

Esporotricosis en caninos y felinos: hallazgos clínicos, métodos de diagnóstico y tratamiento

Canine and feline sporotrichosis: clinical findings, diagnostic methods and therapy

Martínez Cepeda GE¹

Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí, Ext. Chone.
Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (AGROCALIDAD)
Correo electrónico del autor: galomartinez88@gmail.com

Resumen: La esporotricosis es una enfermedad infecciosa cosmopolita causada por el complejo *Sporothrix schenckii*, cuyo medio ambiente propicio para su óptimo desarrollo es el suelo de climas cálidos. Afecta a los mamíferos y se considera una enfermedad infecciosa zoonótica de importancia clínica. Su principal característica es su dimorfismo, el cual se manifiesta a los 28 °C con una fase micelial saprofitica y una fase levaduriforme parasítica a los 37 °C. El período de incubación es variable y fluctúa desde los 3 días hasta los 3 meses. Afecta principalmente la piel y linfonódulos, destacándose de entre las zonas afectadas las extremidades y la cara. Los perros y los gatos pueden llegar a contraer la enfermedad, sobre todo si viven en zonas endémicas. En la presente revisión bibliográfica se pone énfasis en los diversos métodos de diagnóstico de laboratorio, tanto directos como indirectos, y en su aplicación al diagnóstico de la esporotricosis en caninos y felinos. Además, se incluye una recopilación de los signos clínicos, una actualización del tratamiento y un algoritmo de diagnóstico de la enfermedad.

Palabras clave: *Sporothrix schenckii*, levadura, micelio, zoonosis, terapéutica

Abstract: Sporotrichosis is a cosmopolitan infectious disease caused by the *Sporothrix schenckii* complex for which the soil of warm areas is the optimum environment for development. It affects mammals and is considered an important clinical zoonotic disease. Dimorphism is its main feature that appears at 28 °C. It also shows a saprophytic mycelium stage and a parasitic yeast stage at 37 °C. Incubation time is variable ranging from 3 days to 3 months. Sporotrichosis affects mainly the skin and lymph nodes. The most affected areas are the limbs and the face. Dogs and cats can become infected mostly in endemic zones. Current revision emphasizes on direct and indirect laboratory diagnostic methods. A compilation of clinical signs, therapy and an algorithm for diagnosing the disease are also presented.

Keywords: *Sporothrix schenckii*, yeast, mycelium, zoonosis, therapy

Introducción

Historia de la enfermedad

La esporotricosis es una infección de curso subagudo o crónico, causada por especies del complejo *Sporothrix schenckii*, las cuales se encuentran vinculadas al suelo, restos vegetales, madera y diferentes detritus orgánicos (Criseo 2010).

La enfermedad es cosmopolita y se desarrolla comúnmente en los climas cálidos de todos los continentes (Lópes-Bezerra 2006).

Los patógenos que conforman el complejo *S.schenckii* afectan la piel y linfonódulos; en raras ocasiones afectan los huesos, articulaciones y otros órganos, como los pulmones. Por lo general afectan las extremidades y la cara.

El primer caso de esporotricosis fue comunicado por Benjamin Schenck en el hospital John Hopkins de Baltimore, Rochester, en 1898. Sin embargo, fue Erwin F. Smith quien denominó "Sporotrichia" al hongo aislado por Schenck.

Hasta principios del siglo XX no aparecieron en la literatura comunicaciones relacionadas a la esporotricosis en los animales. En 1907 se describió el primer caso en una rata y se observó por primera vez el cuerpo asteroide. En 1908 se reportaron casos en perros, en 1909 en caballos y mulas, mientras que en camellos, aves domésticas y en el ganado vacuno, las primeras descripciones datan de la década de 1950. En los últimos 20 años, la mayoría de los casos informados fueron en caballos, perros, gatos y cerdos (Chávez Fuentes 2007; Iachini 2009; Gómez & Guida 2010).

Agente etiológico

Posición taxonómica

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Ophiostomatales

Familia: Ophiostomataceae

Género *Sporothrix*

Especies: *albicans*, *brasiliensis*, *mexicana*, *globosa*, *luriei*, *schenckii sensu stricto* y *chilensis* (Marimon 2006; Rodrigues et al. 2015).

Recientemente se demostró, mediante estudios morfológicos, fisiológicos y filogenéticos que *S. schenckii* no es la única especie responsable de la esporotricosis, sino que se trata de un complejo de, al menos, siete especies: *Sporothrix albicans*, *S. brasiliensis*, *S. mexicana*, *S. globosa*, *S. luriei*, *S.*

schenckii sensu stricto y *S. chilensis* (Marimon 2006; 2007; 2008; Rodrigues et al. 2015).

Las especies del complejo *S. schenckii* son dimórficas, lo que significa que desarrollan una fase micelial saprofítica a 28 °C y una fase levaduriforme parasítica a 37 °C en el hospedero (Howard, 1960).

La fase micelial presenta micelio hialino, con hifas tabicadas, ramificadas, de 1,5 a 2,5 µm, con conidióforos en cuyo ápice se forma una pequeña vesícula con dentículos que surgen de forma simpodial. Cada dentículo produce un conidio, de 2 a 8 µm, que se agrupa junto a otros y toma la forma de "roseta o margarita". Algunos conidios nacen directamente del tallo de la hifa (Howard, 1960; de Oliveira 2001; Gómez 2010; Saúl 2011).

La fase de levadura consiste en células con forma variables que pueden ser alargadas (huso o cigarros) o redondas, ovoides, con gemación única o múltiple, con tamaño promedio de 2 a 6 µm (de Meyer 2008; Marimon 2007).

La infección se produce por la introducción del agente en la piel previamente dañada y en contacto con la tierra, debido a heridas producidas por espinas, ramas de árboles y de arbustos o por garras y dientes de animales con esporotricosis.

Después de su introducción en la piel, el hongo permanece durante 1-12 semanas (según el estado inmunológico del paciente) en el punto de inoculación (esporotricoma o chancro esporotricótico). Puede ocurrir la cura espontánea, dejando una "cicatriz inmunológica", que se confirma mediante las pruebas intradérmicas con esporotriquina, principalmente en el hombre (Marimon 2007).

En el hospedero se puede producir una reacción tisular denominada "Splendore-Hoeppli" o "cuerpo asteroide" que se caracteriza por la presencia de material homogéneo eosinofílico como radiaciones en forma de estrella, producto de reacciones antígeno-anticuerpo. Esta reacción se observa en los cortes histológicos con tinciones de hematoxilina-eosina (H&E) o ácido peryódico de Schiff (PAS) y sólo puede ser de valor diagnóstico cuando se observan las levaduras, ya que otros hongos parásitos y cuerpos extraños pueden producir la reacción (Chávez-Fuentes 2007; Marimon 2007). Sin embargo, en muchos casos, el cuerpo asteroide no está presente en los cortes histológicos, por lo que en el laboratorio se deben buscar específicamente las levaduras del agente para diagnosticar la enfermedad.

Barros et al. (2011) describieron cuatro factores de patogenicidad: el dimorfismo, la presencia de melanina, la capacidad de adherencia a células epiteliales, endoteliales y matriz extracelular y la presencia de peróxido de ergosterol (compuesto protector).

La distribución universal del *S. schenckii* y los escasos registros de la enfermedad, muestran que existe un subregistro de los casos, o bien, dificultades en el diagnóstico por su desconocimiento, principalmente en medicina veterinaria.

El desarrollo de la enfermedad estaría relacionado con factores predisponentes, como por ejemplo la exposición al agente infeccioso, la que debe ser repetida o en grandes concentraciones, la profundidad de la herida y la respuesta inmunitaria del hospedero. Por el contrario, el contacto con escasas cantidades de conidios confiere inmunidad.

La enfermedad es muy rara en zonas áridas o desérticas. Se han identificado zonas endémicas, en las que se registran altas precipitaciones anuales y altos porcentajes de humedad (Carrada 2012).

Aspectos clínicos en perros y gatos

la enfermedad presenta un período de incubación variable que va de pocos días hasta 3 meses (Lópes-Bezerra 2006; Chávez-Fuentes 2007; Bove-Sevilla 2008; Iachini 2009; Gómez y Guida 2010; Barros 2011; López-Romero 2011; Saúl 2011).

Las manifestaciones clínicas están relacionadas con el sitio de inoculación, la carga del inóculo, la respuesta inmunitaria del hospedero y la profundidad del traumatismo (Chávez-Fuentes 2007). La vía de penetración del microorganismo por inoculación traumática es la más frecuente, seguida por la vía inhalatoria (Gómez y Guida 2010). Generalmente involucra piel y vasos linfáticos adyacentes al sitio de inoculación y la diseminación a otros tejidos está directamente relacionada con la condición inmunológica del animal. Generalmente los perros y los gatos son infectados por conidios que ingresan a través de lesiones en la piel a causa de traumas. A partir de la lesión cutánea, la diseminación linfática es común en gatos y menos común en perros (Ettinger 2004).

Formas clínicas

Clasificación

- Cutánea
- Cutaneolinfática
- Diseminada

En perros y gatos, la forma cutaneolinfática es la más frecuente y suele presentarse entre los 7 y 30 días de producido el trauma e inoculación con alguno de los patógenos del complejo. Se observa una pápula indurada de 2-4 cm de diámetro, llamado "chancro de inoculación". Esta lesión puede progresar y formar nódulos con o sin ulceración, a lo largo de la cadena ganglionar relacionada con el sitio de inoculación (Ramos-e-Silva 2007).

En los perros, la diseminación de la enfermedad es muy rara; suele darse en casos de animales sometidos a tratamientos con corticoesteroides. En los gatos, la enfermedad diseminada se observa en el 50 % de los casos aproximadamente, mientras que el porcentaje restante manifiesta la forma localizada. Las lesiones cutáneas en los felinos contienen una gran cantidad de levaduras, constituyendo un gran problema de salud pública (Ettinger 2004). La forma cutaneolinfática, al ser más frecuente en gatos que en perros, convierte a los gatos en la principal fuente de contagio al ser humano.

Manifestaciones clínicas en felinos

La esporotricosis en felinos es mucho más frecuente que en los perros; así lo demuestran estudios realizados en Guadalajara, México, que indican una proporción del orden de 30: 1 (Bove-Sevilla 2008). La mencionada susceptibilidad de los felinos había sido demostrada experimentalmente por Beurmann en 1909 (Barros 2011).

Se demostró que los gatos de hasta 4 años de edad presentan mayor riesgo de contraer la enfermedad y que las hembras son dos veces menos propensas que los machos a padecer esporotricosis (Ettinger 2004).

Los gatos con mayores probabilidades de contraer la enfermedad son aquellos que están en contacto con el exterior, machos mestizos que, por lo general, no han sido castrados. La principal forma de contagio es a través de peleas, seguido del contacto directo con animales enfermos. Eventualmente puede darse una transmisión iatrogénica (Chávez-Fuentes 2007; Bove-Sevilla 2008; Gómez y Guida 2010; Saúl 2011).

Con frecuencia, las lesiones se presentan en la nuca, cuello y distal de las extremidades. Las lesiones en las extremidades se asocian comúnmente con linfadenitis. Pueden observarse exudado purulento, úlceras y costras en la piel suprayacente. En los gatos se describen áreas extensas de necrosis en las orejas y otitis externa (Ettinger 2004).

En un estudio realizado en 347 gatos con esporotricosis entre los años 1998 y 2001, se constataron las siguientes manifestaciones clínicas: forma cutánea con lesión en un solo sitio 32,85 %, en dos sitios 24,78 % y en tres o más 39,48 %. Solamente en un 2,88 % de los casos no se observaron lesiones cutáneas. Del total, el 44,38 % no presentó signología respiratoria al momento del examen clínico (Schubach 2004).

En gatos que padecen infecciones por el virus de la inmunodeficiencia felina (VIF), por el virus de la leucemia felina (ViLeF), por bacterias (ehrlichiosis),

por protozoos (leishmaniasis) o en los sometidos a tratamientos con inmunosupresores (esteroides o ciclosporina), puede ocurrir una diseminación sistémica. En algunos pacientes se ha registrado la persistencia de infecciones subclínicas durante 65 semanas (López-Bezerra 2006; Gómez y Guida 2010).

En un estudio en 132 gatos infectados con VIF y ViLeF se observó un 21,8 % de positividad a la esporotricosis, demostrando que los animales que padecen la coinfección viral por VIF-ViLeF presentan riesgo moderado de contraer la enfermedad (Barros 2011). Hasta el momento no se ha demostrado una correlación directa entre las infecciones VIF, ViLeF y la esporotricosis (Gómez y Guida 2010).

En algunos casos existe compromiso de las mucosas nasal, oral o genital y presentación de signos generales como fiebre, decaimiento y anorexia. Las lesiones cutáneas son ulceradas o costrosas y están relacionadas, por lo general, con los linfonódulos superficiales afectados. Pueden observarse exudado purulento y trayectos fistulosos.

La forma cutánea diseminada es frecuente en los gatos y no tan frecuente en los perros. Varios autores consideran que la esporotricosis felina debería considerarse como una zoonosis (López-Bezerra 2006; Chávez-Fuentes 2007; Bonifaz 2008; Santos Reis 2009; Gómez y Guida 2010; Saúl 2011; Barros 2011; López-Romero 2011).

Con mayor frecuencia las lesiones se observan en la piel de la cabeza, incluyendo las orejas y el plano nasal, en las mucosas oral y conjuntival y en los miembros torácicos. En el 57 % de los casos se produce diseminación con signos clínicos evidentes. Estos son principalmente respiratorios (44 %), con descarga nasal en el 37 %. Cerca de un tercio de los gatos manifiestan signos cuando tienen fungemia (demostrada mediante hemocultivo). Las lesiones iniciales son papulosas o nodulares profundas, alopecicas e indoloras. Luego pueden observarse erosiones, úlceras, costras y fistulas que drenan un exudado serosanguinolento o purulento, rico en agentes levaduriformes infectantes. Con menor frecuencia se observan abscesos y lesiones de aspecto verrucoso. A partir del compromiso de los folículos pilosos (folliculitis y furunculosis) puede producirse una paniculitis esporotricótica, una constante en las formas cutáneas de curso prolongado. Cuando ocurre la diseminación, hematógica o linfática, se desarrollan lesiones en distintos órganos (huesos, músculos, intestino, epidídimo, ojo, hígado, bazo, riñón, etc). En estas ocasiones, los pacientes presentan letargia, anorexia e hipertermia.

Se pueden observar, en el transcurso de la enfermedad, alteraciones del perfil hematológico o bioquímico sérico (anemia, leucocitosis con neutrofi-

lia, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, aumento de enzimas del perfil hepático e hipercreatininemia), las que guardan relación estrecha y proporcional con la cantidad de lesiones cutáneas (Ettinger y Feldman 2004; Gómez y Guida 2010; Morgan *et al.* 2004).

La esporotricosis cutánea debe diferenciarse de enfermedades como leishmaniasis, cromomicosis, criptococosis, micobacteriosis y neoplasias, con las cuales guarda muchas similitudes. La enumeración de estas enfermedades dio lugar a la sigla de diferenciación diagnóstica "LCCMN", utilizada como "regla de oro" por los dermatólogos veterinarios brasileños (de Oliveira 2001).

El diagnóstico se basa en una observación directa de extendidos de exudados, previa tinción. Los exudados contienen una gran cantidad de levaduras, lo cual facilita el diagnóstico mediante métodos directos. Esto no sucede en el perro, en el que las lesiones exudativas no presentan una gran cantidad de levaduras (Ettinger y Feldman 2004).

Manifestaciones clínicas en caninos

La enfermedad es más frecuente en perros en contacto con la naturaleza, en medios rurales o que tienen contacto fortuito con gatos vagabundos y se considera que es de mejor pronóstico que la enfermedad en gatos (Gómez y Guida 2010).

Se manifiesta, la mayoría de las veces, en sus formas cutánea localizada o cutaneolinfática, con la aparición de nódulos firmes y múltiples, a veces con necrosis central. Con frecuencia pueden desarrollarse lesiones verrucosas, fistulizadas y exudativas. Generalmente las lesiones no son pruriginosas.

Cuando se compromete el sistema inmune, lo cual a veces es inducido por fármacos inmunosupresores (iatrogenia), se desarrollan lesiones papulares o nodulares, localizadas principalmente en los miembros. El agente compromete los vasos linfáticos en forma gradual, originando nódulos secundarios que dan un aspecto de "rosario". Las lesiones se pueden observar en la cara (periorales o perinasales) cuando se originan en peleas con gatos infectados. Generalmente no hay manifestaciones sistémicas (Gómez y Guida 2010; López-Bezerra 2006).

En la forma cutánea localizada los nódulos se originan en la puerta de entrada del agente, donde se produce el chancro esporotricósico o esporotricoma. Es más frecuente en los miembros, desde donde asciende y llega a los linfonódulos satélites originando gradualmente lesiones con aspecto de rosario. Asimismo, se observa linfadenomegalia.

Los exámenes sanguíneos pueden mostrar leucocitosis, neutrofilia, hiperglobulinemia e hipoalbu-

minemia. En el perfil bioquímico pueden aparecer alteraciones en la alanina aminotransferasa, la aspartato aminotransferasa, la creatinina y el nitrógeno ureico.

Los métodos de diagnóstico empleados son la observación directa del patógeno mediante la toma de muestras de una lesión exudativa. Esta técnica comúnmente no da buenos resultados por la baja carga de levaduras presente en los exudados. La histopatología, la inmunofluorescencia indirecta y el cultivo son las técnicas más aconsejadas para el diagnóstico de la enfermedad en caninos (Ettinger y Feldman 2004; Schaer 2006).

Diagnóstico diferencial

En el diagnóstico diferencial se deben considerar otras enfermedades con signos clínicos similares: tularemia, tuberculosis o micobacteriosis cutáneas, tuberculosis articular y ósea, micetomas, eumicetomas, cromomicosis, leishmaniasis, coccidioidomicosis, blastomicosis y nocardiosis.

Métodos de diagnóstico

El diagnóstico presuntivo se basa en la anamnesis y el examen clínico, mientras que el diagnóstico definitivo surge de la identificación del agente a partir de las observaciones microscópicas de las muestras (examen directo, histopatología, cultivo del o los especímenes clínicos). Los exámenes sanguíneos, como hemograma o perfil bioquímico, son de utilidad en el manejo clínico del paciente.

Examen directo

En los extendidos se encuentran células levaduriformes pequeñas, esféricas, ovoides o con forma de cigarro, las que pueden poseer uno o dos brotes. Las levaduras se pueden encontrar en macrófagos y neutrófilos, pero también en forma libre, en algunos casos (Ettinger y Feldman 2004).

Cultivo

S. schenckii puede desarrollar rápidamente en medios de cultivo de rutina (López-Bezerra 2006; Gómez y Guida 2010; López-Romero 2011). El hongo es resistente a la cicloheximida y al cloranfenicol y desarrolla en los medios con el agregado de antibióticos.

Inicialmente, las colonias son pequeñas, blancas y carecen de micelio algodonoso aéreo. A medida que crecen, la superficie adquiere aspecto húmedo, rugoso y membranoso. El color puede variar de crema a negro. Las cepas no son constantes en cuanto a formación de pigmento y cambian frecuentemente cuando se subcultivan. A veces aparecen variaciones sectoriales.

La fase levaduriforme se obtiene cultivando el hongo en agar infusión cerebro corazón (BHI), en atmósfera de CO₂, a 37 °C, durante 7-10 días (Fig. 1). Luego del cultivo en esas condiciones es posible observar el desarrollo de las levaduras con las características antes descritas.

Histopatología

El examen histopatológico de muestras coloreadas con H&E, PAS o plata metenamina constituye una forma efectiva y rápida de diagnóstico (Gómez y Guida 2010; Miranda et al. 2013). Pueden observarse hiperplasia pseudoepiteliomatosa y microabscesos. Las lesiones típicas son granulomatosas, con neutrófilos, células epitelioides y células gigantes tipo Langhans. También se describe una imagen sifiloide, constituida por células plasmáticas, linfocitos y fibroblastos. En ocasiones se observan estructuras levaduriformes en forma de cigarro y, ocasionalmente, cuerpos asteroideos, los que no son exclusivos de la esporotricosis (Schnadig y Woods 2009; Miranda et al. 2013). En las lesiones procedentes de gatos se ven abundantes levaduras, libres o fagocitadas, de aspecto pleomórfico.

La retracción del citoplasma origina espacios claros alrededor del núcleo, lo que da un falso aspecto

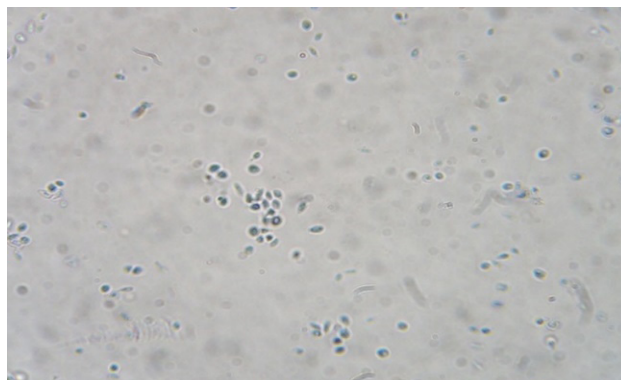
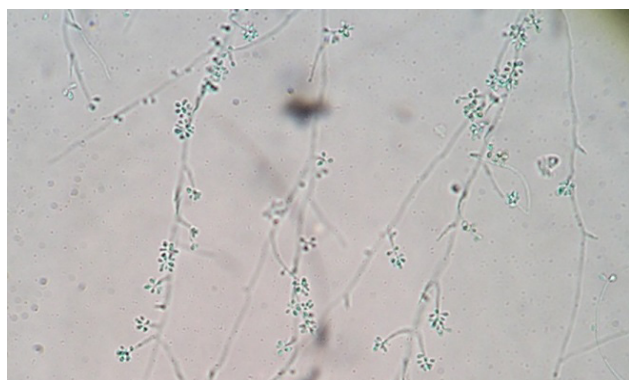


Fig. 1. Izquierda: Fase filamentosa de *Sporothrix schenckii*. Obj. 40X. Derecha: Fase levaduriforme de *Sporothrix schenckii*. Obj. 100X. Gentileza del Dr. Gustavo Giusiano.

de cápsula. Si los espacios son grandes y redondos, se pueden confundir con *Cryptococcus spp.*, bien con *Histoplasma spp.*, si son ovoides, el diagnóstico presuntivo de esporotricosis puede ser errado (Miranda *et al.* 2013).

Pruebas inmunológicas

Actualmente, hay varias pruebas de diagnóstico basadas en la detección de los complejos antígeno-anticuerpo. Pero cabe recalcar que muchas de estas pruebas carecen de especificidad y sensibilidad, no por sus fundamentos en sí, sino por la respuesta inmunológica que desencadena este tipo de patógeno en el organismo.

Las pruebas más conocidas para diagnóstico inmunológico son: hipersensibilidad cutánea, aglutinación en látex, inmunodifusión en gel agar (IDGA), contraelectroforesis (CIEF), inmunoelectrotransferencia (Western blot), inmunofluorescencia indirecta (IFI) y ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA).

Las diferentes técnicas de diagnóstico descritas son relevantes, dependiendo del momento de la evolución de la enfermedad.

La prueba de hipersensibilidad cutánea o intradermorreacción detecta hipersensibilidad retardada y es de utilidad epidemiológica. Para la prueba pueden utilizarse dos tipos de esporotricina: el extracto metabólico de la fase micelial o esporotricina M, que es la más comúnmente utilizada para estudios de reactores positivos en los estudios epidemiológicos y la esporotricina L, derivada de la fase levaduriforme. Esta última es de menor costo pero de menor rendimiento. Las pruebas cutáneas sólo indican que el animal estuvo en contacto con el hongo (Saúl 2011).

Dicha prueba carece de valor diagnóstico en poblaciones de animales de áreas endémicas (Ettinger y Feldman 2004). La esporotricina M también es utilizada como antígeno en las pruebas de inmunodifusión y de contraelectroforesis (Saúl 2011).

La prueba de aglutinación en tubo y aglutinación en látex fueron técnicas empleadas para el diagnóstico de la esporotricosis, aunque los valores de sensibilidad y especificidad varían de acuerdo con las series estudiadas. Así, Barros *et al.* (2011) comunicaron una sensibilidad del 96 % y 94 % y una especificidad del 98 % y 100 %, respectivamente. Para Reyes *et al.* (2003) la sensibilidad de la aglutinación en látex fue del 100 % y la especificidad del 54 %. Estos autores coinciden en que no es una buena prueba para el diagnóstico de casos de esporotricosis cutánea.

Los antígenos para las pruebas serológicas como contraelectroforesis (CIEF) e inmunodifusión

en gel (ID) fueron estandarizados con parámetros similares en tiempo de incubación, fase de crecimiento, estructura celular predominante y características químicas (Saúl 2011).

El ELISA indirecto es una técnica para identificar anticuerpos IgG contra *S. schenckii*. En un estudio de comparación de técnicas serológicas realizada por Scott *et al.*, se comparó la prueba de ELISA con la de Western immunoblot para el diagnóstico de esporotricosis en el hombre.

La técnica Western immunoblot permite identificar proteínas específicas de 40 y 70 kDa. Esta técnica, en sus comienzos, fue considerada como una buena herramienta para la detección de individuos seropositivos (Scott, 1989).

En el caso específico de los felinos se ha buscado estandarizar una herramienta de diagnóstico rápida para la detección de anticuerpos, debido a que *S. schenckii* es el agente etiológico de la esporotricosis humana y animal. Además, se comprobó que los gatos pueden actuar como reservorio y constituir un serio problema de salud pública en áreas endémicas de la enfermedad. El primer ELISA fue diseñado a partir de dos fracciones denominadas fracción vinculante de la concanavalina A y no vinculante de la concanavalina A, cuyas pruebas, sobre sueros de animales positivos a la enfermedad con cultivo positivo, alcanzaron un 90 % de sensibilidad y un 96 % de especificidad. El segundo ELISA fue diseñado a partir de exoantígenos del hongo, demostrando una sensibilidad de 96 % y una especificidad de 98 % (Fernandes *et al.* 2011).

Diagnóstico molecular

Para detectar *S. schenckii* en el tejido, Kano *et al.* (2001) diseñaron cebadores de oligonucleótidos específicos basados en el gen de la sintasa de quitina. Los productos de amplificación se obtuvieron de forma selectiva del ADN de *S. schenckii*. La técnica del análisis de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con el par de cebadores S2-R2 fue capaz de detectar 10 pg de ADN genómico de *S. schenckii*. No obstante, Romeo *et al.* (2011) sugieren la utilización del gen codificante de la calmodulina para la identificación correcta de especies de *S. schenckii*.

La técnica de PCR anidada (nested-PCR), estandarizada por Hu *et al.* (2003), presenta alta sensibilidad, ya que es posible detectar hasta 1 UFC del agente en muestras de tejido. La técnica amplifica, en primera instancia, un segmento del genoma. Los cebadores utilizados son SS3 y SS4. En la segunda fase se agregan los cebadores para la amplificación de una parte de la secuencia del gen 18S que es 100 % específica del hongo. Mendoza *et al.* (2012) realizaron una evaluación de la técnica en ratones

infectados experimentalmente con *S. schenckii* y la compararon con diversas técnicas de diagnóstico, llegando a la conclusión de que el cultivo y la detección de anticuerpos específicos son herramientas de gran eficacia, mientras que la observación directa y la PCR anidada son herramientas de menor valor diagnóstico. Cabe indicar que *Sporothrix* es el único hongo dimorfo de importancia clínica que no cuenta con su secuencia genómica dilucidada (Oliveira *et al.* 2014).

El polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción-reacción en cadena de polimerasas (RFLP-PCR) es una técnica altamente eficaz, simple y de bajo costo para la rutina. La técnica permite identificar el genotipo de las especies del complejo *S. schenckii* y emplea el gen de calmodulina amplificado para producir 7 patrones electroforéticos diferentes que son representativos de cada especie de *Sporothrix* (Rodríguez 2014a).

La técnica T3B fingerprinting sirve para la rápida identificación de especies de *Sporothrix* y consiste en la utilización del cebador universal T3B con generación de patrones de bandas distintas para la correcta identificación de las especies. Las bandas fueron evaluadas mediante la secuencia parcial de genes de calmodulina. Este método es simple, confiable y de costo accesible, por lo que se lo considera ideal en el trabajo de rutina (de Oliveira 2012; Gutiérrez-Galhardo 2008).

Tratamiento

El yoduro de potasio ha sido tradicionalmente usado para el tratamiento de la esporotricosis durante el siglo XX, con resultados satisfactorios. Sin embargo, debido a sus efectos tóxicos, en 1990 fue sustituido por los azoles, como el itraconazol, que actualmente es el primer antimicótico de elección (Barros 2011).

En general, se administran antifúngicos como el ketoconazol (5 mg/Kg cada 12 horas) o el itraconazol (Iachini 2009; López-Romero 2011), durante cuatro a ocho semanas.

Los pacientes con esporotricosis cutánea o linfocutánea responden bien al tratamiento con el itraconazol (100-200 mg/día) durante 6 meses (Bonifaz 2008; Barba-Borrego 2009; López-Romero 2011). Otra droga utilizada es el fluconazol (400 mg/día durante 6 meses) (Bove-Sevilla 2008). Por otra parte, los pacientes que reciben tratamiento con la terbinafina (250 mg/día) alcanzan un 92% de curación si se lo asocia con itraconazol (100 mg/día) (Barros 2011).

En la actualidad, los tratamientos con triazoles se consideran muy efectivos. Sin embargo, ya se han evidenciado múltiples cepas de *S. schenckii* resistentes a los triazoles (Rodríguez *et al.* 2014b).

En pacientes con esporotricosis diseminada el medicamento indicado es la anfotericina B, aunque en investigaciones recientes se descubrió que la melanina encontrada en ciertas cepas de *S. schenckii* actúa como inhibidor de la anfotericina B en concentraciones bajas. Por lo tanto, Nunes *et al.* (2015) sugirieron que se estudie la anfotericina B con diferentes clases de antifúngicos o con inhibidores de la melanina.

Investigaciones recientes analizaron la actividad inhibitoria del terpinen-4-ol y del farnesol asociados con yoduro de potasio o anfotericina B, en las cuales se demostró las capacidades inhibitorias del farnesol frente a cultivos de *Sporothrix spp.* y el fracaso de terpinen-4-ol como factor inhibidor. Los mecanismos de inhibición del farnesol aún son desconocidos (Brilhante *et al.* 2015). Otros medicamentos, como la miltefosina, se ensayaron *in vitro* frente *S. brasiliensis*, dando excelentes resultados, incluso comparables con la acción fungicida de la anfotericina B. La miltefosina tiene tropismo por la pared celular de los hongos generando disminución del espesor de las capas (Borba-Santos *et al.* 2015a). Por otra parte, *S. brasiliensis* ha demostrado susceptibilidad a la terbinafina y al posaconazol y baja susceptibilidad a la anfotericina B y alitraconazol por el contrario, es resistente al voriconazol (Borba-Santos *et al.* 2015b).

Algoritmo de diagnóstico

En la figura 2 se muestra un algoritmo simple para arribar al diagnóstico de la esporotricosis. Es recomendable considerar resultados positivos de dos o más pruebas para confirmar el diagnóstico de esporotricosis.

Discusión

La esporotricosis es una enfermedad más frecuente en gatos que en perros (Barros 2011). En los perros, la enfermedad es menos agresiva que en los gatos (Gómez y Guida 2010). Los signos clínicos en ambas especies son inespecíficos y consisten en letargia, inapetencia, fiebre, lesiones cutáneas exudativas y linfadenopatía. Estos signos también pueden observarse en otras enfermedades micóticas sistémicas y en algunas enfermedades infecciosas no micóticas.

El advenimiento de nuevas técnicas de biología molecular no solamente permitió identificar y clasificar las distintas cepas, sino que también facilitó la identificación rápida y segura del agente en casos clínicos. En la actualidad, se cuenta con técnicas de diagnóstico directas e indirectas, con sus ventajas y desventajas. Mediante las primeras (examen directo, histopatología y cultivo) se intenta demostrar la presencia del agente. Las técnicas de PCR, Nested-PCR,

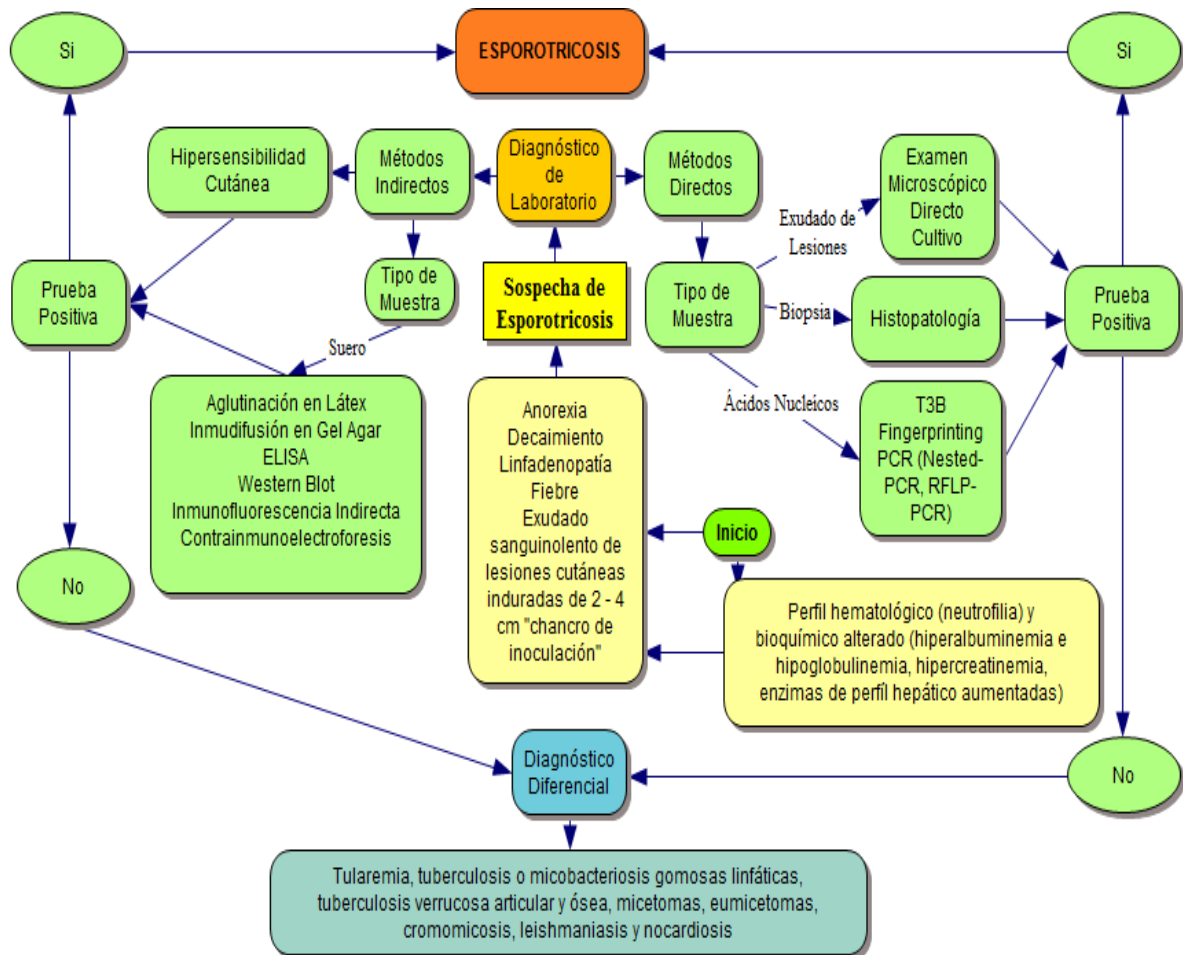


Figura 1. Algoritmo de diagnóstico de esporotricosis.

RFLP-PCR y T3B fingerprinting, que demuestran la presencia de ácidos nucleicos, también son consideradas técnicas de diagnóstico directo. La “prueba de oro” es el cultivo pero, debido al potencial zoonótico, en algunos laboratorios se opta por alguna de las técnicas de biología molecular. El examen directo y la histopatología son muy económicos y resultan más seguros durante el procesamiento de las muestras mientras que las técnicas de diagnóstico molecular son de alta especificidad y sensibilidad.

Las pruebas de diagnóstico indirectas son: hipersensibilidad cutánea, aglutinación en látex, IDGA, ELISA, WB, IFI y contrainmunolectroforesis. Dentro de éstas, las más usadas en la rutina diaria de los laboratorios son la de aglutinación en látex y el ELISA, debido a su practicidad y repetitividad. Las pruebas restantes demandan equipamiento caro o antígenos complejos de obtener, por lo que son utilizadas en investigación, en primera instancia. La principal ventaja de las pruebas indirectas es el menor riesgo biológico. No obstante, como desventaja conocida, el éxito de las pruebas indirectas depende de la formación de anticuerpos específicos por parte del huésped, por lo que debe considerarse un periodo ventana, el que a menudo causa falsos positivos.

El complejo *S. schenckii* presenta 4 factores de patogenicidad (Barros *et al.* 2011) de los cuales la melanina demostró ser uno de los factores que ayuda a la supervivencia del agente, brindándole resistencia a los antimicóticos de primera elección como la anfotericina B (Nunez *et al.* 2015). Por otra parte, debido a los hallazgos de múltiples cepas resistentes a los antifúngicos de primera elección, investigadores como Brillante *et al.* (2015) han ensayado, con resultados positivos, la asociación de anfotericina B con compuestos orgánicos como el farnesol.

Se encontraron cepas del complejo *S. schenckii* resistentes no sólo a la anfotericina B sino, además, a los triazoles como el fluconazol, el itraconazol y el voriconazol (Rodrigues *et al.* 2014b; Borba-Santos *et al.* 2015b). Esto se debe a una resistencia innata basada en sus factores de virulencia, pero también a la gran variabilidad genética que se está encontrando.

En conclusión, la esporotricosis es una zoonosis micótica sistémica, de importancia creciente en la salud pública, debido a la mayor cantidad de casos que se registran en la actualidad, y en los que se evidencia resistencia a los antimicóticos, tanto en la forma cutánea como en la sistémica. Sin embargo, se están proponiendo nuevas asociaciones de fármacos

para evitar el uso prolongado de los antimicóticos de uso general. La utilización de modernas técnicas de diagnóstico permite, en la actualidad, la identificación de la especie actuante.

Conflicto de intereses

El autor declara que no existen conflicto de intereses, incluyendo relaciones financieras, personales o de otro tipo con otras personas u organizaciones que pudieran influir de manera inapropiada en el trabajo.

Bibliografía

- Barba-Borrego JA, Mayorga J, Tarango-Martinez VM. Simultaneous bilateral lymphangitic sporotrichosis. *Rev Iberoam Micol.* 2009; 26(4):247-9.
- Barros MB, de Almeida Paes R, Schubach AO. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. *Clin Microbiol Rev.* 2011; 24(4):633-54. doi: 10.1128/CMR.00007-11.
- Barros MB, de Almeida Paes R, Schubach AO. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. *Clin Microbiol Rev.* 2011; 24(4):633-54.
- Bonifaz A, Fierro L, Saul A, Ponce RM. Cutaneous sporotrichosis. Intermittent treatment (pulses) with itraconazole. *Eur J Dermatol.* 2008; 18(1):61-4. doi: 10.1684/ejd.2008.0312.
- Borba-Santos LP, Gagini T, Ishida K, de Souza W, Rozental S. Miltefosine is active against *Sporothrix brasiliensis* isolates with *in vitro* low susceptibility to amphotericin B or itraconazole. *J of Med Microb.* 2015a; 64: 415-22.
- Borba-Santos LP, Rodrigues AM, Gagini TB, Fernandes GF, Castro R, de Camargo ZP, *et al.* Susceptibility of *Sporothrix brasiliensis* isolates to amphotericin B, azoles, and terbinafine. *Med Mycol.* 2015b; 53(2):178-88.
- Bove-Sevilla P, Mayorga-Rodríguez J, Hernández-Hernández O. Esporotricosis transmitida por gato doméstico. Reporte de un caso. *Med Cutan Iber Lat Am.* 2008; 36(1):33-5.
- Brilhante RS, Silva NF, Marques FJ, Castelo-Branco D de S, de Lima RA, Malaquias AD, *et al.* *In vitro* inhibitory activity of terpenic derivatives against clinical and environmental strains of the *Sporothrix schenckii* complex. *Med Myco.* 2015; 53(2):93-8.
- Carrada-Bravo T. Esporotricosis: Avances recientes en el diagnóstico de laboratorio, histopatología y la epidemiología en México. *Rev Latinoam Patol Clín.* 2012; 59(3): 147-71.
- Chávez Fuentes I, de la Cabada Bauche J, Uribe Jiménez EE, Gómez Salcedo HJ, Velasco Rodríguez JF, Arias Amaral J. Esporotricosis sistémica: comunicación de un caso y revisión bibliográfica. *Med Int Mex.* 2007; 23(1):87-90.
- Criseo G; Romeo O. Ribosomal DNA sequencing and phylogenetic analysis of environmental *Sporothrix schenckii* strains: comparison with clinical isolates. *Mycopathologia.* 2010; 169(5): 351-8.
- de Meyer EM, de Beer ZW, Summerbell RC, Moharram AM, de Hoog GS, Visser HF, *et al.* Taxonomy and phylogeny of new wood and soil-inhabiting *Sporothrix* species in the *Ophiostoma stenoceras-Sporothrix schenckii* complex. *Mycology.* 2008;100 (4):647-61.
- de Oliveira MM, Sampaio P, Almeida-Paes R, Pais C, Gutierrez-Galhardo MC, Zancope-Oliveira RM. Rapid identification of *Sporothrix* species by T3B fingerprinting. *J Clin Microbiol.* 2012; 50(6):2159-62.
- de Oliveira Nobre M, Potter de Castro A, Caetano D, de Souza LL, Araújo Meireles MC, Ferreira L. Recurrence of sporotrichosis in cats with zoonotic involvement. *Rev Iberoam Micol.* 2001; 18:137-40.
- Ettinger SJ, Feldman EC. Micosis Sistémicas - Esporotricosis. En: Ettinger SJ 2004. *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 6th ed. Vol 1. United State of America; Ed Elsevier Saunders, pp. 685-6.
- Fernandes GF, Lopes-Bezerra LM, Bernardes-Engemann AR, Schubach TM, Dias MA, Pereira SA, *et al.* Serodiagnosis of sporotrichosis infection in cats by enzyme-linked immunosorbent assay using a specific antigen, SsCBF, and crude exoantigens. *Vet Microbiol.* 2011; 147(3-4):445-9.
- Gómez N, Guida N. Esporotricosis. En: Gómez N, Guida N 2010. *Enfermedades Infecciosas de los Caninos y Felinos.* 1 ed. Buenos Aires; Ed. Inter-Médica, pp. 257-60.
- Gutierrez-Galhardo MC, Zancope De Oliveira RM, Francesconi Do Valle AC, De Almeida Paes R, Morais E, Silvatavares P, Monzon A, Mellado E, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M. Molecular epidemiology and antifungal susceptibility patterns of *Sporothrix schenckii* isolates from a cat-transmitted epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Med Mycol.* 2008; 46:141-51.
- Howard DH. Dimorphism of *Sporotrichum schenckii*. *J Bacteriol.* 1960; 81(3):464-9.
- Hu S, Chung WH, Hung SI, Ho HC, Wang W, Z Chen CH, Lu S, Kuo T, Hong HS. Detection of *Sporothrix schenckii* in clinical samples by a Nested PCR Assay. *J Clin Microbiol.* 2003; 41(4):1414-1418. doi: 10.1128/jcm.41.4.1414-8.2003.
- Iachini R. Esporotricosis en un gato doméstico. *Rev Arg Microbiol.* 2009; 41:27.
- Kano R, Nakamura Y, Watanabe S, Tsujimoto H, Hasegawa A. Identification of *Sporothrix schenckii* based on sequences of the chitin synthase 1 gene. *Mycoses.* 2001; 44(7):261-5.
- Lópes-Bezerra L, Schubach A, Costa R. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. *An Acad Bras Ciênc.* 2006; 78(2):16.
- López-Romero E, Reyes-Montes M, Pérez-Torres A, Ruiz-Baca E, Villagomez-Castro JC, Mora-Montes HM, Flores-Carreón A, Toriello C. *Sporothrix schenckii* complex and sporotrichosis, an emerging health problem. *Future Microbiol.* 2011;6(1):85-102.
- Marimon R, Cano J, Gene J, Sutton DA, Kawasaki M, Guarro J. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. *J Clin Microbiol.* 2007; 45(10):3198-206. doi: 10.1128/JCM.00808-07.
- Marimon R, Gene J, Cano J, Trilles L, Dos Santos Lazera M, Guarro J. Molecular phylogeny of *Sporothrix schenckii*. *J Clin Microbiol.* 2006; 44(9):3251-6. doi: 10.1128/JCM.00081-06.
- Marimon R, Serena C, Gene J, Cano J, Guarro J. *In vitro* antifungal susceptibilities of five species of *Sporothrix*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008; 52(2):732-4. doi: 10.1128/AAC.01012-07.
- Mendoza M, Brito A, Schaper DA, Spooner VA, Alvarado P, Castro A, Fernandez A. Technical evaluation of nested PCR for the diagnosis of experimental sporotrichosis. *Rev Iberoam*

- Micol. 2012; 29(3):120-25. doi:10.1016/j.riam.2011.09.002.
- Miranda L H, Conceicao-Silva F, Quintella L P, Kuraïem B P, Pereira S A, Schubach T M. Feline sporotrichosis: histopathological profile of cutaneous lesions and their correlation with clinical presentation. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2013; 36(4):425-32.
- Morgan RV, Bright RM, Swartout MS. Tabla de Micosis Sistémicas - Esporotricosis. En: Morgan RV. *Clínica de Pequeños Animales* (Ed. 4th). Madrid, España. Elsevier 2004; pp. 855.
- Nunes M, Santos R, Denardi LB, Vaucher R, Santurio JM, Alves SH. Interference of melanin in the susceptibility profile of *Sporothrix* species to amphotericin B. *Rev Iberoamer de Micol.* 2015. *Epub ahead of print*
- Oliveira M M, Almeida-Paes R, Gutierrez-Galhardo M C, Zancopé-Oliveira R M. Molecular identification of the *Sporothrix schenckii* complex. *Rev Iberoam Micol.* 2014; 31(1):2-6.
- Ramos-e-Silva M, Vasconcelos C, Carneiro S, Cestari T. Sporotrichosis. *Clin Dermatol.* 2007; 25(2):181-7. doi:10.1016/j.clindermatol.2006.05.006.
- Reyes H, Mata S, Magaldi S, Hartung C, Colella M, Pérez C, Calatroni MI, Silva S, Roselló A, Olaizola C, Rojas E. Utilidad del método LA-Sporothrix antibody system en el diagnóstico de la esporotricosis cutánea. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* 2003; 23(1):2.
- Rodrigues A M, Cruz Choappa R, Fernandes G F, de Hoog G S, de Camargo Z P. *Sporothrix chilensis* sp. nov. (Ascomycota: Ophiostomatales), a soil-borne agent of human sporotrichosis with mild-pathogenic potential to mammals. *Fungal Biology.* 2015. *Epub ahead of print.*
- Rodrigues A M, de Hoog G S, de Camargo Z P. Genotyping species of the *Sporothrix schenckii* complex by PCR-RFLP of calmodulin. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014a; 78(4):383-7. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2014.01.004.
- Rodrigues A M, de Hoog G S, de Camargo Z P. Genotyping species of the *Sporothrix schenckii* complex by PCR-RFLP of calmodulin. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2014b; 78(4):383-7.
- Romeo O, Scordino F, Criseo G. New insight into molecular phylogeny and epidemiology of *Sporothrix schenckii* species complex based on calmodulin-encoding gene analysis of Italian isolates. *Mycopathologia.* 2011;172 (3):179-86.
- Santos Reis R, Almeida-Paes R, de Medeiros-Muñiz M, Morais e Silva Tavares P, Fialho Monteiro P C, Pacheco Schubach T M, Gutierrez-Galhardo M C, Zancopé-Oliveira R M. Molecular characterisation of *Sporothrix schenckii* isolates from humans and cats involved in the sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2009; 104(5):769-74.
- Saúl A, Bonifaz A. Clasificación de la esporotricosis. Una respuesta con base en el comportamiento inmunológico. *Dermatología Rev Mex.* 2011; 55:200-8.
- Schaer M. Enfermedades Infecciosas - Esporotricosis. En: Schaer M 2006. *Medicina Clínica del Perro y el Gato.* 8th ed, Vol. I. Madrid; Ed Elsevier, pp. 90-1.
- Schnadig V J, Woods G L. Chapter 5 - Histopathology of fungal infections. En: Pfaller EJARMA. *Clinical Mycology.* Segunda Edición. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2009. pp. 79-108.
- Schubach T M, Schubach A, Okamoto T, Barros M B, Figueiredo F B, Cuzzi T, Fialho-Monteiro P C, Reis R S, Perez M A, Wanke B. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998-2001). *J Am Vet Med Assoc.* 2004; 224(10):1623-9.
- Scott EN, Muchmore HG. Immunoblot analysis of antibody responses to *Sporothrix schenckii*. *J Clin Microbiol.* 1989; 27(2):300-4.