

71
Lej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMEN PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

"INVESTIGACION DE ESPOROTRICOSIS EN UNA
COMUNIDAD DE LA SIERRA SUR DE OAXACA"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

MIGUEL ANGEL SANCHEZ ALEMAN



MEXICO, D. F.

1999

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2805 77



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

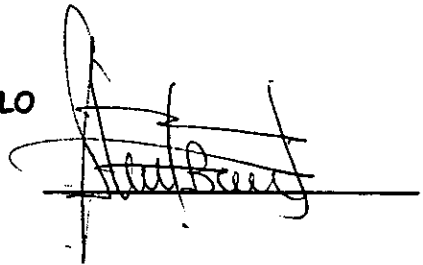
Jurado asignado:

Presidente Prof. ABEL GUTIERREZ RAMOS
Vocal Prof. JOSE ALEXANDRO BONIFAZ TRUJILLO
Secretario Prof. MISAEEL GONZALEZ IBARRA
1er Suplente Prof. LUCIANO HERNANDEZ GOMEZ
2do Suplente Prof. BEATRIZ LUNA MILLAN

Sitio donde se desarrolló el tema:

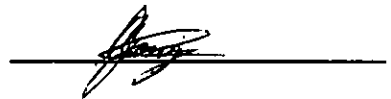
Santa María Quiegolani, Oaxaca.
Laboratorio de Micología, Servicio de Dermatología,
Hospital General de México.
Facultad de Química, U.N.A.M

Asesor del tema
JOSE ALEXANDRO BONIFAZ TRUJILLO



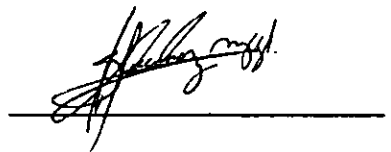
A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jose Bonifaz', written over a horizontal line.

Supervisor técnico
JAVIER ARAIZA SANTIBAÑEZ



A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Javier Araiza', written over a horizontal line.

Sustentante
MIGUEL ANGEL SANCHEZ ALEMAN



A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Miguel Sanchez Aleman', written over a horizontal line.

A ustedes dedico mis ideales, sueños, esperanzas y trabajo, esto sólo es una pequeña muestra de toda mi admiración, respeto y cariño.

Virginia, Jesús, gracias por permitirme ser parte de su familia, crecer bajo su ejemplo, protección y cuidados, gracias por ayudarme a ser todo lo que fui, soy y seré. Gracias por mostrarme el camino y enseñarme que el paraíso está en la familia.

Itza, gracias por ser mi hermana, soportarme, escucharme ayudarme, consolarme y quererme, gracias por crecer a mi lado.

Moravia gracias por formar parte de mi familia y hacer feliz a una de las personas que más admiro, aprecio, y en ocasiones envidio, gracias por recorrer el camino de la vida al lado de Ray.

A ti, que he creído encontrarte, pero huyes
a ti, que me has buscado, y me escondo
a ti, que más temprano que tarde, nos reuniremos.

Amores que no mueren, matan; amores que matan, nunca mueren

Cada átomo que me pertenece, te pertenece; cada átomo que te pertenece, me pertenece, por que tu y yo somos la misma cosa. Gracias Jesús, el hombre, aquel que da sentido y valor a mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mi *alma mater*, la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al M. en C. Alejandro Bonifaz, por apoyarme y confiar en mí para la elaboración de la tesis, así como por demostrarme con su ejemplo, que aún existen maestros y formadores.

A mis compañeros del laboratorio de Micología Médica del Hospital General, por apoyarme en la realización del proyecto.

A mis amigos de la Facultad, con quienes conviví y trabajé durante mi estancia en la Universidad.

A mis abuelos, tíos y primos por aceptarme y juntos, formar una gran familia.

A la comunidad de Santa María Quiegolani, al equipo de maestros, a los alumnos del BAIEQ, por dejarme entrar en su vida y ser parte de mi corazón.

A los miembros del GAS, de la FIFA, del Maracana, del Vips Tlalpan, del Maguey, del Hijo del cuervo, de los brindis, del Rincón de Miramontes, a los exiliados y a todos aquellos que forman una especie de logía secreta, fortalecida por un elemento unificador casi indestructible que son las nostalgias comunes, las cuales seguimos renovando día con día.

Investigación de esporotricosis
en una comunidad de la sierra sur de Oaxaca

Índice

Capítulo I INTRODUCCIÓN

1 Introducción	1
2 Objetivos	3

Capítulo II MARCO TEÓRICO

I Esporotricosis

1 Definición	4
2 Antecedentes históricos	4
3 Aspectos clínicos	5
4 Diagnóstico	9
5 Epidemiología	13
6 Tratamiento	17

II *Sporothrix schenckii*

1 Estado natural	20
2 Micología	20
3 Factores de virulencia	23
4 Inmunología	24

Capítulo III METODOLOGÍA

1 Investigación epidemiológica. Intradermoreacción	27
2 Aislamiento de <i>S. Schenckii</i> de la naturaleza	28
3 Dimorfismo de <i>Sporothrix schenckii</i>	30
4 Modelos animales. Parasitación <i>in vivo</i>	33

Capítulo IV RESULTADOS

1 Investigación epidemiológica. Intradermoreacción	36
2 Aislamiento de <i>S. schenckii</i> de la naturaleza	44
3 Dimorfismo de <i>Sporothrix schenckii</i>	48
4 Modelos animales. Parasitación <i>in vivo</i>	51

Capítulo V DISCUSIÓN

Discusión	54
-----------------	----

Capítulo VI CONCLUSIONES

Conclusiones	66
--------------------	----

APÉNDICE

1 Material	68
2 Reactivos	68
3 Equipo	69
4 Medios de cultivo	69
5 Biológicos	69

BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía	70
--------------------	----

Investigación de esporotricosis
en una comunidad de la sierra sur de Oaxaca

Capítulo I

Introducción

1. INTRODUCCIÓN

La diversidad de condiciones ecológicas, sociales y culturales en nuestro país, hacen de México un medio óptimo para los diferentes tipos de micosis: superficiales, subcutáneas, profundas y oportunistas, encontrando reportes en la mayor parte de los estados, sin embargo, es posible que debido a la falta de difusión y conocimientos sobre las micosis, éstas aún se encuentran mal diagnosticadas, pasando desapercibidas en ciudades del interior de la república y más aun en las comunidades rurales, estas últimas representando casi al 30% de la población mexicana.¹⁻⁵

Una de estas micosis, la esporotricosis, enfermedad crónica con nódulos que origina lesiones verrugosas o linfagíticas, cuyo agente etiológico es el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii*, ha sido ampliamente estudiada dentro y fuera del país, reconociendo tres grupos de causas que hacen posible la aparición de este padecimiento:

a) Condiciones ecológicas.

En climas templados, con una temperatura que fluctúe entre los 15°C y 30°C y humedad relativa del 90%, *S. schenckii* ha sido encontrado como saprófito micelial en suelo, hojas y ramas, asociándolo a lugares donde hay pinos y eucaliptos, además de aislarse en insectos, roedores, gatos, perros y algunas otras especies.

b) Condiciones del hospedero.

El padecimiento predomina en niveles socioeconómicos bajos, campesinos, jardineros, empacadores que utilizan pastos, artesanos y cualquier actividad que signifique contacto con la naturaleza, viéndose favorecida en estados inmunocomprometidos, como la desnutrición y alcoholismo crónico.

c) Condiciones del huésped, *Sporothrix schenckii*.

No sólo es importante la presencia del agente etiológico en la zona, además debe presentar algunos factores de virulencia propios de los hongos como transición dimórfica, enzimas, componentes bioquímicos y toxinas.

Existen regiones que presentan los dos primeros grupos de características, condiciones del hospedero y ecológicas, siendo esta última un factor que influye en la presencia *S. schenckii*, en dichas zonas no se han mencionado reportes del padecimiento, lo cual nos hace pensar que esta micosis debería presentarse en una mayor proporción, según los estudios actuales y las características de nuestro país, sin embargo no se encuentra, debido posiblemente a la falta de personal de salud, a un deficiente diagnóstico o a la existencia de alguna causa que aún no ha sido descrita, la cual predispone y determina la infección.⁶⁻¹⁰

El presente trabajo pretende dar luces sobre la situación de la esporotricosis en nuestro país, al estudiar la comunidad zapoteca de Santa María Quiegolani en la sierra sur de Oaxaca, se pretende investigar las condiciones ecológicas, humanas y de manera especial al agente etiológico, *S. schenckii*, buscando parámetros determinantes que condicionen la presencia de la enfermedad en una región, dándole la importancia necesaria a las infecciones originadas por hongos como un problema de salud en México, además de fincar las bases para posteriores estudios, al relacionar el trabajo de investigación en salud con las comunidades rurales.¹⁻⁵

2. OBJETIVOS

- Describir las características ecológicas, socioeconómicas y culturales de la comunidad de Santa María Quiérolani, relacionándolas con las causas de esporotricosis.
- Detectar, aislar y caracterizar a *S. schenckii* de la naturaleza.
- Evidenciar la presencia de esporotricosis en la región, al conjuntar las causas de su origen.
- Buscar parámetros que condicionen la presencia de esporotricosis en una región.

Investigación de esporotricosis
en una comunidad de la sierra sur de Oaxaca

Capítulo II

Marco teórico

1. ESPOROTRICOSIS

1. DEFINICIÓN

Hace 100 años, Shenck¹ describió un padecimiento como nódulos que originaban lesiones verrugosas o linfagíticas, del tejido cutáneo o subcutáneo, presentaban un curso crónico o subagudo; estas fueron algunas características que aún hoy en día nos sirven para definir la enfermedad ocasionada por el hongo dimórfico *Sporothrix schenckii*, llamado así en honor del mismo. Actualmente se sabe también que en muy raras ocasiones la esporotricosis es sistémica o diseminada, afectando en estos casos a pulmones, articulaciones, huesos, vías urogenitales, ojos e inclusive sistema nervioso central.^{2,3,4,5}

2. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

El primer caso de esporotricosis fue descrito en 1898 por Shenck¹, dos años más tarde se informó de un segundo caso por Hektoen y Perkins,⁶ quienes llamaron al agente causal *Sporotrichum schenckii*, no fue sino hasta 1907 donde se informó del primer caso de esporotricosis en animales, ratas y caballos, descrito por Lutz y Splendore en el Brasil.⁷

En México el primer reporte del padecimiento lo describió Gayón en 1913,⁸ años después se tuvo conocimiento de la primer epidemia registrada en 1947 en las minas de oro de Sudáfrica⁹ con cerca de 3000 casos; en ese mismo año, en México, González Ochoa y Soto Figueroa¹⁰ dieron a conocer un método de obtención de los polisacáridos de *Sporothrix* de fase micelial, usándolo como antígeno para la intradermoreacción (IDR), con un fin diagnóstico y de estudios epidemiológicos. En México, una de las investigaciones más completas la desarrollaron Lavalle y Mariat¹¹ a lo largo de 22 años en el Centro Dermatológico Pascua y más recientemente, Mayorga en Jalisco presentó un gran estudio multicéntrico¹².

3. ASPECTOS CLÍNICOS

a) Infección

La principal vía de entrada del microorganismo es por inoculación traumática cutánea, la cual puede ser ocasionada por plantas verdes o secas, picaduras de insectos, mordeduras de roedores o iguanas, caza de armadillos, lesiones con instrumentos de labranza o accidentalmente en el laboratorio, puede llegar a penetrar por inhalación dejando inmunidad a la infección u originando esporotricosis pulmonar^{13,14} y en muy raras ocasiones, la ingestión de esporas puede producir enfermedad digestiva;^{13,15,16,17,18} posteriormente a la inoculación viene el periodo de incubación de la enfermedad que varía de algunos días hasta 3 meses.

La exposición a grandes números de esporas favorece la infección y la exposición a pequeños números de esporas en áreas endémicas confiere inmunidad, González Ochoa mencionó que manipuladores de pastos no presentaban la enfermedad, pero el 100% daba positiva la prueba a la esporotricina, y en aquellos casos en los que se llegó a presentar el padecimiento, este fue del tipo cutáneo fijo, curándose de forma espontánea.

b) Formas clínicas de la esporotricosis

Las defensas inmunológicas del huésped son un factor determinante para la forma en como se presenta la enfermedad, al estar *S. schenckii* en el medio ambiente la resistencia natural a la infección es alta, en las áreas endémicas se encuentra una hipersensibilidad en individuos clínicamente sanos.

Cuando un organismo presenta una resistencia alta a la infección, se encuentra la forma cutánea localizada o linfagítica, teniendo la enfermedad un curso agudo, benigno y de buen pronóstico; al contrario, al estar deprimido el sistema inmunológico del organismo, se presentan las formas diseminadas y pulmonares, teniendo un mal pronóstico la enfermedad, siendo de curso crónico y obteniéndose una respuesta desfavorable al tratamiento.¹⁹

➤ Esporotricosis linfagítica

Representa la forma típica de la enfermedad, el hongo penetra a través de soluciones de continuidad por medio de pequeñas heridas en pacientes con inmunidad celular normal, localizándose frecuentemente en miembros superiores, inferiores y cara, esta última más frecuente en infantes.

La primera lesión se desarrolla en el sitio de inoculación, generalmente durante la primer semana posterior al traumatismo, es un chancro esporotricósico, originando nódulos indolores con ligero aumento de volumen, duros, eritematosos, con necrosis central y rara vez ocasionan prurito; pueden encontrarse dispersos o en el mismo sitio. Una o dos semanas después, la lesión inicial tiende a sanar formando una cicatriz, mientras aparecen lesiones que siguen el trayecto de los vasos linfáticos dirigiéndose al ganglio de mayor importancia, dichas lesiones persisten, cicatrizan o pueden llegar a ulcerarse por traumatismos o infecciones bacterianas.

➤ Esporotricosis fija

Las lesiones se restringen al sitio de inoculación, es una forma crónica que no involucra a los vasos linfáticos, se desarrolla a partir del chancro esporotricósico originando una lesión eritematosa, verrugosa, con escamas y ulcerada, dicha lesión es única y con bordes bien delimitados.

Los pacientes presentan una respuesta inmune adecuada, razón por la cual esta forma de esporotricosis es muy limitada y cura espontáneamente con mucha frecuencia, aunque en otras ocasiones puede mantenerse activa durante años, curándose y reapareciendo en el mismo lugar.

Los sitios más comunes de infección son cara cuello y tronco. En algunos estudios de Japón se reporta como la variedad más común de esporotricosis.^{14,20}

➤ Esporotricosis diseminada

La esporotricosis extracutánea o diseminada es rara y ocurre en pacientes inmunocomprometidos, lo cual facilita que la micosis se extienda; esta depresión del sistema inmunológico es debida a enfermedades crónicas como diabetes, sarcoidosis, alcoholismo crónico, neoplasias, obstrucción pulmonar crónica e infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)^{16,21,22,23}, así como a trasplantes de órganos y médula ósea y tratamientos prolongados con cortisona²⁴, por lo que algunos autores la consideran una enfermedad oportunista^{2,14,25,26}

Este tipo de esporotricosis es una forma secundaria de la enfermedad que se extiende a partir de una lesión primaria, generalmente a través de la vía hematógena, propagándose de manera multifocal o unifocal, afectando huesos, articulaciones, mucosas, músculos, vísceras, sistema genitourinario, ojos, superficial e intraocular²⁴, y de manera extraordinaria al sistema nervioso central,^{2,26,27} dependiendo del sitio afectado, es la clasificación de la variedad clínica.¹⁴

➤ Esporotricosis pulmonar

En esta forma de esporotricosis, la infección es producida por inhalación de esporas y en raros casos es originada a partir de un foco primario en otro sitio, en algunas ocasiones se produce diseminación a otros órganos del cuerpo a partir del pulmón; en la literatura están registrado alrededor de 150 casos, predominando en alcohólicos crónicos¹⁴.

Esta forma de esporotricosis presenta dos variedades generales, ambas semejando cuadros de tuberculosis.

- La primera, que es la más común, es crónica y localizada en zonas cavitarias, la infección inicia como neumonía o bronquitis aguda, acompañada de fiebre, tos y malestar general, por lo que pasa desapercibida, si no se trata, la infección progresa y se extiende, aunque en algunos casos puede estacionarse.

- El segundo tipo afecta ganglios linfáticos traqueobronquiales es aguda y progresiva, presentando tos con expectoraciones, disnea, fatiga, pérdida de peso y adenopatías.¹⁹

Ambas variedades pueden presentarse en el mismo pulmón, siendo muy común que no se realice un diagnóstico acertado durante el padecimiento, por lo que cobran vital importancia las pruebas serológicas y la IDR.

c) Frecuencia de las diferentes formas clínicas de esporotricosis

FORMAS CLÍNICAS				
	Centro Derm. Pascua ²⁸		Estudio de Jalisco ¹²	
Linfagítica	129 casos	58.6%	567 casos	68.98%
Fijas	62 casos	28.2%	184 casos	22.38%
Diseminadas	11 casos	5%	10 casos	1.22%
Otras	6 casos	2.8%		
Sin determinar	16 casos	5.4%	61 casos	7.42%

Tabla 2.1 Formas clínicas de la esporotricosis

La forma linfagítica de la enfermedad sigue siendo la más común en la población mexicana, al presentar el 58.6 % y el 68.98% en estudios realizados en el CDP (Centro Dermatológico Pascua) y el EMJ (Estudio Multicéntrico de Jalisco) respectivamente.^{12,28}

TOPOGRAFIA				
	Centro Derm. Pascua ²⁸		Estudio de Jalisco ¹²	
Miembro superior	92 casos	41.8 %	375 casos	45.62 %
Miembro inferior	49 casos	22.3 %	190 casos	23.11 %
Cara, cuello y piel cabelluda	45 casos	20.5 %	128 casos	15.57 %
Tronco	7 casos	3.2 %	58 casos	7.06 %
Diseminada	11 casos	5.0 %	10 casos	1.22 %
No anotada	12 casos	5.4 %	61 casos	7.42 %

Tabla 2.2 Topografía de la esporotricosis.

Los miembros superiores, seguidos de los inferiores, son los que presentan el mayor índice de lesiones, en conjunto representan $\frac{2}{3}$ partes de la topografía de la esporotricosis.

4. DIAGNÓSTICO

Se considera la posibilidad de esporotricosis en cualquier caso que presente erupciones múltiples o úlceras, sin embargo, la esporotricosis linfocutánea tiene un cuadro clínico bien definido, que el diagnóstico puede hacerse a partir del primer examen de laboratorio, siendo difícil su identificación exacta sin pruebas clínicas, un ejemplo de esto es que durante la epidemia de la primavera de 1988 en Estados Unidos, sólo el 15% de los pacientes fueron correctamente diagnosticados después del reconocimiento inicial, originando que el 77% recibiera antibacterianos como primer tratamiento y el 13 % algún tipo de cirugía²⁹, Hajjeh mencionó que 8 de 9 pacientes en el estudio que realizó, recibieron algún tipo de antibióticos previo al diagnóstico de esporotricosis.³⁰

Algunas infecciones bacterianas, carbunco, tuberculosis y tularemia pueden imitar parte de su cuadro clínico, pero estas enfermedades suelen ser más agudas, además, deben considerarse algunas micosis como micetoma, cromoblastomicosis, blastomicosis norteamericana y paracoccidioidomicosis.

El diagnóstico de esporotricosis puede hacerse por 4 parámetros: clínico, inmunológico, histológico y micológico, a continuación se describen las principales pruebas.

➤ Cultivo del microorganismo

A partir de especímenes clínicos de las lesiones (escamas, fragmentos de tejidos, sangre, expectoraciones e inclusive humor vitreo²⁴) se realizan los cultivos en medios como Sabouraud o Micosel a 25°C, la descripción macro y microscópica del hongo confirma el diagnóstico; algunos autores consideran que el cultivo es positivo casi en el 100% de los casos pudiendo presentarse falsos negativos cuando el paciente ha recibido tratamientos previos incompletos con antimicóticos no específicos para la esporotricosis, como el uso de sulfametoxazol-trimetoprin.⁸ Cuando la esporotricosis se confunde con cuadros bacterianos, se hace necesario la confirmación del carácter dimórfico de *S. schenckii* por lo cual también se realiza el cultivo en medios ricos como gelosa sangre y BHI a 37°C observando la forma levaduriforme.

➤ Exámenes directos y biopsias.

Los exámenes al microscopio de muestras biológicas son de poco valor diagnóstico, debido a la dificultad de encontrar la forma parasitaria de los cuerpos asteroides, en forma de puro o navicilla y por que las técnicas de tinción con Gram o Giemsa no hacen fácilmente visible al hongo, sin embargo las levaduras se pueden resaltar con técnicas de inmunofluorescencia indirecta, detectando la forma parasitaria en el 100% de los casos, pero son difíciles y de un elevado costo; la búsqueda en cortes histopatológicos no son patognomónicos debido a que se pueden encontrar en otras infecciones bacterianas o micóticas, además de que la toma de biopsias puede originar la diseminación de la esporotricosis.⁸

➤ Pruebas intradérmicas

Se realizan con antígenos metabólicos de *S. schenckii*, es una prueba ampliamente utilizada como apoyo diagnóstico por ser rápida, barata, segura y de fácil interpretación, ésta produce una hipersensibilidad tardía específica en individuos infectados, pero no siempre indica actividad fúngica presente, la esporotricina es positiva desde el inicio de la enfermedad hasta 14 años más tarde, dando resultados negativos cuando la enfermedad es diseminada o el paciente se encuentra inmunosuprimido.^{13,31,8}

➤ Pruebas serológicas

Se les ha dado poco valor en las formas fijas y linfagíticas, ya que fácilmente se obtiene el cultivo o la IDR, pero adquieren una gran importancia en las formas sistémicas (viscerales), extracutáneas y cerebrales

Las pruebas más utilizadas son:

- Precipitación
- Aglutinación (en tubo y en placa)
- Fijación de complemento
- Inmunofluorescencia
- Inmunoenzimáticos
- Radioinmunoensayos

La especificidad de la prueba depende del antígeno utilizado, se prefieren los antígenos de levaduras que los provenientes de micelio,^{32,33} se pueden emplear como antígenos células levaduriformes liofilizadas o frescas, extractos de cultivo crudos o extractos de polisacáridos purificados de levaduras en medios de cultivo; sin embargo la presencia de anticuerpos en individuos sin la enfermedad, les ha restado cierto valor.

➤ Microscopía electrónica

Se utiliza muy poco para el diagnóstico, su uso se restringe al área de investigación: la microscopía de barrido muestra múltiples microconidias en racimo en el micelio aéreo, algunas hifas se disponen en forma de "haces", representando las granulaciones que macroscópicamente se observan en la superficie de las colonias. Las hifas presentan características distintas según los cortes, la pared es fina y el citoplasma menos denso que en las microconidias, pudiendo apreciarse mitocondrias y gotas lipídicas^{13,34}.

➤ Modelos animales

Las ratas, ratones, cobayos, jerbos y cuyos son fácilmente inducibles a la infección, inoculándoles suspensiones de levaduras o conidias por vía intraperitoneal o intratesticular, los animales desarrollan orquitis o peritonitis y a partir del material purulento de estas lesiones se pueden observar fácilmente numerosas células de levadura en forma de cigarro, utilizando la tinción de Gram o Giemsa.

Inoculando por vía intravenosa microconidias a grupos de ratones, se obtiene el 100% de mortalidad entre los 12 y 24 días después de la inoculación, este modelo provee datos que ayudan a la identificación de *S. schenckii* aislado de la naturaleza, asociándolo a epidemias de esporotricosis. Ningún otro aislado de la naturaleza, incluyendo a *Ceratocystis stenoceras* (actualmente *Ophiostoma stenoceras*) tiene una virulencia tan alta, sólo aquellas cepas capaces de inducir la infección.³⁵ Este diagnóstico se utiliza con fines de investigación.

➤ Mapeo Genético

Del aislamiento del ADN micótico, mediante el uso de enzimas de restricción, HaeII y MspI, es posible hacer la diferenciación entre *S. schenckii* y *Ceratocystis stenoceras*, que tan solo varían en tres sitios de los 1700 nucleótidos que conforman la secuencia y que parece ser la forma perfecta del hongo, además de reconocer las cepas virulentas y no virulentas de *S. schenckii*,³⁶ ya que presentan características fenotípicas muy similares, haciendo insuficiente la comparación morfológica para una correcta identificación³⁰.

5. EPIDEMIOLOGIA

A partir de que se describiera el primer caso a principios de siglo, en todas partes del mundo se han notificado informes de la enfermedad, tanto en el hombre como en animales; en las primeras décadas del siglo se reportaron cientos de casos en Europa y los Estados Unidos, aunque en la actualidad es muy difícil encontrarla en los países desarrollados, se localiza en todos los continentes exceptuando los polos, por lo que se le considera una enfermedad cosmopolita, sin embargo existen algunas zonas en donde ha predominado en los últimos años como Africa del Sur, Japón, Australia y Latinoamérica^{14,37}.

Es considerada la segunda micosis profunda después de micetoma, pero si consideramos que el agente etiológico más frecuente del micetoma es un actinomiceto, en términos taxonómicos estrictos, no es una micosis en la mayoría de los casos, por lo que algunos investigadores como Latapí la han considerado la primer micosis profunda en frecuencia en la República Mexicana,¹³ encontrándose en todos los estados, sobresaliendo Guanajuato, Distrito Federal, Puebla, Jalisco, Hidalgo, Veracruz, México, Oaxaca, Michoacán y San Luis Potosí²⁸ siendo tan común en algunos pueblos de Michoacán y Jalisco que "las lesiones pueden observarse en los habitantes cuando van rumbo al mercado".

a) Clima

Se han detectado poblaciones endémicas en todas las partes del mundo, en valles y montañas, durante las estaciones húmedas y secas, en climas templados, fríos y subtropicales.

La distribución de la enfermedad alrededor del mundo, presenta cambios enigmáticos e intrigantes en la frecuencia, distribución geográfica y condiciones atmosféricas, como ejemplo de esto podemos citar los contrastes que menciona Mac Kinnon en su estudio epidemiológico del Uruguay³⁸ y González Ochoa en su estudio de México³⁹, el primero menciona que hay un aumento en la esporotricosis durante las estaciones cálidas y lluviosas y el segundo asegura que el incremento se da en un clima seco y frío.

A pesar de todas estas diferencias, existe una tendencia en las investigaciones, sugiriendo que el hongo se desarrolla mejor a temperaturas por encima de los 15°C y con una humedad relativa del 90%, cabe mencionar que las esporas del hongo, en especial las pigmentadas,^{40,41} son muy resistentes a la desecación pero muy sensibles a la luz solar, permaneciendo viables durante años.³⁹

b) Sexo

SEXO				
	Centro Derm. Pascua ²⁸		Estudio de Jalisco ¹²	
Masculino	116 casos	52.71%	478 casos	58.15%
Femenino	104 casos	47.28%	344 casos	41.85%

Tabla 2.3 Esporotricosis en función del sexo

La mayoría de las investigaciones en México coinciden en señalar la relación de 1:1, no siendo el sexo un factor que predisponga a la enfermedad, aunque en los reportes de otros países esta proporción cambia, tal es el caso de Uruguay, Australia y Sudáfrica que reportan 3:1 en la relación hombre-mujer, siendo la proporción inversa en las investigaciones de India y Japón que notifican 1:3 y 2:3 respectivamente, siendo la mujer la predispuesta a la infección.^{42,43,44,45,46}

c) Edad

GRUPOS ETARIOS				
	Centro Dermatológico Pascua ²⁸		Estudio multicéntrico de Jalisco ¹²	
0 a 15 años	60 casos	27,3 %	239 casos	29,08 %
16 a 30 años	73 casos	33,2 %	154 casos	18,74 %
31 a 45 años	31 casos	14,1 %	114 casos	13,87 %
46 a 60 años	28 casos	12,7 %	132 casos	16,05 %
61 o más años	25 casos	11,4 %	87 casos	9,86 %
Sin determinar	3 casos	1,3 %	8 casos	9,86 %

Tabla 2.4 Esporotricosis por edad.

La esporotricosis se presenta en todas las etapas de la vida, como prueba de ello en la literatura encontramos dos casos extremos, el del niño que a los dos días de nacido es mordido por una rata desarrollando la enfermedad 8 días después, y el del anciano que a los 117 años presenta el padecimiento; por tanto, el rango dentro del cual es posible que se presente la esporotricosis es muy amplio, encontrando cierta preferencia en los niños en edad escolar y los jóvenes.

d) Ocupación

La esporotricosis ha sido clasificada como una enfermedad de tipo ocupacional que se presenta en campesinos, jardineros, carpinteros, empacadores que utilizan pastos o zacate, artesanos que elaboran canastos, cazadores de armadillos y pescadores; probablemente por la fuente de adquisición predomina en niveles socioeconómicos bajos.^{14,19}

OCUPACIÓN				
	Centro Dermatológico Pascua ²⁸		Estudio multicéntrico de Jalisco ¹²	
Hogar	48 casos	24.0%	143 casos	17.39%
Campeño	50 casos	25.5%	105 casos	12.78%
Escolar	43 casos	21.5%	187 casos	10.59%
Estudiante	9 casos	4.5%	43 casos	5.24%
Preescolar	16 casos	8.0%	39 casos	4.75%
Obrero	3 casos	1.5%	24 casos	2.91%
Albañil	—	—	14 casos	1.70%
Comercio	—	—	8 casos	0.97%
Profesionista	—	—	6 casos	0.72%
Servicio doméstico	4 casos	2.0%	—	—
Vendedor de loza	4 casos	2.0%	—	—
Demostrodora	—	—	3 casos	0.36%
Empleados	5 casos	2.5%	—	—
Mecánico	—	—	2 casos	0.25%
Pintor	—	—	2 casos	0.25%
Jardinero/ Florista	6 casos	3.0%	2 casos	0.25%
Carpintero	—	—	2 casos	0.25%
Velador	—	—	2 casos	0.25%
Avicultores	1 caso	0.5%	—	—
Otros	12 casos	6.0%	19 casos	2.31%
Sin determinar	—	—	321 casos	39.05%

Tabla 2.5 Esporotricosis en función de la ocupación

Los principales grupos afectados por la esporotricosis son los campesinos, las amas de casa y los escolares.

e) Factores biológicos que predisponen para la infección

Se cree que la resistencia a la enfermedad es alta en personas con buena salud, sin embargo Beurmann y Gougerot^{44,47} desde 1912 sugirieron que la esporotricosis podía ser considerada una enfermedad oportunista, que se acompaña de alguna enfermedad como diabetes, tuberculosis, leishmaniasis y otras afecciones crónicas²; la esporotricosis se ve favorecida en casos de desnutrición y alcoholismo crónico como lo menciona Mariat⁴⁸, posteriormente se descubrió que además del curso oportunista de la enfermedad, el microorganismo es ligeramente patógeno⁴⁹ y se sabe que la virulencia de las cepas aisladas del suelo es muy variable³⁵. Streton y Dart mencionan diferencias en la composición lipídica, la cual está en función del grado de virulencia registrado, aunque se encontró un potencial patógeno menor en los aislados de la naturaleza que en los aislados de seres humanos.⁵⁰

6. TRATAMIENTO

La esporotricosis es la segunda micosis profunda de mayor frecuencia en nuestro país y cuenta con el tratamiento más sencillo, eficaz y económico, el yoduro de potasio, aunque a lo largo del tiempo se han desarrollado una gran cantidad de antimicóticos que han sido utilizados cuando éste falla, presenta efectos secundarios o en los casos de esporotricosis diseminada, dando como resultado que el padecimiento cuente con una amplia gama de opciones para su tratamiento.

► Yoduro de potasio

El KI es efectivo en casos de esporotricosis cutánea, administrándose por vía oral con dosis de 3 a 6 g por día en adultos y 1 a 3 g por día en niños en tres tomas, es conveniente iniciar con dosis pequeñas y aumentarlas paulatinamente a fin de evitar los efectos colaterales, en la mayoría de los casos se obtiene la curación en 2 a 3 meses, continuando con el tratamiento por 3 meses más para evitar la reinfección¹³

Los efectos colaterales son muy raros, entre ellos se puede mencionar: gastritis, yodismo, cardiotoxicidad, anorexia, náuseas, vómito, sabor metálico, rash cutáneo, fiebre y edema de glándulas salivales⁵¹, para evitar los efectos secundarios se ha disminuido la dosis al efectuar sólo una toma al día, estos resultados aún se encuentran en la fase experimental⁵².

➤ **Hipertermia local**

S. schenckii vive entre temperaturas de 15-35°C y no más de 39°C por inhibición de su crecimiento^{51,53,54}, esta es la base de tratamiento más usado en Japón, utilizando baños de agua caliente, compresas o como lo reporta Hiruma^{51,55}, aplicando un cojín térmico con temperaturas de 40-42°C durante 40 a 60 min. por día hasta la formación de una escama, por un periodo de 8 semanas.

➤ **Ketoconazol**

Este imidazol ha a presentado resultados variables en su efectividad, algunos investigadores como Calhoun⁵⁶ reportan un 64% de curación con dosis de 400-800 mg/día, con la posibilidad de que al aumentar la dosis sea más efectivo el tratamiento, sin embargo a las dosis empleadas se han detectado efectos secundarios como hepatotoxicidad y efectos antiandrogénicos.

➤ **Fluconazol**

En casos de esporotricosis linfocutánea, Díaz⁵⁷ reportó una efectividad del 70% a dosis de 100-400 mg/día, especulando que al aumentar la dosis a 800 mg/día se presenten mejores resultados, en cambio Kauffman⁵⁸ recomienda una dosis mínima diaria de 400 mg en pacientes con esporotricosis linfocutánea y 800 mg en casos osteoarticulares y viscerales, ya que a dosis menores el porcentaje de curación es bajo.

➤ Itraconazol

Triazol que ha presentado buenos resultados, Restrepo⁵⁹ utilizó una dosis de 100 mg/día durante 3-6 meses, encontrando una respuesta del 100% en esporotricosis linfocutánea, un porcentaje de curación similar reportó Conti-Díaz⁶⁰ con dosis de 100-200 mg por 15-75 días; aumentando la dosis a 200-600 mg por día, Sharkey-Mathis⁶¹ comprobó un 73% de efectividad en pacientes con la variedad osteoarticular.

➤ Anfotericina B

Es el medicamento de elección en las formas diseminadas, hematógena o extracutánea,⁵¹ sin embargo los resultados obtenidos no son similares a los observados en otras micosis, en la variedad osteoarticular la anfotericina B no ha funcionado como se esperaba; en pacientes con VIH los resultados son desalentadores, ya que la infección progresa.⁶² Se ha utilizado en asociación con otros medicamentos como KI, ketoconazol y tratamientos quirúrgicos. Por ejemplo en pacientes con esporotricosis pulmonar, la curación es menor al 50%, pero combinándola con cirugía, aumenta hasta en un 80%.

La administración debe ser intrahospitalaria por vía intravenosa, con los cuidados que este medicamento requiere debido a los efectos colaterales del mismo, la dosis recomendada es de 30 mg, iniciando la dosificación con 5 mg cada tercer día hasta alcanzar la dosis máxima.⁵¹

➤ Otros

Debido a la poca resistencia de *S. schenckii* a los tratamientos, existen muchos fármacos que han demostrado cierta efectividad contra el padecimiento, entre los principales tenemos:

- 5-Fluorocitosina
- Miconazol
- Crioterapia con nitrógeno líquido
- Saperconazol
- Terbinafina
- Trimetoprim-Sulfametoxazol.
- Griseofulvina
- Esporotricina

II. SPOROTHRIX SCHENCKII

1. ESTADO NATURAL

El hongo se encuentra frecuentemente en la naturaleza, se asocia a lugares donde hay pinos y eucaliptos con temperaturas superiores a 15°C y no mayores a 35°C, ^{63,64} vive como saprófito micelial en suelo, *detritus* vegetal, musgo, paja, zacate, madera, hojas y ramas, tanto secas como frescas; se han reportado casos en los que ha sido aislado de insectos como hormigas, moscas, avispas, mosquitos, ácaros y algunas clases de cucarachas^{40,62}, en roedores como ardillas y ratas, armadillos, gatos, perros, caballos, loros, iguanas y pescados, e inclusive de instrumentos de labranza, alambres de púas y tepalcates.⁶⁵

2. MICOLOGIA

S. schenckii es un hongo dimórfico termal, aún no se ha encontrado su forma perfecta o sexual por lo que se le sigue clasificando como un *Deuteromycete*, subclase *Hyphomycetidae*, su reproducción asexual es por medio de conidias; Mariat sugirió que por sus semejanzas fisiológicas, morfológicas y bioquímicas, que la forma perfecta de *S. schenckii* podría ser *Ceratocystis (Ophiostoma) stenoceras*⁶⁶, el cual da cuadros clínicos similares cuando se inocula a animales de laboratorio.¹⁹

In vitro es posible observar las características de *S. schenckii*, dependiendo del medio y las condiciones a las que se cultive.

a) Cultivo a 25°C

Se utilizan los medios Sabouraud o Micosel agar, las colonias se desarrollan en 3-5 días, la morfología inicial es muy variable pero generalmente presentan un aspecto membranoso, radiado y de color blanquecino, posteriormente se desarrolla micelio aéreo, el color se torna café oscuro y dependiendo de la cepa puede llegar a pigmentar, en algunos casos la coloración es inconsistente y las cepas varían de manera considerable. Para inducir la formación de micelio aéreo, la conidiación y la pigmentación, se utilizan algunos medios especiales, tales como malta, maíz, y agar Czapek.

Microscópicamente se observan hifas delgadas de 1 a 2 μm de diam., septadas, ramificadas e hialinas; la reproducción es por conidias que miden 2x3 μm o 3x6 μm originándose de dos maneras: de un conidióforo que semeja flores de durazno o como micro aleuroconidias que nacen directamente de la hifas; en la clasificación francesa corresponden a simpodolusporas y radulusporas.¹⁹

b) Cultivo a 37°C

A esta temperatura se obtiene la fase levaduriforme en medios ricos en nutrientes como gelosa sangre o BHI, es indispensable la presencia de tiamina entre los componentes del medio. El desarrollo de las colonias se logra en 3-5 días obteniendo un aspecto cremoso, coloración blanco-amarillento, son muy similares a las colonias bacterianas.

Microscópicamente encontramos células levaduriformes, esféricas o blastoconidias que miden de 2x4 μm o 3x6 μm , es común la presencia de fragmentos de micelio residuales del dimorfismo.

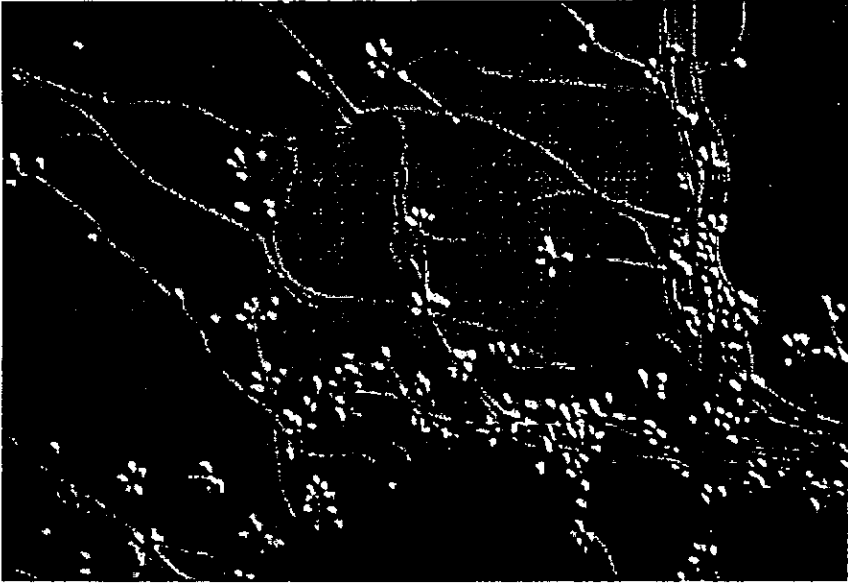


Figura 2.1 Fase micelial de *S. schenckii*

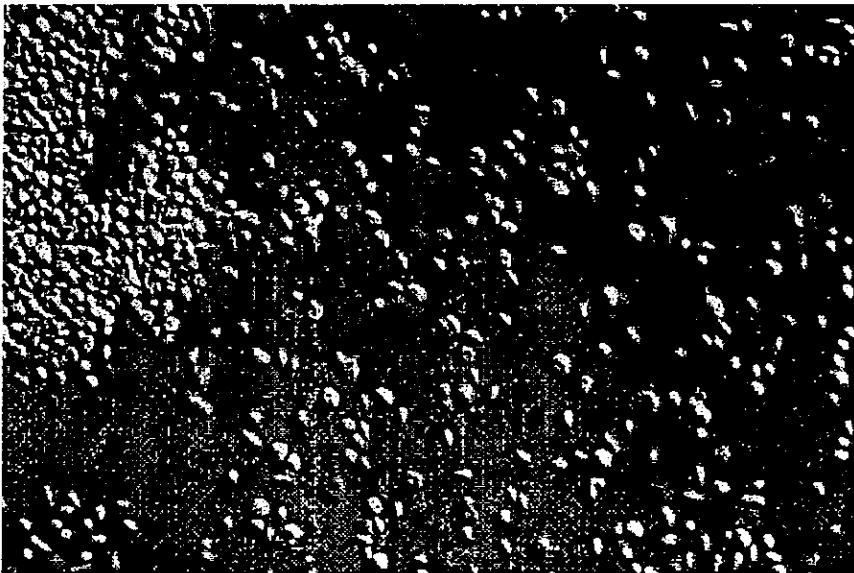


Figura 2.2 Fase levaduriforme de *S. schenckii*

3. FACTORES DE VIRULENCIA

Los hongos presentan algunos factores de virulencia que influyen en el establecimiento o no de la infección, con el subsecuente desarrollo de la enfermedad, entre algunos factores de virulencia se pueden mencionar: morfología, diferentes cepas, componentes bioquímicos, transición dimórfica, enzimas y toxinas. Por ejemplo, respecto a la diferente virulencia de las cepas, se ha demostrado que la DL_{50} es diferente dependiendo de la cepa, obteniendo una dosis menor en aquellas cepas más virulentas, otro factor que se ha estudiado es la rapidez con que un hongo puede transformarse de la forma micelial a la levaduriforme, ya que las hifas son eliminadas más eficazmente por el huésped, con respecto a las enzimas producidas por el hongo, éstas se encuentran en función del sustrato que atacan, las toxinas se han estudiado muy poco en los micromicetos.⁶⁷

a) Enzimas

Los hongos patógenos presentan proteinasas extracelulares que contribuyen a su crecimiento e invasión.³² *S. schenckii* produce dos proteinasas extracelulares en medios suplementados con albúmina o colágena,^{32,68} la proteinasa I con un pH óptimo de 6.0 que es fuertemente inhibida por quimostatina y la proteinasa II con un pH óptimo de 3.5 y que es inhibida por la pepsatina, ambas hidrolizan el estrato córneo, la colágena y la elastina, la adición de alguno de los dos inhibidores no detiene el crecimiento del hongo, pero al agregar ambos, el desarrollo de éste se ve fuertemente afectado, en estudios recientes se ha comprobado que ambas proteinasas son producidas *in vivo*.

b) Dimorfismo

S. schenckii es una de las especies de hongos dimórficos termales de interés médico, Lutz y Splendore⁷ demostraron el dimorfismo dependiente de la temperatura *in vitro*; *S. schenckii* crece como microorganismo levaduriforme en gemación a 37°C y como un hongo hifal que produce conidias a 25°C, las cepas aisladas de la naturaleza varían de manera considerable en su capacidad para crecer a 37°C, además de los cambios morfológicos, también hay cambios en la fisiología y en la composición celular.

Howard¹⁴ demostró que la transformación micelio-levadura *in vivo*, implica la producción de levaduras a partir del micelio, los conidias germinan en micelios cortos, originando células de levadura, la infección puede ser un proceso de selección para aquellas cepas capaces de crecer a temperaturas elevadas, 37°C, y desarrollarse dentro de tejidos animales.

4. INMUNOLOGÍA

Lloyd, Travassos y Mendoca-Previato,^{69,70} demostraron que la composición de la pared celular es diferente en las estructuras de levadura, miceliales y conidiales del microorganismo, posteriormente Loyd y Bitoon⁷¹ obtuvieron un glucopéptido con actividad inmunógena que presentaba la siguiente composición: manosa (20%), ramnosa (44%) y una fracción peptídica (16%), las ramnomanonas constituyeron los compuestos de mayor especificidad; además observaron que las estructuras finas de los polisacáridos variaban dependiendo de las condiciones de cultivo y por tanto de la morfología celular, encontraron monorramnosil-ramnomananas en la pared de las células de levaduras, hifa y conidias, pero sólo dirramnosil-ramnomananas en las paredes de las hifas.

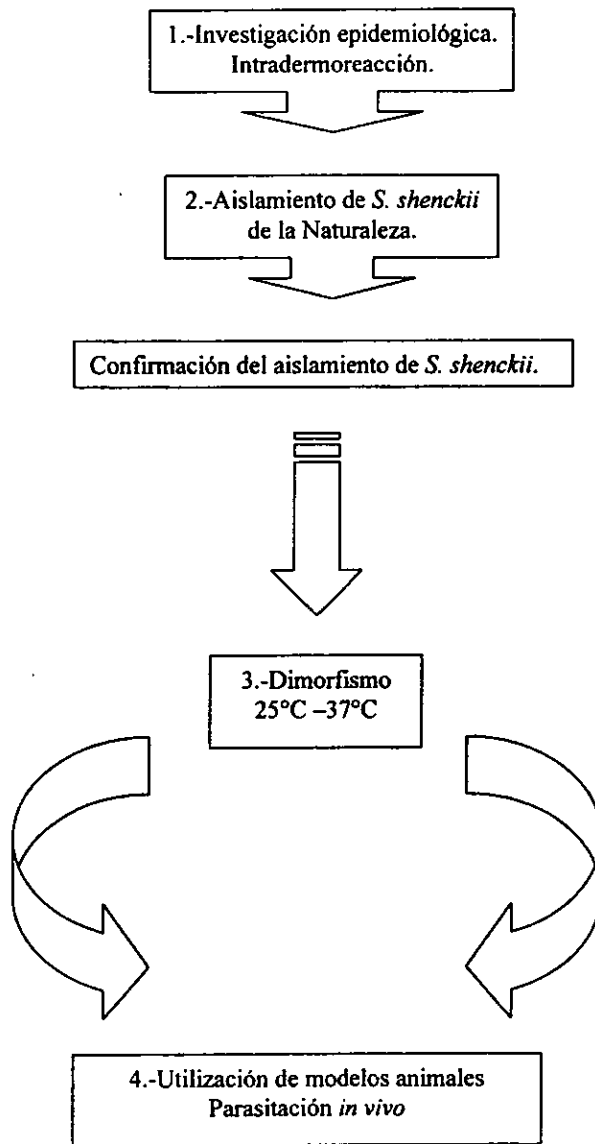
Con lo anterior se explica que el suero humano reacciona primariamente con las monoramnomananas aunque hay algunos anticuerpos para las dirramnomananas, lo cual indica la formación de micelio *in vivo*.

Diversos estudios demuestran anticuerpos específicos en todos los casos de esporotricosis, principalmente de IgG y en menor grado de IgM, en los casos atípicos es necesaria la identificación de los anticuerpos específicos contra *S. schenckii*.¹³

Investigación de esporotricosis
en una comunidad de la sierra sur de Oaxaca

Capítulo III

Metodología



Esquema 3.1 Diagrama general de la metodología utilizada durante la investigación.

1. INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA. INTRADERMOREACCIÓN.

a) Personal de apoyo.

Se seleccionaron a tres jóvenes estudiantes de la Preparatoria de la comunidad, auxiliares de salud en el pueblo, para colaborar en el estudio, explicándoles sobre la investigación, objetivos, técnicas y la enfermedad.

b) Inoculación

Las inoculaciones se realizaron los viernes en la tarde, un promedio de 20 a 25 personas en cada serie de visitas, se efectuaron 6 series de visitas; las IDR se llevaron a cabo con jeringas para insulina, utilizando 0.1 ml. del antígeno, micelial (M) ó levaduriforme (L), en el brazo izquierdo de las personas, tomándoles a cada persona sus datos generales:

- Nombre
- Edad
- Sexo
- Ocupación
- Escolaridad
- Padecimientos dermatológicos
- Tipo de antígeno inoculado: M o L. (se les asignó aleatoriamente)

Los resultados se leyeron los domingos por la mañana, alrededor de las 10:00 am, y en algunos casos en la tarde para aquellas personas que no se encontraban, junto con los datos generales del paciente se anotaron los resultados de la prueba y las características de la misma en dado caso de resultar positiva, al cumplir 48 h. de la inoculación y aún no se encontraba a la persona, se excluía al paciente del estudio.

2. AISLAMIENTO DE *Sporothrix schenckii* DE LA NATURALEZA

a) Toma de muestras.

Se utilizaron bolsas de plástico para la recolección de aproximadamente 250 g. de tierra, materia en descomposición y hojas (*deitritus vegetal*) de dos áreas distintas, la primera es una zona al oriente de la comunidad, la zona de pinos, y la segunda al occidente del pueblo, en la zona de manantiales.

Las muestras se mantuvieron cerradas herméticamente a 4°C hasta su tratamiento.

b) Tratamiento.

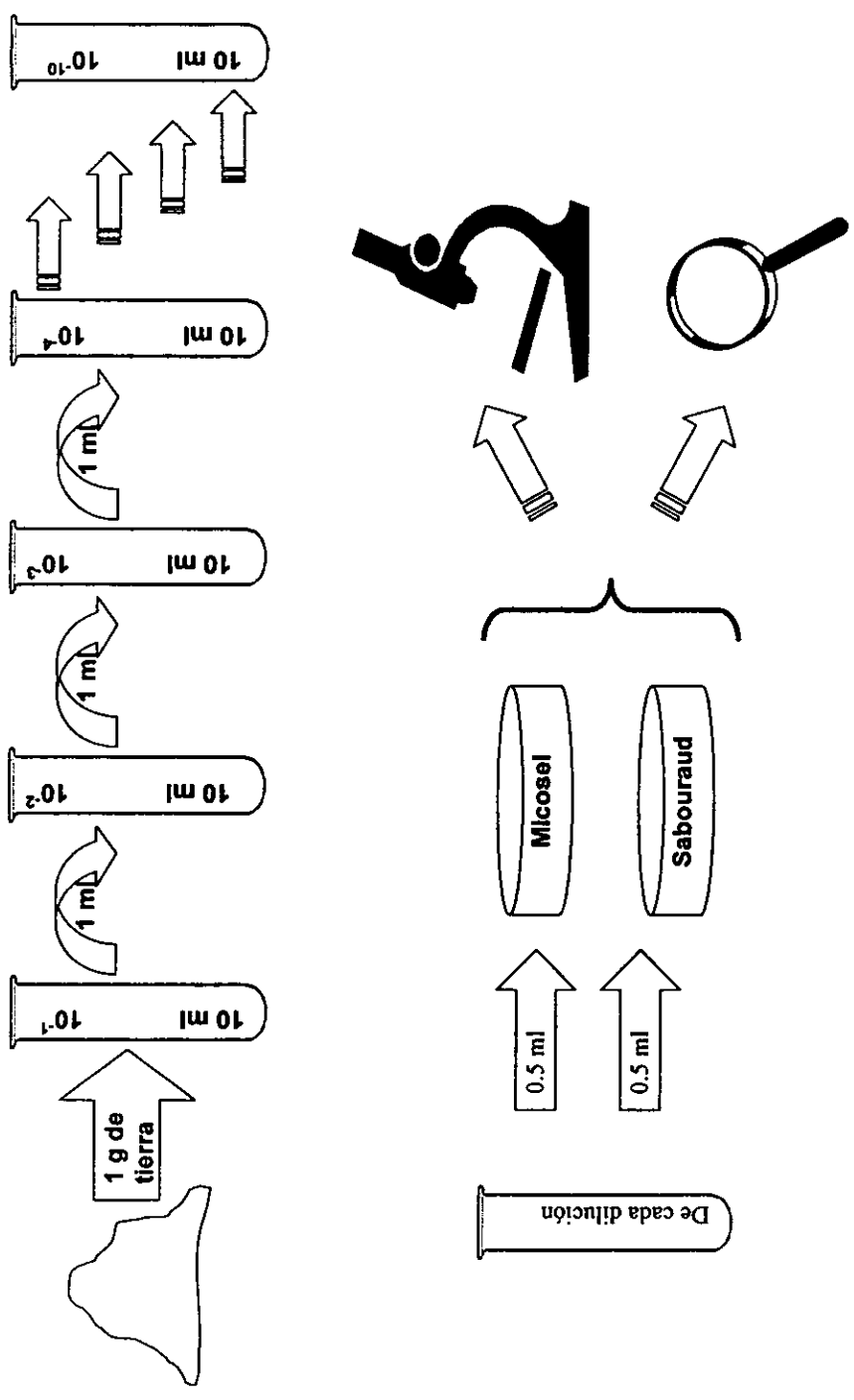
Se pesó 1 g de la muestra aforando a 10 ml. con agua estéril, posteriormente se mezcló utilizando el vórtex y una vez homogénea la solución, se hicieron diluciones seriadas del orden de 1:10, tomando 1 ml. de la solución madre y aforando a 10 ml., utilizando agua estéril, mezclando con el vórtex, y manteniendo las condiciones de esterilidad, hasta completar 10 diferentes diluciones, empezando por 10^{-1} y terminando en 10^{-10} .

c) Siembra.

De cada dilución se tomaron dos alícuotas de 0.5 ml., para depositarlas en agar Micosel y Sabouraud, manteniendo las condiciones de esterilidad e incubando las placas a 28 °C, observándolas cada tercer día hasta detectar desarrollo de colonias.

d) Identificación de colonias.

Una vez que se desarrollaron las colonias, se procedió al estudio macroscópico y microscópico; en el primero se consideró la forma, los bordes, elevación, textura, color y pigmentación de la colonia; para el estudio microscópico se realizaron exámenes directos con cinta adhesiva, teñidos con azul de lactofenol, observando principalmente las características de hifas, conidias y demás estructuras especiales de reproducción.



Esquema 3.2 Aislamiento de *S. schenckii* de la naturaleza, tratamiento, siembra e identificación de colonias.

3. DIMORFISMO DE *Sporothrix schenckii*

a) Cultivo a 28°C

A partir de las placas del primoaislamiento, se resembraron en agar amaranto para su aislamiento las probables colonias de *S. schenckii*, para posteriormente inocularlas en diferentes medios para su crecimiento a 28°C, observando durante 7 días las características coloniales y microscópicas, los medios utilizados fueron:

- Agar papa dextrosa (PDA)
- Agar Micosel.
- Agar harina de maíz (CM)
- Agar Amaranto
- Agar Sabouraud.

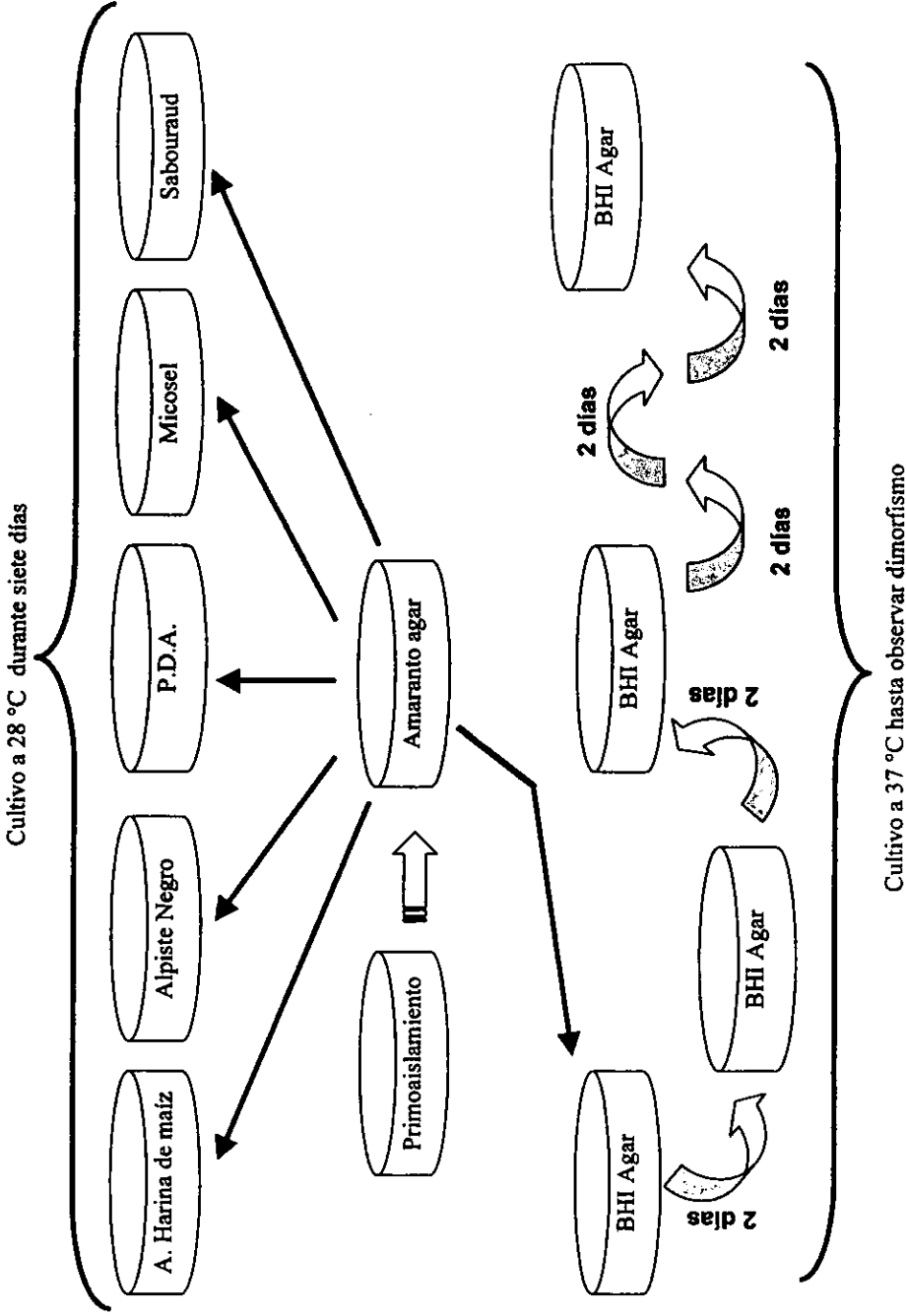
b) Cultivo a 37°C

Las cepas usadas para el dimorfismo se tomaron del aislamiento en agar de amaranto a 28°C, sembrando por estrías continuas en placas de agar BHI, manteniendo la temperatura en 37°C, observando el desarrollo colonial y realizando pases sucesivos cada tercer día en BHI agar hasta observar el dimorfismo, utilizando como control positivo, la cepa CC-89998 proveniente de una esporotricosis hematógena.

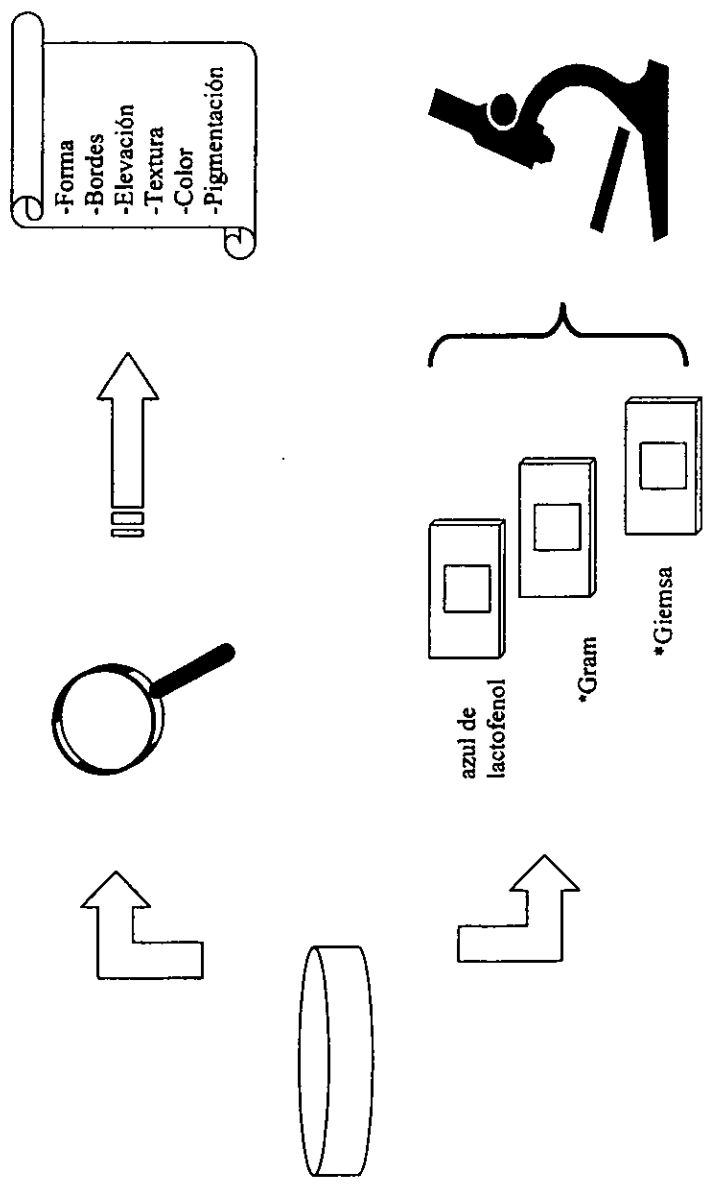
c) Observación colonial y microscópica

Una vez que se desarrollaron las colonias de cada placa cultivada a 28°C o 37°C, estas últimas simultáneamente con cada pase, se procedió al estudio macroscópico y microscópico; en el primero se consideró la forma, los bordes, elevación, textura, color y pigmentación de la colonia, para el estudio microscópico se realizaron exámenes directos con cinta adhesiva, teñidos con azul de lactofenol, observando hifas, conidias, y demás estructuras especiales de reproducción.

Al observar la forma dimorfizada de *S. schenckii* se detuvo la resiembra en BHI agar, realizando tinciones de Gram y de Giemsa.



Esquema 3.3 Dimorfismo de *S. schenckii*, cultivo en diferentes medios a 28 °C y pases seriados en agar BHI a 37 °C.



Esquema 3.4 Dimorfismo de *S. schenckii*, observación colonial macro y microscópica de los diferentes medios empleados, tanto a 28°C como a 37°C. *Sólo al observar la forma dimorfofizada de *S. schenckii* se realizaron tinciones de Gram y Giemsa.

4. MODELOS ANIMALES. PARASITACIÓN *IN VIVO*

a) Preparación del inóculo

Una vez que se comprobó el dimorfismo de *S. schenckii*, se utilizó la última placa de agar BHI para resembrar en BHI, manteniendo la temperatura de 37°C durante 7 días.

Al finalizar la semana de cultivo, se centrifugó la suspensión de levaduras a 3000 r.p.m. durante 5 min., posteriormente se desechó el sobrenadante y se agregaron 5 ml. de SSI, resuspendiendo el sedimento de levaduras formado, se repitió la centrifugación hasta completar 3 lavados y al final se resuspendió en 1 ml. de SSI.

Con la suspensión final se cuantificaron las levaduras utilizando la cámara de Neubauer, se realizaron las diluciones necesarias para obtener una concentración del orden de 10^6 levaduras/ml.

Para la preparación del inóculo se utilizaron tanto las cepas salvajes, como la cepa control positiva.

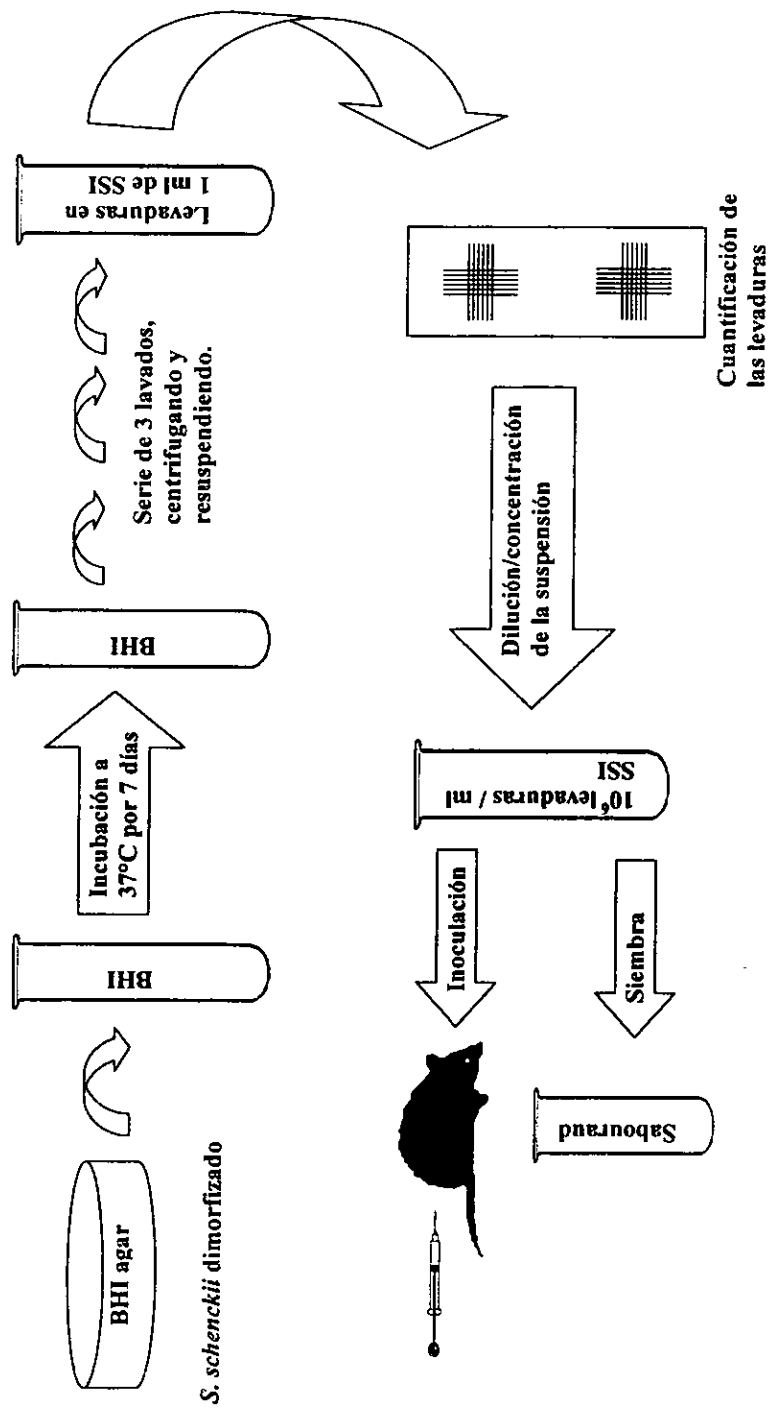
b) Inoculación.

Los ratones utilizados son machos de 20-25 gramos, se les inoculó 0.1 ml de la suspensión de levaduras por alguna de las vías, la intratesticular (IT) y la intraperitoneal (IP), en cada una de ellas se necesitó un control positivo (esporotricosis hematógena), un control negativo (sólo el vehículo), además de las cepas salvajes obtenidas de la naturaleza, el estado físico de los ratones se revisó cada tercer día, verificando si presentaban orquitis, peritonitis o alguna otra lesión cutánea.

De cada suspensión de levaduras se tomaron 0.1 ml para ser sembrados en agar Sabouraud para comprobar la viabilidad de la cepa.

c) **Disección del animal.**

A los 45 días de la inoculación o cuando los ratones se encontraban muy enfermos, se sacrificaron por dislocación cervical procediendo a la disección del animal, observando y valorando las lesiones presentes en diferentes tejidos: de testículos y de aquellos órganos en los cuales los daños son evidentes, se tomaron biopsias colocando una porción en tubos con Sabouraud.



Esquema 3.5 Preparación del inóculo de *S. schenckii* y administración de levaduras para la parasitación *in vivo*.

Investigación de esporotricosis
en una comunidad de la sierra sur de Oaxaca

Capítulo IV

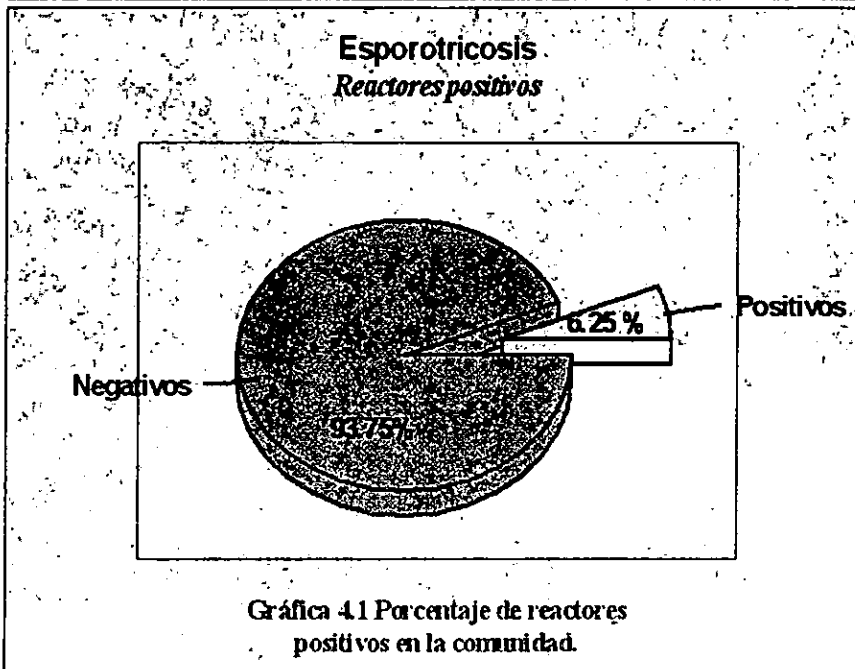
Resultados

1. INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA. INTRADERMOREACCIÓN.

Esporotricosis
Reactores positivos

	Personas	Porcentaje
Reactores positivos	9	6,25%
Reactores negativos	135	93,75%

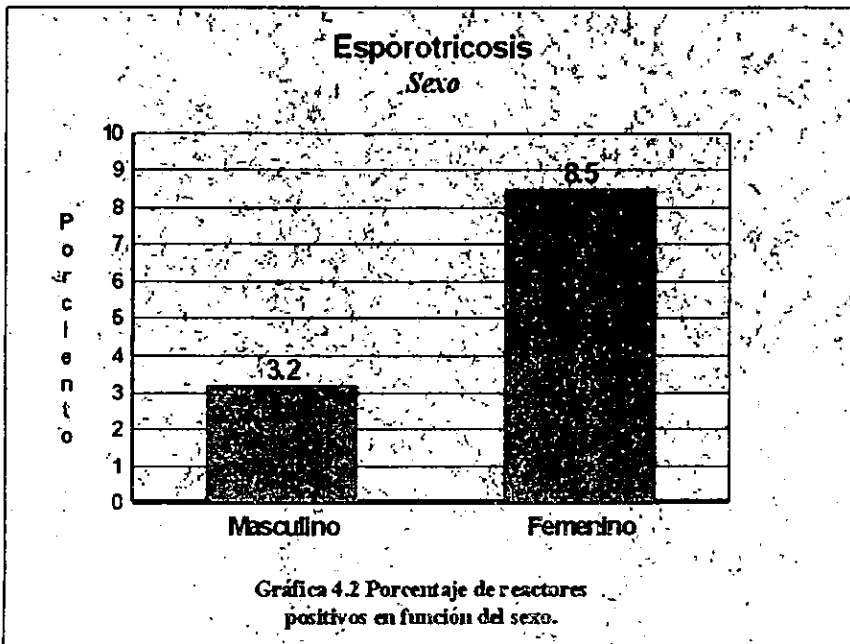
Tabla de datos
4.1



Esporotricosis
Sexo

	Positivos	Negativos	Total	Porcentaje
Masculino	2	60	62	3.2%
Femenino	7	75	82	8.5%

Tabla de datos 4.2



Esporotricosis

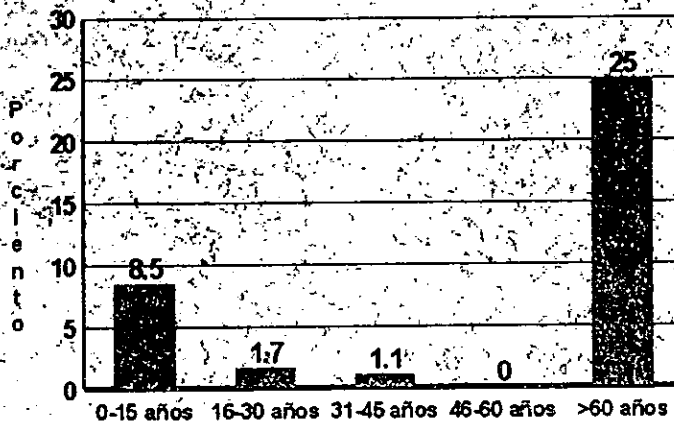
Edad

	Positivo	Negativo	Total	Porcentaje
0-15	5	54	59	8,5%
16-30	1	59	60	1,7%
31-45	2	16	18	1,1%
46-60	0	3	3	0,0%
61-más	1	3	4	25,0%

Tabla de datos 4.3

Esporotricosis

Edad



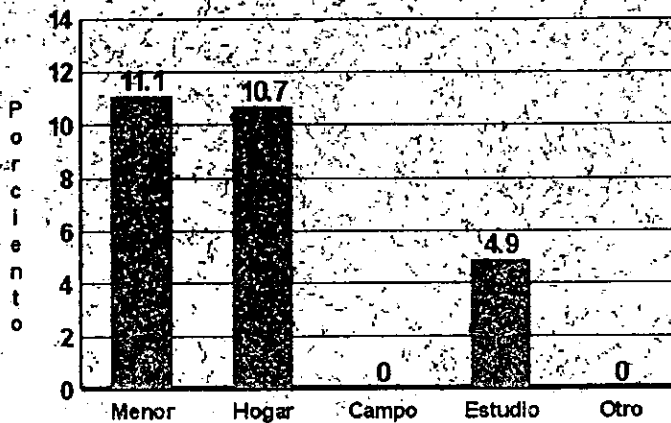
Gráfica 4.3 Porcentaje de reactivos positivos en cada rango de edad.

Esporotricosis
Ocupación

	Positivos	Negativos	Total	Porcentaje
Hogar	3	25	28	10.7%
Campo	0	14	14	0.0%
Estudio	4	78	82	4.9%
Menor	2	16	18	11.1%
Otros	0	2	2	0.0%

Tabla de datos 4.4

Esporotricosis
Ocupación

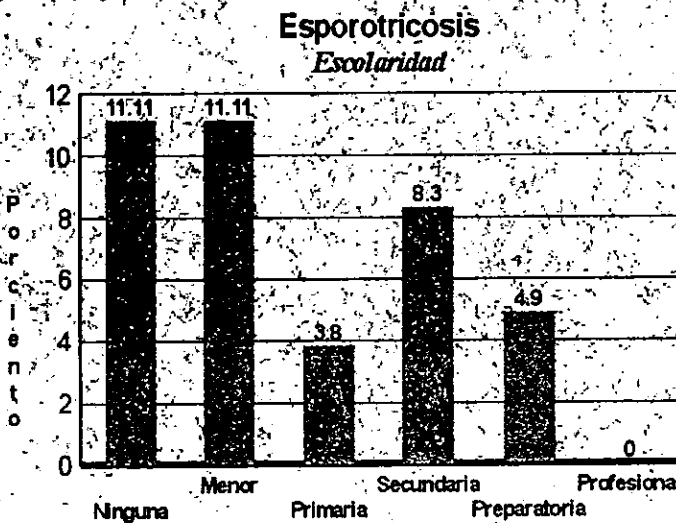


Gráfica 4.4 Porcentaje de reactivos positivos considerando la ocupación.

Esporotricosis.
Escolaridad

	Positivos	Negativos	Total	Porcentaje
Ninguna	2	16	18	11.1
Menor	2	16	18	11.1
Primaria	2	51	53	3.8
Secundaria	1	11	12	8.3
Preparatoria	2	39	41	4.9
Profesional	0	2	2	0.0

Tabla de datos 4.5

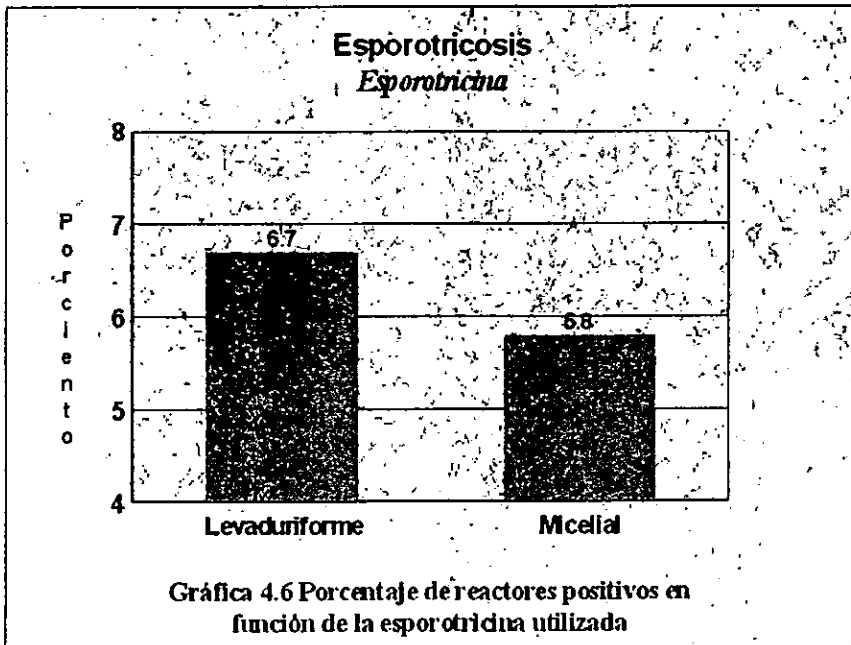


Gráfica 45 Porcentaje de reactivos positivos considerando la escolaridad

Esporotricosis
Esporotricina

	Positivos	Negativos	Total	Porcentaje
Levaduriforme	5	70	75	6.70%
Micelial	4	65	69	5.80%

Tabla de datos 4.6

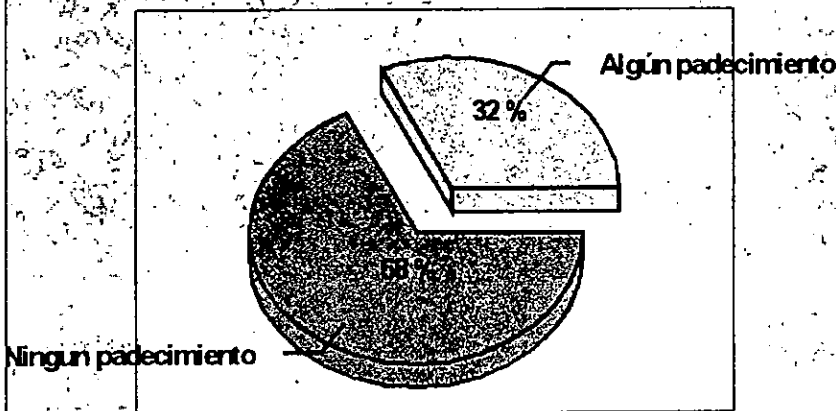


Esporotricosis
Enfermedades de la piel

	Personas	Porcentaje
Algún padecimiento	46	32.00%
Ningún padecimiento	98	68.00%

Tabla de datos 4.7

Esporotricosis
Enfermedad de la piel

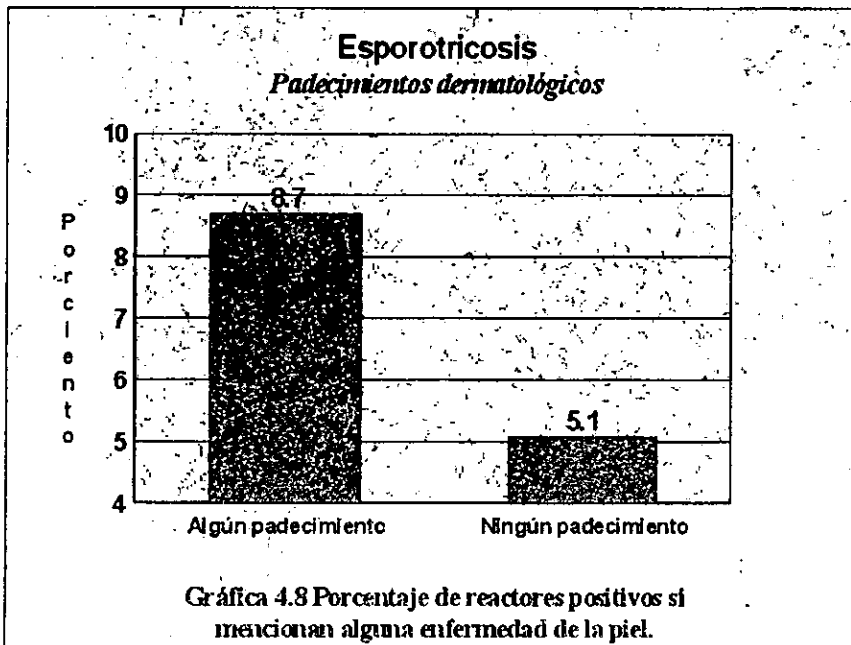


Gráfica 4.7 Porcentaje de personas que mencionan algún tipo de padecimiento dermatológico.

Esporotricosis
Padecimientos dermatológicos

	Positivo	Negativo	Total	Porcentaje
Algún padecimiento	4	42	46	8.7%
Ningún padecimiento	5	93	98	5.1%

Tabla de datos 4.8



2. AISLAMIENTO DE *sporothrix schenckii* DE LA NATURALEZA.

Dilución	Forma	Elevación	Textura	Color	Anverso pigmentado	Características microscópicas	Especie
Mi 10 ¹	Membranosa	Plana	Algodonosa	Blanca	No	Hifas delgadas y septadas, filídes no ramificadas y microconidias en racimo.	<i>Acremonium</i>
Mi 10 ¹	Membranosa	Plana	Pululenta	Gris	Amarillo oscuro	Hifas gruesas y septadas, conidióforos filídes y conidias	<i>Penicillium</i>
Mi 10 ³	Radiada	Plana	Aterciopelada	Blanca	No	Hifas gruesas y septadas, conidióforos filídes y conidias	<i>Penicillium</i>
Mi 10 ³	Radiada	Plana	Aterciopelada	Blanca y verde al centro	No	Hifas gruesas y septadas, conidióforos filídes y conidias	<i>Penicillium</i>
Mi 10 ³	Radiada	Al centro	Vellosa	Blanca	No	Hifas delgadas, microconidias en racimo y conidióforos ramificados	<i>Verticillium</i>
Mi 10 ³	Lisa	Cóncava	Vellosa	Blanca	No	Hifas delgadas y septadas filídes y simpoduloconidias	<i>Beauveria</i>
Mi 10 ⁷	Cerebriforme	Cóncava	Glabra	Grís	No	Hifas delgadas y septadas, microconidias, simpodulos poros y radulosporas	<i>Sporothrix</i>

Tabla 4.9 Hongos aislados de la zona de marantiales, utilizando medio Micosel.

Dilución	Forma	Elevación	Textura	Color	Anverso pigmentado	Características microscópicas	Especie
Sa 10 ⁻¹	Membranosa	Plana	Algodonosa	Blanca	No	Hifas delgadas microconidias en racimo y conidióforos ramificados	<i>Verticillium</i>
Sa 10 ⁻¹	Membranosa	Plana	Pulverenta	Crema y oscura al centro	Amarillo	Hifas gruesas y septadas conidióforos filides y conidias	<i>Penicillium</i>
Sa 10 ⁻²	Membranosa	Cóncava	Aterciopelada	Café claro y gris en medio	No	Hifas gruesas y septadas conidióforos filides y conidias	<i>Penicillium</i>
Sa 10 ⁻²	Membranosa	Plana	Pulverenta	Crema	No	Hifas gruesas y septadas conidióforos filides y conidias	<i>Penicillium</i>
Sa 10 ⁻³	Radiada	Plana	Pulverenta	Verde y blanco al centro	No	Hifas gruesas y septadas conidióforos filides y conidias	<i>Penicillium</i>

Tabla 4.10 Hongos aislados de la zona de manantiales, utilizando medio Sabouraud.

Dilución	Forma	Elevación	Textura	Color	Amerso pigmentado	Características microscópicas	Especie
Mi 10 ⁻²	Lisa	Cóncava	Velosa	Café claro	No	Hifas delgadas y septadas filiformes y simpoduloconidias	<i>Beauveria</i>
Mi 10 ⁻²	Membranosa	Cóncava	Velosa	Blanca	Blanca	Hifas gruesas y septadas, macroconidias tabicadas	<i>Fusarium</i>
Mi 10 ⁻³	Radialada	Cóncava	Velosa	Amarillita	No	Hifas gruesas y septadas atroconidias	Sin identificar
Mi 10 ⁻³	Lisa	Cóncava	Velosa	Blanca	No	Hifas delgadas y septadas filiformes y simpoduloconidias	<i>Beauveria</i>
Mi 10 ⁻³	Radialada	Cóncava	Aterciopelada	Crema y oscura al centro	Café	Hifas delgadas y septadas filiformes y microconidias en cadena y alargadas	<i>Paezilomyces</i>
Mi 10 ⁻³	Radialada	Cóncava	Glabra	Crema	No	Hifas delgadas y septadas microconidias, simpodulos-poros y radulosporas	<i>Sporothrix</i>
Mi 10 ⁻³	Membranosa	Cóncava	Aterciopelada	Café y naranja al centro	Naranja	Hifas delgadas y septadas filiformes y microconidias en cadena y alargadas	<i>Paezilomyces</i>
Mi 10 ⁻³	Radialada	Cóncava	Pulverosa	Blanca grisaceo	Café claro	Hifas delgadas, microconidias en racimo y conidióforos ramificados	<i>Verrucillium</i>
Mi 10 ⁻³	Membranosa	Plana	Aterciopelada	Queve	No	Hifas gruesas, septadas y en forma de raqueta	<i>Alternaria</i>
Mi 10 ⁻³	Lisa		Aterciopelada	Blanca	No	Hifas delgadas y septadas filiformes y simpoduloconidias	<i>Beauveria</i>
Mi 10 ⁻³	Radialada	Plana	Aterciopelada	Gris y blanco al centro	No	Hifas gruesas y septadas, conidióforos filiformes y conidias	<i>Penicillium</i>

Tabla 4.11 Hongos aislados de la zona de pinos, utilizando medio Micosel.

Dilución	Forma	Elevación	Textura	Color	Anverso pigmentado	Características microscópicas	Especie
Sa 10 ⁻⁴	Umbilical	Cóncava	Aterciopelada	Blanca	No	Hifas delgadas y septadas	Sin identificar
Sa 10 ⁻⁴	Radiada	Plana	Vellosa	Gris	No	Hifas delgadas y septadas, filidas y microconidias en cadena y alargadas.	<i>Paecilomyces</i>
Sa 10 ⁻⁵	Cerebriforme	Cóncava	Glabra	Café oscuro	No	Hifas delgadas en zarcillo y espiral	Sin identificar
Sa 10 ⁻⁶	Radiada	Cóncava	Aterciopelada	Blanca grisácea	No	Hifas gruesas y septadas, conidióforo filidas y conidias	<i>Penicillium</i>
Mi 10 ⁻⁸	Radiada	Cóncava	Glabra	Crema	No	Hifas delgadas y septadas, microconidias simpodulas poros y radulasporas	<i>Sporothrix</i>
Sa 10 ⁻⁷	Radiada	Plana	Vellosa	Blanca	No	Hifas gruesas cenocíticas, con esporas en membranas	Sin identificar

Tabla 4.12 Hongos aislados de la zona de pinos, utilizando medio Sabouraud.

Para los siguientes estudios se utilizaron 3 cepas salvajes, una de la zona de manantiales (CS-001), otra de la zona de pinos (CS-002) y una tercer cepa también de la zona de pinos, esta última no pudo ser identificada plenamente como *S. schenckii*, a diferencia de las demás que si lo fueron, y por último una cepa proveniente de un aislado clínico, la CC-89998.

3. DIMORFISMO DE *sporothrix schenckii*

Medio	CS-001 Zona de manantiales	CS-002 Zona de pinos	CS-003 Zona de pinos	CC-89998 Cepa clínica
Micosel	Colonia cerebriforme, glabra, color crema que se torna oscura.	Colonia cerebriforme, glabra, color crema que se torna oscura.	Colonia cerebriforme, glabra, color café oscuro.	Colonia cerebriforme, glabra, color crema que se torna oscura.
Sabouraud	Colonia cerebriforme, glabra, color crema.	Colonia cerebriforme, glabra, color crema.	Colonia cerebriforme, glabra, color café oscuro.	Colonia cerebriforme, glabra, color crema.
Agar papa dextrosa	Amplio desarrollo, colonia pulverenta, membranosa, verde oscuro.	Amplio desarrollo, colonia pulverenta, membranosa, verde oscuro.	Colonia seca, convexa brillante, café claro con un pigmento que difunde en el medio.	Amplio desarrollo, colonia pulverenta, membranosa, verde oscuro.
Agar amaranto	Amplio desarrollo, colonia pulverenta, membranosa, negro y después gris.	Amplio desarrollo, colonia pulverenta, membranosa, negro y después gris.	Amplio desarrollo, colonia pulverenta, radiada, color gris que cambia a blanco.	Amplio desarrollo, colonia pulverenta, membranosa, negra y después gris.
Agar harina de maíz	Poco desarrollo, colonia membranosa, aspecto bacteriano, café claro y oscuro.	Poco desarrollo, colonia membranosa, aspecto bacteriano, café claro y oscuro.	Colonia membranosa, seca, color crema y después blanca.	Poco desarrollo, colonia membranosa, bacteriana, café claro y oscuro.
Agar alpiste negro	Colonia glabra, radiada, semejando un volcán, café claro con un pigmento difusible en el medio.	Colonia glabra, radiada, semejando un volcán, café claro con un pigmento difusible en el medio.	No desarrollo.	Colonia glabra, radiada, semejando un volcán, café claro con un pigmento difusible en el medio.

Tabla 4.13 Morfología macroscópica de las cepas que presuntivamente son *Sporothrix schenckii*, en diferentes medios de cultivo, durante el desarrollo a 25 °C, durante 8 días de observación.

Medio	CS-001 Zona de mantiliales	CS-002 Zona de pinos	CS-003 Zona de pinos	CC-89998 Cepa clínica
Micosele	Hifas hialinas y septadas, pequeñas conidias	Hifas hialinas y septadas, pequeñas conidias	Hifas en zarcillos	Hifas hialinas y septadas, pequeñas conidias
Sabouraud	Hifas hialinas y septadas, pequeñas conidias	Hifas hialinas y septadas, pequeñas conidias	Hifas en zarcillos	Hifas hialinas y septadas, pequeñas conidias
Agar papa dextrosa	Hifas hialinas y septadas, conidias pigmentadas	Hifas hialinas y septadas, conidias pigmentadas	Hifas en zarcillos	Hifas hialinas y septadas, conidias pigmentadas
Agar amaranto	Hifas hialinas y septadas, conidias pigmentadas	Hifas hialinas y septadas, conidias pigmentadas	Hifas en zarcillos	Hifas hialinas y septadas, conidias pigmentadas
Alpiste negro	Hifas hialinas y septadas, conidias pigmentadas	Hifas hialinas y septadas, conidias pigmentadas	No desarrollo	Hifas hialinas y septadas, conidias pigmentadas

Tabla 4.14 Observación realizada a los 8 días de la morfología microscópica de las cepas que presuntivamente son *Sporothrix schenckii*, en diferentes medios de cultivo a 25 °C.

Día	CS-001 Zona de manantiales	CS-002 Zona de pinos	CS-003 Zona de pinos	CC-89998 Cepa clínica
1	Siembra en agar BHI	Siembra en agar BHI	Siembra en agar BHI	Siembra en agar BHI
4	Colonias cremosas húmedas y planas de color café, hifas gruesas	Colonias cremosas húmedas y planas de color café, hifas gruesas	Pequeñas colonias café oscuro, cóncavas y brillosas, hifas muy delgadas en espiral	Colonias cremosas húmedas y planas de color café, hifas gruesas
8	Hifas gruesas y células seme jantes a macroconidias	Hifas gruesas y células seme jantes a macroconidias	Pocas y pequeñas colonias Hifas muy delgadas y microconidias	Hifas gruesas y células seme jantes a macroconidias
12	Hifas gruesas y células seme jantes a macroconidias	Hifas gruesas y células seme jantes a macroconidias	No se observa desarrollo de colonias	Hifas gruesas células seme jantes a macroconidias y pequeñas levaduras
16	Hifas células seme jantes a macroconidias y pequeñas levaduras	Hifas células seme jantes a macroconidias y algunas pequeñas levaduras		Pequeñas levaduras y un número menor de hifas
20	Algunas hifas levaduras pequeñas y grandes	Algunas hifas levaduras pequeñas y medianas		Algunas hifas y grandes levaduras
24	Algunas hifas levaduras pequeñas y grandes	Algunas hifas levaduras pequeñas y grandes		Levaduras levaduras gemantes y blastoconidias

Tabla 4.15 Observación macro y microscópica de las cepas que presuntamente son *Sporothrix schenckii*, durante el periodo de dimorfismo a 37°C.

La morfología macroscópica, no varió a partir de la primera observación.

4. MODELOS ANIMALES. PARASITACIÓN *IN VIVO*.

Día	CS-001 Zona de manantiales	CS-002 Zona de pinos	CS-003 Zona de pinos	CC-89998 Cepa clínica control positivo	Solución salina control negativo
0	Inoculación intratesticular	Inoculación intratesticular	Inoculación intratesticular	Inoculación intratesticular	Inoculación intratesticular
10		Orquitis	Orquitis		
20		Lesiones en la parte posterior del lomo y vientre	Orquitis		
30	Pequeña lesión supratesticular	Lesiones en la parte posterior del lomo y vientre	Orquitis		
40	Pequeña lesión perianal	Retroceso de las lesiones; se mantiene la inflamación	Leve orquitis	Pequeñas lesiones perianales y testiculares	
45	No presenta lesiones externas ni internas	Lesiones a nivel escrotal	Pequeñas escoriaciones en todo el cuerpo, orejas, pene y escroto	No presenta lesiones externas ni internas	

Tabla 4.16 Valoración de las lesiones en ratones inoculados intratesticularmente. En el día 45 se sacrificaron a los animales y se efectuó una revisión más de tallada de los ratones.

Día	CS-001 Zona de manantiales	CS-002 Zona de pinos	CS-003 Zona de pinos	CC-89998 Cepa clínica control positivo	Solución salina control negativo
0	Inoculación intraperitoneal	Inoculación intraperitoneal	Inoculación intraperitoneal	Inoculación intraperitoneal	Inoculación intraperitoneal
10		Orquitis inflamación en lomo y vientre			
20	Leve orquitis	Orquitis lesiones en lomo, vientre y perianales			Pequeñas lesiones en el lomo
30		Orquitis lesiones en lomo, vientre y perianales			Pequeñas lesiones en el lomo
40		Retrceso de las lesiones se mantiene la inflamación			Desaparecen las lesiones
45	Pequeñas lesiones en el lomo y una pata posterior, fusionando piel con músculo	Lesiones alrededor de la cola, patas traseras y vientre, esta última es mayor a nivel interno presentando necrosis y fusionando el tejido subcutáneo con el peritoneo	Pequeñas lesiones en la parte posterior del lomo y alrededor de la cola	Pocas y pequeñas lesiones en lomo y pata posterior, en ésta atravesó la piel	Pequeñas lesiones superficiales en el lomo, cercanas a la base de la cola

Tabla 4.17 Valoración de las lesiones en ratones inoculados intraperitonealmente. En el día 45 se sacrificaron a los animales y se efectuó una revisión más de tallada de los ratones.

	CS-001 Zona de manantiales	CS-002 Zona de pinos	CS-003 Zona de pinos	CS-89998 Cepa clínica control positivo	Solución salina control negativo
Intra testicular	Biopsia				
	Testículo	<i>Sporothrix schenckii</i>	<i>Sporothrix schenckii</i>	Negativo	<i>Sporothrix schenckii</i>
Intra peritoneal	Lesión	No hubo lesión	(Escroto) <i>Sporothrix schenckii</i>	No hubo lesión	No hubo lesión
	Testículo	<i>Sporothrix schenckii</i>	Negativo	<i>Sporothrix schenckii</i>	Negativo
	Lesión	(Pata) Negativo	(Piel) Negativo	(Piel) Negativo	(Piel) Negativo

Tabla 4.18 Recuperación de la cepa inoculada a los ratones, sembrando biopsias de testículos y lesiones en Micosel a 25°C. Al no detectar lesiones en el ratón, no se efectuó la respectiva siembra.

Investigación de esporotricosis
en una comunidad de la sierra sur de Oaxaca

Capítulo V

Discusión

La comunidad de Santa María Quiegolani es el reflejo de muchas poblaciones rurales, principalmente del centro y sur del país, al presentar un clima templado y condiciones humanas semejantes al resto de la república, niveles socioeconómicos bajos, deficientes servicios de salud, desnutrición, alcoholismo y contacto frecuente con materia orgánica, por lo que cumple con las condiciones ecológicas y humanas para encontrar a *S. schenckii* y como consecuencia la esporotricosis aunque no se tienen reportes al respecto.

Parte de la profilaxis y del oportuno diagnóstico de la esporotricosis, incluye el detectar zonas en donde puede estar presente la enfermedad sin un correcto diagnóstico, el cual se basa relacionando los datos clínicos y estudios de laboratorio, que son principalmente el cultivo y la IDR, ambos se recomiendan por su facilidad y eficacia, aunque cabe mencionar que la esporotricina puede presentar falsos negativos, positivos y casos anérgicos, al estar las personas en contacto frecuente con un pequeño número de esporas, sin desarrollar la enfermedad.^{8,14,72}

Es necesario enfatizar que la dilución utilizada en el presente estudio para la IDR fue de 1:100000, la cuál es menor a la usualmente recomendadas, al diluir el antígeno 1:100 más de lo que comúnmente se usa, esto se realizó para evitar las probables reacciones de hipersensibilidad, por lo que utilizando las concentraciones habituales, debería ser mayor el número de reactores positivos.

La comunidad de Santa María Quiegolani enclavada en la sierra sur de Oaxaca, cuenta con una población que fluctúa entre 800-1000 personas debido a la migración en este tipo de comunidades indígenas, la IDR se le aplicó a 144 personas, que representan alrededor del 14% de los habitantes, encontrándose que el 6.25% de los pobladores son positivos a la prueba de esporotricina, un porcentaje alto si consideramos que la morbilidad encontrada en California E.U., es de $1.2 / 10^6$ habitantes,³⁰ además de que en Oaxaca no se han reportada endemias, como en el centro y oriente del país que presentan una gran cantidad de casos de esporotricosis, como en Jalisco y la sierra de Puebla.²⁸

A diferencia de las zonas endémicas donde prácticamente el 100% de la población es reactor positivo a la esporotricina, en esta comunidad el porcentaje fue mucho menor, pero no por ello menos importante, la inmunidad celular frente a la esporotricina encontrada en el 6.25% de la población es debida a la presencia de *S. schenckii*, que fue aislado de dos muestras de tierra provenientes de zonas cercanas a la población, además de las costumbres y forma de vida de estas comunidades, la cual gira en torno al bosque, desarrollando labores en el campo, cazando animales y recorriendo brechas abriéndose paso "a punta de machete", en una zona donde predominan diferentes variedades de pinos y especies introducidas como eucaliptos, estas condiciones hacen posible el contacto con *S. schenckii*, que en diferentes estudios se ha reportado su aislamiento de pinos, eucaliptos, zacate, madera, hojas y ramas, tanto secas como frescas, en insectos y roedores como ardillas y ratas, armadillos, gatos, perros, caballos, iguanas y pescados, e inclusive de instrumentos de labranza, alambres de púas y tepalcates.⁶⁵

Existen otros factores predisponentes como la mala alimentación de la población, que ocasiona desnutrición, y el alcoholismo crónico, práctica frecuente en los hombres de la comunidad, lo cual, junto con el importante porcentaje de reactores positivos encontrados y las condiciones ecológicas de la región, sugiere que el desarrollo de esta micosis es muy probable en la zona, encontrándose posiblemente mal diagnosticado y en algunos casos, restándole importancia al no asistir con el personal de salud, si es que lo hay en la región.^{16,21}

Se encontró un porcentaje de reactores positivos mayor en mujeres que en hombres, de 8.5% y 3.2% respectivamente (gráfica 4.2), siendo esta estadística diferente a la encontrada en individuos que ya presentan la enfermedad, al reportarse una relación de 1:1, pero los resultados son semejantes a los reportados en India y Japón que mencionan a la mujer como predispuesta a la infección.

La mujer es la que se encuentra más expuesta a lesiones cutáneas, debido posiblemente a que el hombre al realizar labores en el campo, se protege más al utilizar botas y camisolas de lona, y en su labor en el hogar, emplea objetos hechos con vegetales secos (estropajos, escobas, escobetas, bolsas de fibras vegetales) además del contacto con flores y plantas de ornato, lo cual es menos frecuente en los hombres.

Al igual que la mayoría de los reportes de casos clínicos, encontramos un amplio rango de edad de reactivos positivos, al tener a un niño de 2 años y un anciano de 65, presentando la gráfica 4.3 dos picos en los grupos etarios, el primero en los menores de 15 años, en los que se encontró que el 8.5% son reactivos positivos y el segundo en las personas de la tercera edad, mayores de 60 años, que el 25% presentó inmunidad celular frente a la esporotricina, reafirmando que ambos grupos, niños y ancianos, son los más vulnerables en cuestiones de salud y nutrición: sin embargo la esporotricosis se presenta a cualquier edad, pero es más frecuente en niños mayores que ya se desplazan por sí mismos y se ponen en contacto con la naturaleza.

La totalidad de la población se dedica desde muy temprana edad a las labores del campo, estando expuestos de manera permanente a lesiones en la piel, sin embargo al considerar su principal ocupación, se encontró en la gráfica 4.4, que el 10.7% de las amas de casa y el 11.1% de los menores de 5 años tuvieron una respuesta positiva a la esporotricina, y los estudiantes y campesinos sólo un 4.9% y 0% respectivamente, siendo las amas de casa y los menores los que tienen un mayor contacto con *S. schenckii*, al considerar los datos de la Secretaría de Salud de Oaxaca corroboramos que los menores están predispuestos a la infección, al encontrar que en el estado el 80% de los niños menores de 5 años sufren distintos grados de desnutrición, lo cual está acentuado aun más en las zonas rurales, específicamente en la zona de la sierra sur, reafirmando con ello la vulnerabilidad a distintas infecciones de los niños que no se encuentran en edad escolar, además de considerar que desde que nacen se encuentran en íntimo contacto con el bosque, siendo la esporotricosis no sólo una enfermedad del trabajo, sino también del juego y la diversión.²⁸

La esporotricosis es considerada una enfermedad de tipo ocupacional, preferentemente en campesinos y jardineros, sin embargo, se encontró a las amas de casa como el grupo más vulnerable, similar a lo reportado en estudios mexicanos de casos clínicos, aunque sería necesario investigar los distintos roles que desempeñan las mujeres en estas comunidades, ya que tanto hombres como mujeres desempeñan actividades agrícolas en las áreas rurales, por ejemplo, las mujeres que traen leña, lo que frecuentemente sería motivo de infección por *S. schenckii*,

Al considerar la escolaridad que tienen los individuos, observamos en la gráfica 4.5 un porcentaje alto de reactores positivos en aquellas personas que no han asistido a la escuela, ya sea en adultos que no recibieron ningún tipo de instrucción o en menores que aún no están en edad escolar, cada uno con un 11.1% de inmunidad celular frente a esporotricina, por lo que se infiere que las costumbres adquiridas en la escuela pueden representar un beneficio para evitar las lesiones que inoculen al microorganismo.

Se utilizaron dos tipos de esporotricina metabólica, la micelial (M) y levaduriforme (L), encontrando un porcentaje del 6.7% para la levaduriforme y 5.8% para la micelial (Gráfica 4.6), similar a lo reportado por Lavalle y posteriormente por Arenas-López, al mencionar que el antígeno levaduriforme tiene una mayor sensibilidad, posiblemente asociado a un mayor contenido proteico, además de que la levaduriforme presenta monoramnanas como carbohidrato, el cual forma parte de la pared celular de levaduras, conidias e hifas, en cambio la esporotricina micelial presenta dirramnanas, que sólo se presenta en las paredes de las hifas y no en levaduras y conidias. Sin embargo, algunos autores refieren que la esporotricina L presenta un mayor porcentaje de reacciones cruzadas que la micelial, principalmente con *Ceratocystis (Ophiostoma) stenoceras*.^{19,64}

En una investigación realizada por los alumnos del Bachillerato Asunción Ixtaltepec extensión Quiérolani (BAIEQ) la población de la comunidad identificó algunos síntomas/enfermedades, entre los principales tenemos:

- Dolores corporales
- Fiebre
- Gripe
- Trastornos cardiacos
- Paludismo
- Diarrea
- Vómito
- Problemas dentales
- Padecimientos de la piel
- Alcoholismo crónico

Al observar la gráfica 4.7, podemos corroborar lo relativo a los padecimientos de la piel, al encontrar que el 32% de los habitantes menciona algún padecimiento dérmico, casi la tercera parte de las personas de la comunidad, en este tercio se demostró que el 8.7% es positivo a la IDR y sólo el 5.1% de la población que no reporta enfermedades en la piel, presentó inmunidad celular frente a la esporotricina, siendo que la misma gente reporta como importante las enfermedades de la piel, se hace necesario un estudio más detallado para investigar si se presenta algún otro tipo de micosis.

La población se encuentra a una altura de 2200 metros s.n.m., tiene un clima que varía del frío (5-10°C durante los meses de diciembre a enero) al templado (15-20°C en los meses de marzo a mayo); la temporada de lluvias comienza entre el 10 y el 15 de Mayo prolongándose hasta principios de septiembre, siendo más intensa y frecuente durante los meses de julio y agosto; estas condiciones climáticas van de acuerdo a los reportes en los que se sugiere que *S. schenckii* se encuentra a temperaturas entre los 15°C y hasta 30°C, con un alto porcentaje de humedad, aunado a las investigaciones que reportan al hongo aislado de diferentes especies de pinos y eucaliptos, presentes también en la región.

Se escogieron dos zonas para el muestreo, por ser representativas de las condiciones naturales de la región y paso continuo de la población, la primera, la zona de manantiales donde fue posible el aislamiento de diferentes géneros de hongos tales como:

- *Penicillium sp*
- *Verticillium sp*
- *Beauveria sp*
- *Sporothrix sp*
- *Acremonium sp*

En la segunda zona, la de pinos, se encontró una mayor variedad de géneros:

- *Penicillium sp*
- *Verticillium sp*
- *Beauveria sp*
- *Sporothrix sp*
- *Fusarium sp*
- *Paecilomyces sp*
- *Alternaria sp*

En el estudio se aislaron 8 géneros distintos de hongos, incluyendo a *Sporothrix sp*, a pesar que en la zona de manantiales se encuentra más materia en descomposición por la alta humedad, fue en la zona de pinos donde se aislaron un mayor número de géneros de hongos, así como más cepas de *Sporothrix sp*, siendo importante señalar que a grandes diluciones, como 10^{-7} y 10^{-8} todavía se lograron aislamientos, por el contrario a diluciones pequeñas en Sabouraud como 10^{-1} y 10^{-2} fue imposible identificar los hongos, debido a la sobresaturación de las placas.

En este primoaislamiento se identificaron 5 cepas como *Sporothrix sp.*, dos de la zona de manantiales en placas de Micosel a una dilución de 10^{-7} y tres en la zona de pinos, de las cuales dos se aislaron de Micosel en una dilución de 10^{-3} y otra más en Sabouraud a 10^{-8} ; las características coloniales encontradas, color crema, glabras, cerebriformes y apigmentadas son semejantes a las reportadas por Bonifaz y Rippon en sus textos, así como las características simpodulosporas y radulosporas visualizadas con azul de lactofenol, sugirieron la presencia de *S. schenckii*.

Al realizar la identificación presuntiva de *S. schenckii*, podemos confirmar que tiene predilección por las zonas de pinos y eucaliptos,⁶³ además de las condiciones climatológicas como lluvias, alta humedad y bajas temperaturas que contribuyen a la presencia del hongo.⁷³

Es importante señalar que las tomas de muestras para el aislamiento se hicieron en épocas diferentes, la obtenida de la zona de pinos se realizó en el mes de marzo, en el periodo de "secas" y la muestra de la zona de manantiales durante junio, en la época de "aguas", encontrando en ambos casos cepas de *Sporothrix sp.*, por lo que es posible encontrar al agente etiológico durante todo el año, no teniendo preferencia por alguna temporada en lo particular, estando supeditado a las condiciones socioeconómicas, culturales y de salud de la población para desarrollar la enfermedad.

Una vez que por la morfología macro y microscópica se aislaron cepas salvajes que sugerían a *S. schenckii*, se procedió sembrarlos en los principales medios de aislamiento, Micosel y Sabouraud, donde presentaron las características colonias reportadas por distintos investigadores, colonias glabras y cerebriformes, color crema que se tornan oscuras con el tiempo, esto fue en las cepas CS-001, CS-002 y CC-89998, pero en la CS-003, el color de las colonias fue café oscuro, contrastando con los colores más claros encontrados en las otras.

En CM, las colonias CS-001, CS-002 y CC-89998 presentaron un aspecto bacteriano y membranoso, con una coloración café, no así la cepa CS-003 que presentó un aspecto seco de color crema que posteriormente aclaró.

Al utilizar medios que ponen de manifiesto la fenoloxidasa al formar compuestos análogos a la melanina, que en algunos hongos se han reportado como factores de virulencia, se encontró que las cepas CS-001, CS-002 y CC-89998, se pigmentaron de diferente color dependiendo del medio utilizado, negras en alpiste, verde en PDA, y un negro muy intenso en amaranto, la cepa CS-003 en este caso también presentó diferencias debido a que no se pigmentó en ninguno de los medios anteriores, e inclusive el contraste se hizo más evidente en agar amaranto, al dar una colonia gris que se tornó blanca con el tiempo.

Aún no se tienen reportes sobre las características bioquímicas del medio amaranto agar desarrollado en el Departamento de microbiología y parasitología de la Facultad de Medicina, pero por lo observado en el presente estudio, se infiere que pone de manifiesto la fenoloxidasa, al desarrollar pigmentación de manera semejante a medios como alpiste negro y PDA, en los cuales si existen investigaciones sobre sus propiedades.

La cepa CS-003 presentó características coloniales diferentes a las otras (CS-001, CS-002 y CC-89998), variando en su aspecto, pigmentación, textura y desarrollo, no así las otras cepas que entre ellas no denotaban diferencias coloniales ni microscópicas notables.

Al incubar las cepas en agar BHI a 37°C para comprobar el dimorfismo, las cepas CS-001, CS-002 y CC-89998 presentaron un aspecto colonial cremoso y limitado además de tener microscópicamente las formas gemantes características de *S. schenckii*, a diferencia de la cepa CS-003 que a partir de la primer siembra su desarrollo fue muy restringido y en el tercer pase no desarrolló; siendo la cepa CC-89998 en la que primero se pusieron de manifiesto las formas levaduriformes y días después lo hicieron las cepas CS-001 y CS-002.

El dimorfismo encontrado es un factor de virulencia importante y selectivo para aquellas cepas patógenas, ya que la rapidez con que un hongo puede transformarse de la forma micelial a la levaduriforme *in vivo* es determinante, debido a que las hifas son eliminadas más eficazmente por el hospedero.

Al iniciar el estudio con modelos animales, se corroboró la viabilidad de los inóculos preparados de las cuatro cepas utilizadas CS-001, CS-002, CS-003 y CC-89998, al sembrarse en Micosel y Sabouraud, observando crecimiento a las 24 horas después de la siembra.

Los ratones inoculados IT con las tres cepas salvajes CS-001, CS-002, CS-003 desarrollaron lesiones, semejando chancros y pequeñas escoriaciones, indicando que el microorganismo aislado es patógeno, inclusive presentaron heridas más rápidamente que la cepa CC-89998 proveniente de un aislado clínico, es de hacer notar que las lesiones que se observaron, crecieron durante 20 días y posteriormente empezaron a involucionar, como en el caso de la cepa CS-001 donde las lesiones desaparecieron por completo a las 6 semanas, logrando reaislar al microorganismo de testículos, misma situación con la cepa CS-002, siendo el ratón que más daños presentó, obteniendo a *S. schenckii* de una biopsia. El control negativo no presentó ningún tipo de lesión durante todo el tiempo del experimento, sin embargo al realizar la biopsia, se encontró que a partir de la siembra de testículos creció el microorganismo, posiblemente adquiriendo la infección de manera "natural" al estar en contacto con los demás ratones y provocarse algún traumatismo cutáneo.

La cepa CS-003, no dimorfizada, produjo orquitis desde los primeros días sin desarrollar grandes lesiones, siendo visibles sólo pequeñas escoriaciones a los 45 días, sin embargo no se logró reaislar al microorganismo causante, desechando la opción de haberse inoculado por contacto, debido a que desde el principio se observó orquitis.

En los ratones inoculados IP, utilizando las cepas CS-001, CS-002 y CC-89998, se presentaron lesiones cuya característica principal fue la fusión de tejidos, piel con músculo CS-001, tejido subcutáneo con peritoneo CS-002 y en la CC-89998 lesiones que atraviesan la piel, la cepa CS-002 presentó mayor virulencia que las demás, ya que desde los primeros días presentó lesiones importantes. En la cepa CS-003 se observan pequeñas lesiones en la parte posterior de la cola del ratón sacrificado, las lesiones del control fueron a nivel epidérmico; encontrando que las lesiones que revelan patogenicidad, atraviesan la piel o fusionan tejidos.

Después de 45 días ninguno de los ratones inoculados IP o IT murió, sin embargo las cepas CS-001, CS-002 y la CC-89998 y en menor medida la CS-003, presentaron lesiones, semejando chancros y pequeñas escoriaciones, las cuales involucionaron y llegaron a parecer imperceptibles, de manera semejante a las descritas por Peng-Cheng al realizar inoculaciones SC de aislados clínicos, reportando que el tamaño de las lesiones aumentan durante la primer semana, comenzando a disminuir en tamaño a los 21 días y desapareciendo al final de la sexta semana, de manera muy similar a lo observado en nuestro estudio.⁷⁴

Howard realizó una investigación sobre la virulencia de cepas saprófitas en animales inoculados IP y mencionó que ninguna cepa salvaje logró matar a los animales experimentales durante 6 semanas de observación y que se logró reaislar al microorganismo sólo a las dos semanas posteriores a la inoculación y no a las cuatro ni a las seis, eso explica por que en nuestros animales, que fueron sacrificados a las seis semanas, aunque se presentó la enfermedad, no fue posible reaislar al microorganismo en el 100% de los casos, así mismo reporta que aquellas cepas que no crecieron a 37°C, sólo en el 11% de los casos fue posible obtener el hongo inoculado, similar a lo encontrado con la cepa CS-003 que no creció a 37°C, siendo imposible reaislar al microorganismo que originó orquitis y escoriaciones.⁴⁹

Independientemente de la vía de administración utilizada, no se observaron lesiones que drenaran algún tipo de material purulento ni úlceras, siendo similar a lo descrito por Peng-Cheng.

Parece ser que sólo la inoculación IV es letal, no así la IP ni la IT y otras vías utilizadas como la ID y SC, que provocan lesiones que involucionan con el tiempo de manera espontánea al utilizar cepas virulentas de *S. schenckii*, en el caso de cepas no patógenas, no se desarrollan lesiones de ningún tipo, independientemente de la vía de administración utilizada.

Los ratones inoculados IT, presentaron lesiones en menor tiempo que los administrados IP, desarrollando esto últimos menos lesiones, en mayor cantidad de tiempo aunque de más gravedad al fusionar o invadir tejidos, la diferencia entre las inoculaciones radica en la velocidad del proceso de infección, las inoculaciones más superficiales (IT) desarrollaron lesiones más rápidamente que las IP, estas necesitan tiempo extra para desarrollar lesiones clínicamente detectables, además, las heridas de las IT involucionaron más rápidamente que las IP, tendiendo todos los animales a la resolución espontánea de la enfermedad, corroborando que la profundidad a la que se realiza la inoculación, condiciona la respuesta del hospedero y por tanto al curso y desarrollo de la infección en modelos animales.⁷⁵

Sólo las cepas que producen colonias oscuras, conidias triangulares y pigmentadas en PDA, además de crecer a 37°C, producen una infección fatal en ratones inoculados IV,³⁵ presentando orquitis en administraciones IT y lesiones en cola y patas después de una inoculación IP⁷⁶, considerándolas patógenas, como las cepas CS-001, CS-002 y la CC-89998 utilizadas en la presente investigación.

Se ha demostrado que las conidias pigmentadas de *S. Schenckii* son más resistentes a los rayos X, UV, radiación gama y al frío y calor que las conidias hialinas, manteniéndose viables durante muchos años⁴¹; los componentes melanoideos que se encuentra en la pared celular evaden el ataque de células inmunocompetentes, jugando un papel muy importante en la virulencia y patogenicidad de algunos hongos, evitando que anticuerpos antimelanoideos y enzimas hidrolíticas como quitinasa, β -1,3 y β 1,6 glucanasa, sean capaces de hidrolizar la pared celular, debido a que los hongos con compuestos melanoideos son más resistentes a la lisis.^{77,78}

Conidias pigmentadas con forma oval, además de la conversión y crecimiento a 37°C, son factores de patogenicidad y virulencia demostrados por Dixon, Mackinnon también encontró una correlación entre la pigmentación en CM y la virulencia en ratones⁷⁶, aumentando la virulencia en medida de que se incrementa la pigmentación de conidias *in vitro*⁷⁹.

Las cepas CS-001, CS-002 y CC-89998 son semejantes a las reportadas por Dixon como del grupo I y sus cepas clínicas, en nuestro estudio encontramos pigmentación en medios como CM y PDA, forma oval y pigmentación de las conidias, crecimiento y dimorfismo a 37°C así como infección en ratones inoculados por vía IT e IP, confirmando que los aislados con estas características son cepas patógenas y con una alta virulencia.

Se comprobó la patogenicidad de las cepas utilizadas, aunque presentaron diferentes grado de virulencia que no se pueden estudiar con los métodos clásicos de morfología colonial y microscópica, haciendo indispensable el uso de modelos animales por inoculación IV o la utilización de biología molecular, usando técnicas como PCR o enzimas de restricción.

Investigación de esporotricosis
en una comunidad del sierra Sur de Oaxaca

Capítulo VI

Conclusiones

La comunidad de Santa María Quiégolani presenta un clima que varía del frío al templado, con un alto porcentaje de humedad, enclavada en un bosque donde predominan distintas especies de pinos y algunos eucaliptos, además de una fauna muy diversa como roedores, felinos y gran cantidad de insectos, siendo estas condiciones propicias para encontrar al agente causal de la esporotricosis: *S. schenckii*, el cual se aisló de dos diferentes zonas cercanas al pueblo en épocas distintas, la de "secas" y la de "aguas".

La totalidad de la población, desde niños hasta ancianos, se dedica a labores del campo, estando en un constante contacto con materia orgánica proveniente del bosque, además de presentar problemas crónicos como alcoholismo, desnutrición y deficientes servicios de salud, es importante señalar que la tercera parte de la comunidad (32%) menciona algún tipo de padecimiento dérmico, estos factores contribuyen a la presencia de esporotricosis, corroborando lo anterior al encontrar un 6.25% de reactores positivos a la esporotricina en una región que no es reconocida como endémica, siendo las mujeres, los menores de 5 años, los ancianos y los analfabetos, grupos vulnerables predispuestos al contacto e infección por *S. schenckii*, al presentar un porcentaje importante de inmunidad celular frente a esporotricina, además de encontrar que la esporotricina levaduriforme (6.7%) es más sensible que la micelial (5.8%).

Se identificó a las cepas salvajes aisladas de dos zonas cercanas a la comunidad (CS-001 y CS-002) como *S. schenckii*, además, presentaron patogenicidad semejante a la cepa CC-89998 proveniente de un aislado clínico, en cuanto a la cepa salvaje CS-003 no se logró su completa identificación, presentando características coloniales y microscópicas diferentes que las restantes cepas del estudio, aunque ésta también presentó patogenicidad en los modelos animales, por lo que presuntamente puede ser *Ophiostoma (Ceratocystis) stenoceras*, que se dice es la forma perfecta de *S. schenckii*.

Entre los diversos factores de virulencia encontrados en las cepas CS-001, CS-002 y CC-89998 tenemos:

- **Dimorfismo:** Se desarrollaron levaduras en agar BHI a 37°C, siendo este un factor importante, ya que el micelio es más fácilmente eliminado por el huésped.
- **Compuestos melanoides:** Colonias oscuras y conidias pigmentadas en medios como PDA, alpiste negro y amaranto, ponen de manifiesto la fenoloxidasa produciendo compuestos análogos a la melanina, originando conidias más resistentes a los rayos X, UV, radiación gama y al frío y calor, además que la presencia de compuestos melanoides evita la hidrólisis de la pared celular de las levaduras.
- **Modelos animales:** Las cepas causaron enfermedad en los ratones del estudio, desarrollando lesiones superficiales en la inoculación IT y fusionando tejidos en la IP, tardando más tiempo en desarrollar estas últimas, en ambas vías de inoculación se presentó cura espontánea, logrando reaislar al agente infeccioso en la mitad de los animales del estudio.

La zona donde se realizó el estudio, presenta los tres grupos de factores, ecológicos, del hospedero y del agente etiológico, que predisponen a una población para presentar la micosis, al aislar al agente etiológico y comprobar su patogenicidad, así como encontrar un porcentaje importante de reactores positivos a la esporotricina, por lo que se afirma que en la región de la sierra sur de Oaxaca se encuentra la esporotricosis, pasando desapercibida por las instituciones del salud del estado.

Investigación de esporotricosis
en una comunidad de la sierra sur de Oaxaca

Apéndice

1. MATERIAL

- Pipetas graduadas de 10 ml.
- Pipetas graduadas de 1 ml.
- Probeta de 100 ml.
- Matraz erlenmeyer 250 ml.
- Matraz erlenmeyer de 500 ml.
- Tubos de 13 X 100 ml.
- Embudo de vidrio.
- Gradilla metálica.
- Soporte universal.
- Cajas Petri desechables.
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Cámara de Neubauer.
- Pipeta para glóbulos rojos.
- Mechero de Bunsen.
- Jeringas insulínicas.
- Cinta Adhesiva.
- Tijeras.
- Marcador indeleble.
- Muescador
- Equipo de disección.
- Cajas de acrílico.

2. REACTIVOS

- Azul de lactofenol.
- Colorante de Giemsa.
- Cristal violeta.
- Safranina.
- Lugol.
- Étanol.
- Agua estéril.
- Solución salina isotónica (SSI).
- Agua destilada.
- Formaldehído al 10%.

3. EQUIPO

- Balanza granataria.
- Agitador Vortex.
- Autoclave.
- Incubadora 28°C y 37°C.
- Microscopio óptico.
- Centrifuga.

4. MEDIOS DE CULTIVO

- Agar Sabouraud
- Agar Micosel
- Agar papa dextrosa (PDA)
- Agar harina de maíz (CM)
- Agar alpiste negro
- Agar amaranto
- Agar infusión cerebro corazón (A-BHI)
- Infusión cerebro corazón (BHI)

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

5. BIOLÓGICOS

- Ratones machos de 20 - 25 g
- Cepa CC-89998, proveniente de un aislado clínico de esporotricosis hematogena
- Esporotricina micelial (M).
- Esporotricina levaduriforme (L).

Investigación de esporotricosis
en una comunidad de la sierra sur de Oaxaca

Bibliografía

1. Schenck BR, On refractory subcutaneous abscesses caused by a fungus possibly related to the sporotricha, Bull. Johns Hopkins Hosp 1898; 9: 286-290.
2. Kosinski RM, Axelrod P, Rex JH et al, *Sporothrix schenckii* Fungemia without disseminated sporotrichosis, J Clinical Microbiology 1992; 30: 501-503.
3. Gullberg RM, Quintanilla A, et al, Sporotrichosis: recurrent cutaneous, articular and central nervous system in a renal patient, Rev Infect Dis 1987; 9: 369-372.
4. Linch P J, Vorhees JJ and Harrell ER, Systemic sporotrichosis, Ann Intern Med 1970; 73: 23-30.
5. Satterwhite TK, Kageler MV, et al, Disseminated sporotrichosis JAMA, 1978; 240: 771-773.
6. Hektoen L and CF Perkins, Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix schenckii*, J Exp Med 1900; 5: 77-79.
7. Lutz A and Splendore A, Über eine bei Menschen und Ratten beobachtete mykosen . Ein Beitrag zur Kenntnis der sogenannten Sporotrichosen, Zentralbt Bakteriell 1907; 45: 631-646.
8. Espinosa A, Lira E, Cazales E, et al, Esporotricosis en México, Conferencias del 2º Diplomado en Micología Médica 1998.
9. Simson FW, Sporotrichosis infection in mines of the Wiwatersrand, A symposium. Proc Transv Mine Med Officers Assoc 1947.
10. González Ochoa A y Soto Figueroa E. Polisacáridos de *Sporotrichum schenckii*, Intradermorreacción en el diagnóstico de la esporotricosis, Rev Inst Salubr Enferm Trop Mex 1947; 8: 143-153.
11. Lavalle P y Mariat F, Sporotrichosis, Bull Inst Pasteur 1983; 81: 295-322.
12. Mayorga Rodríguez JA, Barba Rubio J, Muñoz Estrada VF, et al, Esporotricosis en el Estado de Jalisco, estudio clínico-epidemiológico (1960-1996), Conferencias del 2º Diplomado en Micología Médica 1998.
13. Beirana Palencia A, Esporotricosis en el Centro Dermatológico Pascua (1980-1988), Tesis de Posgrado en Dermatología, Leprología y Micología, Centro Dermatológico Pascua, UNAM, 1989.
14. Rippon JW, Esporotricosis en: Tratado de Micología Médica, 3º edición, Interamericana Mc Graw Hill, México, 1990, 351-380.

15. Zaldivar, Breves consideraciones Clínico patológicas de la esporotricosis en el embarazo. Mem. 4º Congreso Mexicano de Dermatología, 1967; 4: 73-78.
16. Jaffar A, Al-Tawfiq and Wools KK, Disseminated sporotrichosis and *Sporothrix schenckii* fungemia as the initial presentation of human immunodeficiency Virus Infection, Clin Infect Dis 1998; 26: 1403-1406.
17. Matter SE, Bailey DM, Sexton DJ, Immune deficiency presenting as disseminated sporotrichosis. J Okla State Med Assoc 1984; 77: 114-117.
18. Manhart JW, Wilson JA, Korbitz BC, Articular and cutaneous sporotrichosis. JAMA 1970; 214: 365-367
19. Bonifaz A, Esporotricosis en: Micología Médica Básica, Ed. Méndez, México, 1990, 167-184.
20. Honbo S, Yamano T, Masaki J, et al, Analytical studies on peculiar cases of sporotrichosis, the lesions of which contained numerous fungal elements, ISHAM 1985, R11-12.
21. Sharkey-Mathis PK, Kauffman CA, Graybill JR, et al. Treatment of sporotrichosis with itraconazole, Am J Med 1993; 95: 279-285
22. Bibler MR, Luber JH, Glueck HI, et al, Disseminated sporotrichosis in a patient with VIH infection after treatment for acquired factor VIII inhibitor, JAMA 1986; 256: 3125-3126.
23. Kurosawa A, Pollock SC et al, *Sporothrix schenckii* endophthalmitis in a patient with human immunodeficiency virus infection. Arch Ophtalmol 1988; 106: 376-380.
24. Vieira Dias D, Sena CM, Orecife F et al, Ocular and concomitant cutaneous sporotrichosis, Mycoses 1997; 40: 197-201.
25. Bennet JE, Cap. *Sporothrix schenckii* in: Principles and practice of infectious disease , 3rd ed, Churchill livingstone Co, New york, 1990: 1972-1975.
26. Lynch PJ, Vorhees JJ and Harrell ER, Sistemic sporotrichosis, Ann Intern Med 1970; 73: 23-30.
27. Gullberg RM, Quintanilla A, Levin ML, et al, Sporotrichosis: recurrent cutaneous, articular and central nervous system infection in a renal patient, Rev Infect Dis 1987; 9: 369.
28. Lavalle P, Eporotricosis, Conferencias del 2º Diplomado en Micología Médica 1998.

29. Bruce Coles F, Schuchat A, Dixon DM et al, A multistate outbreak of sporotrichosis associated with sphagnum moss, *Am J Epidemiol* 1992; 136: 475-487.
30. Hajjeh R, Mc Donnell S, Reef S, et al, Outbreak of sporotrichosis among tree Nursery Workers, *J Infect Dis* 1997; 176: 499-504.
31. Magalhaes-Pereira and cols, Estudos sobre a iminopatologia da esporotricose, *Ann Bras Derm*, 1963; 39: 1.
32. Yoshiike T, Lei PCh, Komatsuzaki H, et al, Antibody raised against extracellular proteinases of *Sporothrix schenckii* in *S. schenckii* inoculated hairless mice, *Mycopathologia* 1993; 123: 69-73.
33. Loyd KO and Bitoon MA, Isolation and purification of peptidorhamnomannans from the yeast form of *Sporothrix schenckii*. Structural and immunochemical studies. *J Immunol* 1971; 107: 663-671.
34. Grasa MP et al, Esporotricosis cutánea. Estudios clínicos, microbiológicos y ultraestructurales de 6 casos, *Actas Dermo-Sif* 1980; 71: 201-208.
35. Dixon DM, Duncan RA, Hurd NJ, Use of a mouse model to evaluate clinical and environmental isolates of *Sporothrix spp* from de largest U.S. epidemic of sporotrichosis, *J Clin Microbiol* 1992; 30: 951-954.
36. Cooper CR, Breslin BJ, Dixon DM, et al, DNA Typing of isolates associated with 1988 Sporotrichosis Epidemic, *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1631-1635.
37. Arenas R, *Esporotricosis en: Micología Médica Ilustrada*, Interamericana-Mc Graw Hill, México, 1993, 145-152.
38. Mackinnon JE, Conti Díaz, et al, Isolation of *Sporothrix schenckii* from nature. *Sabouraudia* 1969; 7: 38-45.
39. González-Ochoa, Contribuciones recientes al estudio de la esporotricosis, *Gac Med Mex* 1965; 95: 463-474.
40. Vismer HF and Hull PR, Prevalence, epidemiology and geographical distribution of *Sporothrix schenckii* infections in Gauteng, South Africa, *Mycopathologia* 1997; 137-143.
41. Vismer HF, Mammalian *Sporothrix* infection in Southern Africa Researches on their development, dynamics and control. PhD thesis, Pretoria, South Africa: University of Pretoria, 1992; 253.

42. Cuadros RG, Vidotto V, Bruatto M, Sporotrichosis in the metropolitan area of Cusco, Peru, and in its region, *Mycoses* 1991; 33: 231-240.
43. Ventin M, Ramírez C, Ribera M, et al, A significant geographical area for the study of the epidemiological and ecological aspect of mediterranean sporotrichosis. *Mycopathologia* 1987; 99: 41-43.
44. Kini S, Pal D, Kowshik T, et al, Sporotrichosis in India: first authentic case report from the north western region and critical literature review, *J Med Vet Mycol* 1986; 24: 289-295.
45. Muir DB, Pritchard RC, *Sporothrix schenckii* incidence in the Sidney region, *Austr J Dermatol* 1984; 25: 27-28.
46. Fukushiro R, Epidemiology and ecology of sporotrichosis in Japan, *Zbl Bakt Hyg* 1984; 257: 228-233.
47. Beurmann L and Gougerot H, *Les sporotrichoses*. Paris, Felix Alcan, 1912.
48. Mariat F, The epidemiology of sporotrichosis in *Sistemic Mycoses*, A. Churchill, London, 1988, 144-159.
49. Howard DH and Orr GF, Comparison of strains of *Sporotrichum schenckii* isolated from nature, *J Bacteriol* 1963; 85: 816-821.
50. Stretton RJ and Dart RK, Long Chain fatty acids of *Sporothrix schenckii*, *J Clin Microbiol* 1976; 3: 635-636.
51. Kauffman CA, Old and New Therapies for Sporotrichosis, *Clin Infect Dis* 1995; 21: 981-985.
52. Cabezas C, Bustamante B, Holgado W, et al, Treatment of cutaneous sporotrichosis with one daily dose of potassium iodide, *J Pediat Infect Dis* 1996; 15: 352-354.
53. Seidenfeld SM, Cooper BH, Smith JW, et al, Effect of temperature on the susceptibility of *Sporothrix schenckii* to amphotericin B, *J Infect Dis* 1982; 146: 711.
54. Hiruma M, Kagawa S, The effects of heat on *Sporothrix schenckii* *in vitro* and *in vivo*, *Mycopathologia* 1983; 84: 21-30.
55. Hiruma M, Katoh T, Yamamoto I, et al, Local Hyperthermia in the treatment of sporotrichosis, *Mykosen* 1987; 30: 315-321.

56. Calhoun DL, Waskin H, White MP, et al, Treatment of systemic sporotrichosis with ketoconazole, *Rev Infect Dis* 1991; 13: 47-51.
57. Diaz M, Negroni R, Montero-Gei F, et al, A pan-American 5 year study of fluconazole therapy for deep mycoses in the immunocompetent host, *Clin Infect Dis* 1992; 14: 568-576.
58. Kauffman CA, Pappas PG, Mackinsey DS, et al, Treatment of Lymphocutaneous and Visceral Sporotrichosis with fluconazol, *Clin Infec Dis* 1996; 22: 46-50
59. Restrepo A, Robledo J, Gómez I, et al, Itraconazole therapy in lymphangitic and cutaneous sporotrichosis, *Arch Dermatol* 1986; 122: 413-417.
60. Conti Díaz IA, Civila E, Gezuele E, et al. Treatment of human cutaneous sporotrichosis with itraconazole, *Mycoses* 1992; 35: 153-156.
61. Sharkey-Mathis PK, Kauffman CA, Graybill JR, et al, Treatment of sporotrichosis with itraconazole, *Am J Med* 1993; 95: 279-285.
62. Kenyon M, Russell LH, McMurray DN, Isolation of *Sporothrix schenckii* from potting soil, *Mycopathologia* 1984; 87: 128.
63. Vismer HF and Eicker A, Growth of human pathogenic isolates of *Sporothrix schenckii* on indigenous and exotic wood species in South Africa, *Mycol Res* 1994; 98: 121-124.
64. Arenas López, Obtención y valoración comparativa de esporotricina de la fase micelial y levaduriforme, Tesis, Fac Química, UNAM, México, 1986.
65. Lavalley P, Esporotricosis en: Desarrollo y estado actual de la Micología en México. Simposio Syntex, México, 1980: 1-18.
66. Mariat F, Taxonomic problems related to the fungal complex *Sporothrix schenckii*/*Ceratocystis* spp in *Recent Advances in Medical and Veterinary Mycology*. University of Tokyo Press, Tokyo, 1977: 265-270.
67. Factores de virulencia, Conferencias del 2º Diplomado en micología médica. 1998.
68. Tsuboi R, Sanada T, Takamori K, et al, Isolation and properties of extracelullar proteinase from *Sporothrix schenckii*, *J Bacteriol* 1987; 169: 4104-4109.
69. Loyd KO, and Travassos LR, Immunological studies on L-rhamno-D-mannans of *Sporothrix schenckii* and related fungi by use of rabbit and human antisera, *Carbohyd Res* 1975; 40: 89-97.

70. Loyd KO, Mendoca-Previato L and Travassos LR, Distribution of antigenic polysaccharides in different cell types of *Sporothrix schenckii* as studied by immunofluorescent staining with rabbit antisera, *Exp Mycol* 1978; 2: 130-137.
71. Loyd K, Bitoon MA, Isolation and purification of a peptidorhamnomannan from the yeast form of *Sporothrix schenckii*. Structural and immunochemical studies, *J Immunol* 1971; 107: 663-671.
72. González-Ochoa, Ricoy A, Velasco E, et al, Valoración comparativa de los antígenos polisacárido y celular de *Sporothrix schenckii*, *Rev Inv Salud Pub* 1970; 30: 303-313.
73. Singh P, Sharma RC, Gupta ML, et al, Sporotrichosis in Himachal Pradesh (India), *Indian J Med Sci* 1983; 37: 101-103.
74. Peng Cheng L, Yoshiike T, Yaguchi H, et al, Histopathological studies of *Sporothrix schenckii* inoculated mice, *Mycopathologia* 1993; 122: 89-93.
75. Restrepo-Gutierrez S, Arango-Arteaga M, et al, Course of the experimental murine infection induced by *Sporothrix schenckii* conidia according to depth to inoculation, *J Med Vet Mycol* 1993; 31: 411-420.
76. Mackinnon JE, Conti-Diaz IA, Gezuele E, Civilia E & Da Luz S, Isolation of *Sporothrix schenckii* from nature and considerations on its pathogenicity and ecology, *Sabouraudia* 1969; 7: 38-45.
77. Annemarie Polak, Melanin as a virulence factor in pathogenic fungi, *Mycoses* 1989; 33: 215-224.
78. Polachek I and Rosenberger RF, *Aspergillus nidulans* mutant lacking α -1,3 glucan melanin and cleistothecia, *J Bacteriol* 1977; 132: 650-656.
79. Findlay GH and Vismer HF, Studies in sporotrichosis: fungal morphogenesis and pathogenicity in differing environments, *Mycopathologia* 1986; 96: 115-122.