconocimiento merecido a mi gentil amigo y profesor distinguido el doctor Don Enrique Navarrete Cadena, Editor talentoso de la *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*, amigo sincero y hombre de bien. Este trabajo hubiera sido imposible sin el apoyo y la colaboración abierta de algunos colegas ilustres y generosos: Dra. Hester F. Vismer del South African Medical Research Council; los Dres. Pedro Lavalle, Roberto Arenas, Alejandro Bonifaz y J. Mayorga-Rodríguez, micólogos mexicanos brillantes y destacados; el Dr. F. Bruce-Coles epidemiólogo de la División de la *Field Services Epidemiology Office*, CDC en Albany, NY; el Dr. Dennis M. Dixon director del *Laboratory of Mycology National Institute of Health* en Maryland, USA; el Dr. Kurt-Reed de los *Microbiology and Marshfield Laboratories*, Wisconsin; y la Sra. Doña Cidalia Oliveira Carvalho de Mello, directora de la Biblioteca en la *Fundacao Educacional Dom André Arcosverde* del Centro de Ensino Superior de Valencia, Río de Janeiro, Brasil, quien me facilitó el acceso a 62 citas bibliográficas raras, escritas en portugués, que no pude pagar con mi pensión. Sirva este trabajo como un testimonio de mi gratitud perenne al Instituto Mexicano del Seguro Social, que me permitió laborar con mucha felicidad durante más de 30 años.

Mi colaborador, Lic. en Ciencias de la Comunicación, Miguel Iván Olvera Macías, quien participó en el diseño del texto, gráficas, imágenes y tablas con mucho entusiasmo, dedicación y sobre todo calidad. Por ello, dejo testimonio de mi agradecimiento.

## Referencias

1. Bonifaz A. Esporotricosis. En: Micología médica básica. 3a ed. México, DF: Mc Graw-Hill; 2010. p. 179-196.
2. Arenas R. Sporotrichosis. In: Topley & Wilsons, Microbiology and Microbial Infections. Merz WG, Hay R (eds). 10th ed. London: Hodder-Arnold; 2005. p. 367-384.
3. Marimon R, Cano J, Gené J, Sutton DA. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa* and *S. mexicana* three new *Sporothrix* species of clinical interest. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 3198-3206.
4. Marimon R, Cano J, Gené J, Guarro J. *Sporothrix lutei*: A rare fungus from clinical origin. *Med Mycol* 2008; 46: 621-625.
5. Marimon R, Serena C, Gené J, Cano J, Guarro J. *In vitro* antifungal susceptibilities of five species of *Sporothrix*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 732-734.
6. Lavalle P, Mariat F. Sporotrichosis. *Bull Inst Pasteur* 1983; 81: 295-322.
7. Kauffman CA. Sporotrichosis. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 231-237.
8. Amado S. Lecciones de Dermatología. 14a ed. México, D.F. Méndez Editores; 2001. p. 303-310.
9. Carrada-Bravo T. Esporotricosis infantil. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1988; 45: 124-131.
10. Bonifaz A, Vázquez-González D. Sporotrichosis: Un update. *G Ital Dermatol Venerol* 2010; 145: 659-673.
11. Villaca-Neto CM. Localized cutaneous verrucous sporotrichosis of 26 years duration. *Mycoses* 1988; 31: 253-355.
12. Shaw JC, Levinson W, Montanaro A. Sporotrichosis in the acquired immune deficiency syndrome. *J Am Acad Dermatol* 1989; 21: 1145-1147.
13. Crout JE, Brewer NS, Tompkins RB. Sporotrichosis arthritis. *Ann Med* 1977; 86: 294-297.
14. Pluss JL, Opal SM. Pulmonary sporotrichosis: Review of treatment and outcome. *Medicine* 1986; 65: 143-153.
15. Carrada-Bravo T. Cavitary pulmonary sporotrichosis. *Med Int Mex* 2006; 22: 457-461.
16. Miranda H. Clinical characteristic and incidence of palpebral sporotrichosis, 16 new cases. *Folia Dermatol (Peru)* 2006; 17: 9-15.
17. Bustamante B, Campos PE. Endemic sporotrichosis. *Curr Opin Infect Dis* 2001; 14: 145-149.
18. Latapi F. La Sporotrichose au Mexique. *Laval Med* 1963; 34: 732-738.
19. Lavalle P, Padilla-Desgarennes CP. Sporotrichosis. Sociedad Mexicana de Dermatología. Programa de Actualización Continua para Dermatología. PAC Dermatología-I Libro 2. [www.galderma.com.mx/pac/pac2/creditos.htm](http://www.galderma.com.mx/pac/pac2/creditos.htm)
20. Mayorga-Rodríguez J, Barba-Rubio J, Muñoz-Estrada VF. Esporotricosis en el Estado de Jalisco, estudio clínico-epidemiológico (1960-1996). *Dermatología Rev Mex* 1997; 41: 105-108.
21. Mayorga J, Martínez D, Méndez P. Aislamiento de *Sporothrix schenckii* en la naturaleza (suelos y plantas). *Med Cutan Iber Lat Am* 1999; 27: 25-28.
22. Lavalle P. Epidemiología del micetoma la esporotricosis con especial referencia al Estado de Puebla. Puebla, Pue: Mem VI Cong Mex Dermatol, 1975; pp 50-56.
23. Munguía-Pérez R, Romo-Lozano Y, Castañeda-Roldán E, Velázquez-Escobar MC, Espinoza-Texis A. Epidemiología de la esporotricosis en el municipio de Huachinango, Puebla. *Enf Inf Microbiol (Mex)* 2007; 27: 38-43.
24. Macotela-Ruiz E, Nochebuena-Ramos E. Esporotricosis en algunas comunidades rurales de la Sierra Norte de Puebla. Informe de 55 casos. (septiembre 1995-diciembre 2005). *Gac Med Mex* 2006; 142: 377-380.
25. Lavalle P, Padilla M, Mora S, Reynoso S, Rodríguez J. Micetomas, cromomicosis y esporotricosis en el Estado de Veracruz. Datos del Servicio de Micología del Centro Dermatológico Pascua (1956-2001). *Dermatología Rev Mex* 2004; 48: 13-27.
26. Bada del Moral M, Arenas R, Ruiz-Esmenjaud J. Esporotricosis en Veracruz. Estudio de cinco casos. *Dermatología Rev Mex* 2007; 51: 9-13.

27. Muñoz-Estrada VF, Lizarraga-Gutierrez CL, Gómez-Llanos-Navidad M, Domínguez-Cota G. Esporotricosis linfagítica. Reporte de un caso. Bol Med Fac Med UAS 2006; 2: 52-55.
28. Rodríguez-Félix ME, Memeri-Cabrera SA, Barrera-Pérez MA. Esporotricosis linfagítica en Yucatán. Primer caso. Dermatol Rev Mex 1981; 25: 12-16.
29. González JB. La esporotricosis como enfermedad ocupacional de los alfareros. Rev Hosp Univ de Monterrey (Mex) 1957; 2: 143-144.
30. Garrett MD, Robbins JB. An Unusual Occurrence of sporotrichosis. Arch Dermatol 1960; 82: 570-571.
31. Lavalle P. Aspectos clínicos, inmunológicos y epidemiológicos de la esporotricosis. Tampico, Tam. México: Mem IV Congr Mexicano Dermatología, 1962. p. 5-18.
32. González-Ochoa A. Contribuciones recientes al conocimiento de la esporotricosis. Gac Med Mex 1965; 95: 463-474.
33. Mayorga-Rodríguez J, Trango-Martínez V, Barba-Rubio J. Esporotricosis 100 años después (1898-1998). Dermatol Rev Mex 1999; 43: S 22-29.
34. Bonifaz A, Saul A, Paredes-Solis V, Fierro L, Rosales A, Palacios C et al. Sporotrichosis in childhood: Clinical and therapeutic Experience in 25 patients. Pediatric Dermatology 2007; 24: 369-372.
35. Arvizu-Ramirez F, Valencia Herrera A, Toledo-Bahena M, Altamirano-Barrera A, Mena-Cedillos C, Bonifaz A. Esporotricosis cutánea fija en un adolescente causada por *Sporothrix schenckii* (sensu stricto) y revisión comparativa de la bibliografía. Dermatología Rev Mex 2010; 54: 295-299.
36. Pappas PG, Tellez I, Deep AE. Sporotrichosis in Peru: description of an area of hyperendemicity Clin Infect Dis. 2000; 30: 65-70.
37. Brown R. Timber as a source of sporotrichosis infection. In: Proceedings of the Transvaal Mine. Johannesburg: Medical Officers Association; 1947. p. 5-28.
38. Ahears DG, Kaplan W. Occurrence of *Sporothrix schenckii* on cold stored meat products. Am J Epidemiol 1969; 89: 116-124.
39. Kwong-Chung KJ. Comparison of isolates of *Sporothrix schenckii* obtained from fixed cutaneous lesions with isolates from other types of lesions. J Infect Dis 1979; 139: 424-431.
40. Mackinnon JE, Conti-Diaz IA. The effect of temperature on sporotrichosis. Sabouraudia 1962; 7: 38-45.
41. Mesa-Arango AC, Reyes-Montes R, Pérez-Mojica A, Navarro-Barranco H, Souza V, Zuñiga G y cols. Phenotyping and genotyping of *Sporothrix schenckii* isolates according to geographic origin and clinical form of sporotrichosis. J Clin Microbiol 2002; 40: 3004-3011.
42. Munguía-Pérez R, Velázquez-Escobar MC, Rosas-Quijano R, Guerrero-Ontiveros L, Espinosa-Texis P. Factores ambientales que influyen en el desarrollo de *Sporothrix schenckii* en Huachinango, Puebla, México. Puebla, Pue: Doc Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Inst de Ciencias y Posgrado en Ciencias Ambientales. www.uaemex.mx/Red\_Ambientales/docs/memorias/Extenso/TA/EC/TAC-34.pdf
43. Lyon GM, Zurita S, Casquero J, Holgado W, Guevara J, Brandt M et al. Population-based surveillance and case-control study of risk factors for endemic lymphocutaneous sporotrichosis in Peru. Clin Infect Dis 2003; 36: 34-39.
44. Ghosh A, Chakbaraty A, Sharma VK, Sing A. Sporotrichosis in Himachal Pradesh (North India). Trans Royal Soc Trop Med Hyg 1999; 93: 41-45.
45. Mehta KIS, Sharma NL, Kanga AK, Mahajan VK, Ranjan N. Isolation of *Sporothrix schenckii* from environmental sources of cutaneous sporotrichosis in Himachal Pradesh India: Result of a pilot study. Mycoses 2007; 50: 496-501.
46. Aceves-Ortega R. Deep mycosis in children. Pediatric Dermatol 1975; 17: 228-241.
47. Madrid H, Cano J, Gene J, Bonifaz A, Toriello C, Guarro J. *Sporothrix globosa*, a pathogenic fungus with widespread geographical distribution. Rev Iberoam Microl 2009; 26: 218-222.
48. Mariat F, Lavalle P, Destombes P. Recherches sur la sporotrichose. Etude mycologique et pouvoir pathogène de souches mexicaines de *Sporothrix schenckii*. Sabouraudia 1962; 2: 60-79.
49. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. Philadelphia: Lea & Febiger; 1992. p. 3-729.
50. Conti Díaz IA. Micología Médica. Montevideo: Oficina del Libro, Fefmuri, 2009.
51. López-Martínez R, Médez-Tovar LJ, Hernández-Hernández F, Castañón-Olivares R. Esporotricosis. En: Micología Médica. Procedimientos para el diagnóstico de laboratorio. México: Trillas; 1995. p. 67-70.
52. Ajello L, Kaplan W. A new variant of *Sporothrix schenckii* Mykosen 1969; 12: 633-644.
53. Alberici F. *Sporothrix schenckii* var *lurei* as the cause of sporotrichosis in Italy. Eur J Epidemiol 1989; 5: 173-177.
54. Padhye AA, Kaufman L, Durry E, Banerjee CK, Jindal SK, Talwar P et al. Fatal Pulmonary Sporotrichosis Caused by *Sporothrix schenckii* var *lurei* in India. J Clin Microbiol 1992; 30: 2492-2494.
55. Cazuele E, Da Rosa D. Relevancia del cuerpo asteroide esporotrócico en el diagnóstico rápido de la esporotricosis. Rev Iberoam Microl 2005; 22: 147-150.
56. Morales MA, Miranda E. Sobre la presencia de formaciones radiales (asteroides) na esporotricosis. Rev Inst Med Trop São Paulo 1964; 6: 5-8.
57. Hiruma M, Kawada A, Ishibashi A. Ultrastructure of asteroid bodies in sporotrichosis. Mycoses 1991; 34: 103-107.
58. Arenas R. Micología Médica Ilustrada. México: Interamericana-Mc Graw-Hill; 1993.
59. Bullpitt P, Weedon D. Sporotrichosis: A review of 39 cases. Pathology 1978; 10: 249-256.
60. Lurie HI. Histopathology of sporotrichosis. Notes on the nature of the asteroid body. Arch Pathol Lab Med 1963; 75: 421-437.
61. Kinbara T, Fukushima R. Fungal elements in tissues of sporotrichosis. Mykosen 1982; 26: 35-40.
62. Lurie HI, Still WJS. The «capsule» of *Sporothricum schenckii* and the evolution of the asteroid body. Sabouraudia 1969; 7: 64-70.
63. Rodríguez-Toro G. El cuerpo asteroide de la esporotricosis: Especificidad y diferenciación de otras formas asteroides. Biomédica 1985; 5: 11-22.
64. Rippon JW. Sporotrichosis. In: Rippon JW. Medical Mycology the Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes. Philadelphia: WB Saunders; 1974. p. 248-267.
65. Chandler FW, Kaplan W, Ajello L. Color Atlas and Text of the Histopathology of Mycotic Diseases. Chicago: Year Book Med Publishers; 1980.
66. Novales SJ, Navarrete FG, Ramos GA. Esporotricosis. Aspectos histológicos en 50 casos. Rev Centro Dermatol Pascua 1995; 4: 149-152.
67. Mohri S, Nakajima H, Kurosawa T, Yuzo T, Takahashi Y, Nagai R. Three cases of sporotrichosis with numerous fungal elements. J Dermatol 1987; 14: 382-387.
68. Kaplan W, Kraft DE. Demonstration of pathogenic fungi in formalin-fixed tissues by immune fluorescence. Am J Clin Pathol 1969; 52: 420-437.
69. Russell B, Beckett JH, Jacobs PG. Immune peroxidase localization of *Sporothrix schenckii* and *Cryptococcus neoformans*. Staining of tissue sections fixed in 4% formaldehyde solution and embedding in paraffin. Arch Dermatol 1979; 115: 433-435.

70. Schubach A, Schubach TM, Barros MB, Wanke B. Cat transmitted sporotrichosis. Rio de Janeiro Brazil. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1952-1954.
71. Alencar-Marques S, Pires de Camargo RM, Haddad-Junior V. Human Sporotrichosis transmitted by feline. *Ann Bras Dermatol* 1998; 73: 559-562.
72. Freitas DF, do Valle AC, de Almeida Paes R, Bastos FI, Galhardo MC. Zoonotic Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: A protracted epidemic yet to be curbed. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 453-454.
73. Carrada-Bravo T. New observations on the epidemiology and pathogenesis of sporotrichosis. *Ann Trop Med Parasitol* 1975; 69: 267-273.
74. Rotberg A, Abramczyk J. Estudo sobre alergia nas micoses i. Pesquisa Epidemiológica com Esporotriquinas, favorável a hipótese da Esporotricose infecção. *Rev Fac Med Univ Ceará* 1963; 3: 95-100.
75. Kaufman L, Reiss E. Serodiagnosis of fungal diseases. In: Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington DC: Amer Society for Microbiology; 1985. p. 924.
76. Orofino-Costa R, Boia NM, Magalhaes GA, Damasco PS, Bernardes Engemann AR, Benvenuto F ET al. Arthritis as a hypersensitivity reaction in a sick cat: Clinical and serological follow-up of 13 months. *Mycoses* 2010; 53: 81-83.
77. González-Ochoa A, Soto-Figueroa F. Polisacáridos del *Sporothrix schenckii*. *Rev Inst Salub Enfs Trop* 1947; 8: 143-146.
78. González-Ochoa A, Rico E. Valoración comparativa de los antígenos polisacáridos y celulares de *Sporothrix schenckii*. *Rev Invest Salud Publ* 1970; 30: 303-309.
79. Roberts GD. The Epidemiology of Sporotrichosis. In: Al-Doory Y. The Epidemiology of Human Mycotic Diseases. Springfield: Charles C Thomas; 1975. p. 227-236.
80. Mackinnon JE, Conti-Díaz IA, Gezuele E, Civila E, da Luz S. Isolation of *Sporothrix schenckii* from nature and consideration on its pathogenicity and ecology. *Sabouraudia* 1969; 7: 38-45.
81. Conti-Díaz IA. Sporotrichosis. *Rev Med Uruguay* 1987; 3: 135-147.
82. Bonifaz A, Saul A, Pérez-Solis V, Fierro L, Rosales A, Palacios C et al. Sporotrichosis in childhood: Clinical and therapeutic experience in 25 patients. pediatric. *Dermatology* 2007; 24: 369-372.
83. Valle Meza JA, Barba-Rubio M. Esporotricosis facial en un lactante. México: Mem I Congreso Mex Dermatología; 1963. p. 273-275.
84. Read SI, Sperling LC. Feline sporotrichosis transmitted to man. *Arch Dermatol* 1982; 118: 429-431.
85. Nusbaum BP, Gulbas N, Horwitz SN. Sporotrichosis adquired from a cat. *J Amer Acad Dermatol* 1983; 8: 386-391.
86. Samorodin CS, Sina B. Ketoconazole treated sporotrichosis in a veterinarian. *Cutis* 1984; 33: 487-488.
87. Shiappacase RH, Colville JM, Wong PK, Markowitz A. Sporotrichosis associated with an infected cat. *Cutis* 1985; 35: 268-270.
88. Dustan RW, Langham RF, Reimann KA, Wakeman PS. Feline sporotrichosis: A report of five cases with transmission to human. *J Am Acad Dermatol* 1986; 115: 37-45.
89. Larsson CE, Goncalves M de A, Araujo VC, Dagli M&Z, Correa B, Fava-Neto C. Feline sporotrichosis: Clinical and zoonotic aspects (En Portugues). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1989; 31: 351-358.
90. Caravalho J Jr, Caldwell JB, Redford BL, Feldman AR. Feline-transmitted sporotrichosis in the southwestern United States. *West J Med* 1991; 154: 462-465.
91. Dunstan RW, Reimann KA, Langham RF. Feline sporotrichosis. *J Am Vet Med Assoc* 1986; 189: 880-883.
92. Reed KD, Moore FM, Geiger GE, Stemper ME. Zoonotic Transmission of Sporotrichosis: Case Report and Review. *Clin Infect Dis* 1993; 16: 384-387.
93. Cooper CR Jr, Breslin BJ, Dixon DM, Salkin IF. DNA-typing of isolates associated with the 1988 sporotrichosis epidemic. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1631-1635.
94. Garrison RG, Mendoza AG, Mirikitani FF. An extracellular substance of *Sporothrix schenckii* in human infection. *Mykosen* 1983; 26: 462-468.
95. Schubach A, Barros MB, Wanke B. Epidemic sporotrichosis. *Curr Opin Infect Dis* 2008; 21: 129-133.
96. Schubach TM, Schubach A, Okamoto T, Barros MBL, Borges-Figueiredo F, Cozzzi T et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998-2001). *JAMA* 2004; 224: 1623-1629.
97. Barros MBL, de Oliveira-Schubach A, Galhardo GCM, Pacheco-Schubach TM, dos Reis-Santos R, Francesconi-do Valle A. Sporotrichosis with widespread cutaneous lesions: report of 24 cases related to transmission by domestic cats in Rio de Janeiro. *Int J Dermatol* 2003; 42: 677-681.
98. Schubach TMP, Schubach A, Okamoto T, Barros MBL, Borges-Figueiredo F, Cozzzi T et al. Canine sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: clinical presentation, laboratory diagnosis and therapeutic response in 44 cases (1998-2003). *Med Mycol* 2006; 44: 87-92.
99. Saraiva-Freitas DF, do Valle AC, Almeida-Paes de R, Bastos FI, Galhardo MCG. Zoonotic Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: A Protracted Epidemic yet to Be Curbed. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 453.
100. Suzuki K, Kawasaki M, Ishizaki H. Analysis of restriction profiles of mitochondrial DNA from *Sporothrix schenckii* and related fungi. *Mycopathologia* 1988; 103: 147-151.
101. Ishizaki H, Kawasaki M, Anzawa K, Mochizuki T, Chakrabarti A, Ungpakorn R et al. Mitocondrial DNA Analysis of *Sporothrix schenckii* in India, Thailand, Brazil, Colombia, Guatemala and Mexico. *Int J Med Mycol* 2009; 50: 19-26.
102. Susca A, Stea G, Mulé G, Perrone G. Polymerase chain reaction (PCR) identification of *Aspergillus niger* and *Aspergillus tubingensis* based on the calmodulin gene. *Food Addit Contam*. 2007; 24: 1154-1160.
103. Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: Molecular evolutionary genetic analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* 2007; 24: 1596-1599.
104. Udaondo Durán M. Gestión de calidad. Madrid, España. Díaz de Santos; 1992.
105. Rodríguez G, Sarmiento L. The Asteroid Bodies of Sporotrichosis. *Amer J Dermatopathol* 1998; 20: 246-249.
106. Coles FB, Schuchal A, Hibbs JR, Kondracki SF, Salkin IF, Dixon DM et al. A multistate outbreak of Sporotrichosis Amer J Epidemiol 1992; 136: 475-487.
107. Dixon DM, Salkin IF, Duncan RA, Hurd NJ, Haines JH, Kemna ME et al. Isolation and Characterization of *Sporothrix schenckii* from clinical and Environmental Sources Associated with the Largest, US Epidemic of Sporotrichosis. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 1106-1113.
108. Dixon WJ, Brown MB, Engelmann L et al. BMDP statistical software manual. Berkeley, CA: University of California Press; 1988.
109. Cooper CR, Dixon DM, Salkin IF. Laboratory-acquired sporotrichosis. *J Med Vet Mycol* 1992; 30: 169-171.
110. Powell KE, Taylor A, Phillips BJ, Blakey DL, Campbell GD, Kaufman L et al. Cutaneous Sporotrichosis in Forestry Workers. *JAMA* 1978; 240: 232-235.
111. McDonough ES, Lewis AJ, Meister M. Sporothrix (*Sporothrix*) *schenckii* in a nursery barn containing sphagnum. *Public Health Report* 1970; 85: 579-586.
112. Da Silva-Lacaz C, Porto E, Costa Martins J. Micología Médica. Fungos Actinomicetos e Algas de Interesse Médico. São Paulo, Brasil: Sarvier; 1984.