

DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE LA ESPOROTRICOSIS CUTANEA
ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE DIFERENTES TECNICAS
Y ANTIGENOS

María B. de Albornoz*, Sharon Blumer**, Leo Kaufman** y
Elio Villanueva*

* *Sección Micología. Instituto de Biomedicina, Apartado 4043, Caracas, 1010, Venezuela.* ** *Sección de Inmunodiagnóstico, División de Enfermedades Micóticas, Centro de Diagnóstico de Enfermedades Transmisibles (C.D.C.), Atlanta, Georgia 30333, U.S.A.*

RESUMEN

La esporotricosis es una micosis de distribución mundial, en Venezuela su incidencia es más elevada en los estados Centrales, Bolívar y Andinos.

Debido a la discrepancia en los resultados publicados en el empleo de las técnicas serológicas para el diagnóstico de las localizaciones cutáneas, se usan las técnicas de aglutinación (C.D.C., Atlanta, U.S.A.) y las de precipitación en los mismos sueros (Sección Micología, Instituto de Biomedicina, Caracas) procedentes de 32 casos de esporotricosis, observándose con ambos procedimientos un 47% de positividad. Sin embargo, al relacionar estos resultados con la forma clínica en la diseminada linfangítica se detectaron anticuerpos circulantes

en la AgL y en la IP en un 80 y 100% respectivamente. Las formas fijas dan un porcentaje que osciló entre un 36% para la AgL hasta un 7 y 21% para el resto de las técnicas (AgT e IP). En las cutáneas múltiples la AgT no detectó anticuerpos en ningún caso y la AgL e IP fueron positivas en un 25%. Estos resultados sugieren que la presencia de anticuerpos circulantes en la esporotricosis cutánea estaría más relacionada con la respuesta inmunológica del huésped, que a su vez condiciona la forma clínica, que a las diferentes técnicas y antígenos usados. El uso de la Esporotriquina es un método más sensible y específico para orientar el diagnóstico de esta micosis, el cual debe sustentarse finalmente con el aislamiento del *S. schenckii*. En Venezuela debido a la superposición de las áreas endémicas a la esporotricosis y la leishmaniasis, se deben usar conjuntamente la Esporotriquina y la Leishmanina.

INTRODUCCION

La esporotricosis es una micosis de distribución mundial. En Venezuela su mayor incidencia se encuentra en las áreas húmedas y templadas de los Estados Centrales: Miranda, Aragua y Distrito Federal, Edo. Bolívar y Estados Andinos (4).

Su agente causal el *Sporothrix schenckii* tiene su habitat en la tierra y en los vegetales; penetra en los seres vivos a través de traumatismos en la piel, originando diversos tipos de lesiones cutáneas. Existe también la localización extracutánea: pulmonar, articular, etc. en cuyo caso el hongo penetra por vía respiratoria.

El diagnóstico serológico de esta micosis tiene su mayor aplicación en las lesiones extracutáneas, en donde todos los procedimientos dan un alto grado de sensibilidad y especificidad (5, 9, 12). En cambio hay discrepancia en los resultados obtenidos cuando se aplican estas técnicas en los casos de las localizaciones cutáneas (2, 5, 7).

Debido a esto se planificó un estudio entre la Sección de Inmuno-diagnóstico de la División de Enfermedades Micóticas del Centro para el Control de Enfermedades (C.D.C.) Atlanta, U.S.A. y la Sección de Micología del Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela, con el objeto de comparar las diferentes técnicas y antígenos en sueros de casos de esporotricosis cutáneas diagnosticados en la Sección de Micología del Instituto de Biomedicina.

MATERIALES Y METODOS

Pacientes: Se estudiaron 32 pacientes, según sus características clínicas fueron clasificados en:

a) — **Formas cutáneas fijas:** lesión única: úlcera, nódulo, absceso, placa verrugosa, etc. (Fig. 1).



Fig. 1.— Forma cutánea fija: úlcera en párpado inferior.

b) — **Formas cutáneas diseminadas:**

b.1.— **linfangítica:** chancro de inoculación y nódulos a lo largo del trayecto linfático (Fig. 2).

b.2.— **lesiones cutáneas múltiples:** más de una lesión; úlceras, nódulos, abscesos, etc. (Figs. 3 y 4).

Sueros: se procesaron 32 sueros de casos de esporotricosis cutánea, diagnosticados por cultivo. Todos los pacientes dieron una respuesta positiva a la Esporotriquina. A los sueros se les agrega Merthiolate 1:10.000 y se guardan a -20°C hasta su utilización y envío a U.S.A.

Métodos: las técnicas empleadas fueron las de aglutinación en tubo (AgT), latex (AgL) (C.D.C., Atlanta, U.S.A.) y las técnicas de inmunoprecipitación: inmunodifusión (ID) e inmunoelectroforesis (IEF) (Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela).

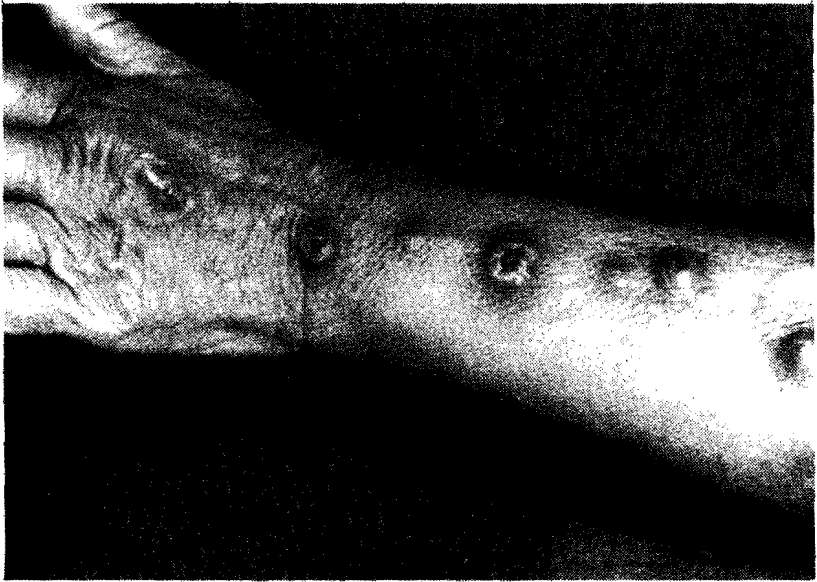


Fig. 2.— Forma cutánea diseminada linfangítica: chancro de inoculación y nódulos a lo largo del cordón linfático.



Fig. 3.— Forma diseminada múltiple: chancro de inoculación (úlcer) y lesiones satélites.

Antígenos: en las técnicas de aglutinación se usó el antígeno hecho a partir de la forma levaduriforme del *S. schenckii*. En las técnicas de inmuno pre-

cipitación se empleó el antígeno metabólico de la forma filamentosa del mismo hongo.

Análisis estadístico: según el método de McNemar (15).



Fig. 4.— Forina diseminada múltiple: numerosas úlceras en brazo y antebrazo.

RESULTADOS

Los resultados globales de este estudio dieron una positividad muy similar al detectar anticuerpos en un 47% de los casos (Tabla I), sin embargo al comparar la sensibilidad de las diferentes técnicas y antígenos en las formas clínicas estudiadas, observamos lo siguiente:

a) — **Cutáneas fijas:** en 14 casos la AgL. detectó anticuerpos en 5 (36%) de los sueros, sin embargo con excepción de un paciente que dió títulos de 1:32, el resto fueron de 1:8, es decir los más bajos aceptados para considerar estos resultados positivos. La AgT. detectó anticuerpos en 1 caso (7%). Las técnicas de IP dieron resultados similares entre sí, observándose bandas de precipitación en 2 sueros (14%) en la ID y en 3 (21%) en la IEF.

b) — **Diseminadas:** se estudiaron 18 formas diseminadas. De éstas, 10 correspondían a la forma linfangítica y 8 a la cutánea múltiple. En las pri-

meras, con la AgL se obtuvo títulos de 1:8 a 1:64, en 8 (80%) sueros. La AgT, detectó anticuerpos en un solo caso, mientras que las técnicas de IP detectaron anticuerpos en 10 (100%) variando entre 1 y 2 las bandas observadas.

TABLA I

DETECCION DE ANTICUERPOS CIRCULANTES EN 32 CASOS DE ESPOROTRICOSIS CUTANEA USANDO LAS TECNICAS DE INMUNOPRECIPITACION Y AGLUTINACION

Técnicas	Nº de casos	Positiva (%)
Aglutinación*	32	15 (47%)
Precipitación**	32	15 (47%)

* Antígeno levaduriforme.

** Antígeno filamentoso.

En las 8 formas cutáneas múltiples la sensibilidad de las técnicas de IP y AgL disminuye detectándose anticuerpos en 2 casos (25%) mientras la AgT no los detectó en ningún suero (Tablas II y III).

Análisis estadístico: en la forma cutánea fija, los resultados de las técnicas de IP comparada con las de Ag no dieron una diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$), en cambio en las formas cutáneas diseminadas las técnicas de IP son más sensibles que la de la AgT ($P < 0,001$). La AgL demostró igual sensibilidad que las técnicas de IP en las formas cutáneas diseminadas.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en el diagnóstico serológico de la esporotricosis cutánea usando las técnicas de aglutinación y un antígeno levaduriforme, varían entre un 94% de positividad (5) hasta un 56% (7). Con la ID los mismos autores encuentran un 56 y un 7,6% de positividad respectivamente. Al usar un antígeno filamentoso y las técnicas de IP se obtuvo un 53,54% de positividad en la ID y un 63% en la IEF, sin embargo en este caso todas las formas diseminadas fueron clasificadas como linfagíticas(2).

En el presente trabajo, las técnicas más sensibles fueron la AgL, la ID y la IEF en las formas linfagíticas de esta micosis, siendo en cambio muy

TABLA II

RESULTADO DEL ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LAS TÉCNICAS DE AGLUTINACION (AgT - AgL)
USANDO UN ANTIGENO LEVADURIFORME Y LAS TÉCNICAS DE PRECIPITACION (ID - IEF)
CON UN ANTIGENO FILAMENTOSO EN 14 CASOS DE ESPOROTRICOISIS CUTANEA FIJA

Paciente	Edad	Fijas	T. de evolución meses	Serología				
				ID	IEF*	AgT.*	AgL.*	E.**
D.S.N.	41 a	úlceras	4 m	1 b	1 b (S)	neg.	32	+
V.R.	62 a	úlceras	24 m	neg.	neg.	neg.	neg.	+
J.R.	43 a	úlceras	6 m	neg.	neg.	neg.	neg.	+
N.Q.O.	77 a	úlceras	24 m	neg.	neg.	neg.	8	+
A.L.	80 a	úlceras	3 m	neg.	neg.	neg.	neg.	+
N.T.	17 a	úlceras	12 m	neg.	1 b (S)	neg.	8	+
M.C.	33 a	úlceras	24 m	neg.	neg.	neg.	8	+
F.M.	10 a	úlceras	2 m	neg.	neg.	neg.	neg.	+
T.M.	48 a	p. verrugosa	18 m	1 b	1 b (S)	neg.	neg.	+
J.A.	10 a	p. verrugosa	1 1/2 m	neg.	neg.	neg.	neg.	+
Y.C.	8 a	p. verrugosa	4 m	neg.	neg.	neg.	8	+
W.A.	13 a	p. verrugosa	1 1/2 m	neg.	neg.	neg.	neg.	+
J.G.V.	6 a	nódulo	8 m	neg.	neg.	16	neg.	+
L.S.	18 a	nódulo	24 m	neg.	neg.	neg.	neg.	+
Total 14 casos			Rango 1 1/2 - 24 m	Sensibilidad 2 (14%)	3 (21%)	1 (7%)	5 (36%)	

* IEF La banda S es originada por el antígeno específico del *S. schenckii*.

* AgL Se considera positivos los títulos desde 8.

* AgT Se considera positivos los títulos desde 16.

** E Esporotriquina.

TABLA III

RESULTADO DEL ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LAS TECNICAS DE AGLUTINACION (AgT - AgL)
USANDO UN ANTIGENO LEVADURIFORME Y LAS TECNICAS DE PRECIPITACION (ID - IEF)
CON UN ANTIGENO FILAMENTOSO EN 18 CASOS DE ESPOROTRICOISIS CUTANEA
DISEMINADA LINFAGITICAS (10) CON LESIONES MULTIPLES (8)

Paciente	Edad	Linfagítica	T. de evolución meses	Serología					
				ID	IEF*	AgT.*	AgL.*	E.**	
R.O.	25 a	linfagítica	4 1/2 m	2 b	2 b (S)	neg.	32	+	
L.Z.	61 a	linfagítica	6 m	1 b	1 b (S)	neg.	8	+	
J.L.C.	15 a	linfagítica	3 m	1 b	1 b (S)	neg.	8	+	
R.S.	3 a	linfagítica	3 m	1 b	1 b (S)	neg.	16	+	
P.M.	17 a	linfagítica	1 1/2 m	1 b	1 b (S)	neg.	16	+	
M.E.B.	70 a	linfagítica	15 m	1 b	2 b (S)	neg.	16	+	
L.B.	23 a	linfagítica	7 m	2 b	2 b (S)	neg.	16	+	
J.T.R.	69 a	linfagítica	12 m	1 b	1 b (S)	neg.	32-64	+	
G.M.	60 a	linfagítica	3 m	1 b	1 b (S)	neg.	neg.	+	
J.V.	40 a	linfagítica	6 m	1 b	1 b (S)	neg.	neg.	+	
Total 10 casos			Rango 1 1/2 - 15 m	10 (100%)	10 (100%)	1 (10%)	8 (80%)		
Múltiples									
J.C.A.	5 a	nódulos	8 m	2 b	2 b (S)	neg.	neg.	+	
V.J.G.	6 a	nódulos	8 m	neg.	neg.	neg.	neg.	+	
U.J.	60 a	nódulos	12 m	neg.	neg.	neg.	neg.	+	
D.A.	11 a	úlc. nódulos	1 1/2 m	1 b	1 b (S)	neg.	8	+	
C.B.	48 a	úlc. nódulos	2 m	neg.	neg.	neg.	neg.	+	
M.C.B.	77 a	úlc. nódulos	36 m	neg.	neg.	neg.	neg.	+	
M.R.	36 a	úlc. nódulos	3 m	neg.	neg.	neg.	8	+	
R.G.	12 a	úlceras	3 m	neg.	neg.	neg.	neg.	+	
Total 8 casos			Rango 1 1/2 - 36 m	2 (25%)	2 (25%)	0 (0%)	2 (25%)		

* IEF La banda S es originada por el antígeno específico del *S. schenckii*.

* AgL Se considera positivos los títulos desde 8.

* AgT Se considera positivos los títulos desde 16.

** E Esporotriquina.

poco sensibles para captar anticuerpos en las otras formas clínicas dando pues la impresión que la diferencia de sensibilidad de estas técnicas estaría más relacionada con la respuesta inmune del huésped (la cual condicionaría la forma clínica) que a los diferentes procedimientos usados (10). Esto coincide con los resultados de Karlin y Nielsen (9) quienes relacionan la producción de anticuerpos a las características histológicas de la lesión, así los casos con linfadenitis y lesiones supurativas son más activos que los pacientes que presentan lesiones más superficiales sin compromiso de órganos linfáticos. Esto explicaría el porqué en un 75% de las formas cutáneas múltiples estudiadas en este trabajo y formadas por el chancro de inoculación y lesiones satélites a su alrededor (Fig. 3) la escasa producción de anticuerpos circulantes.

En cuanto a la especificidad de los antígenos levaduriformes también hay discrepancia en los resultados, mientras Blumer y col. (5) no encuentran anticuerpos contra el *S. schenckii* en sueros controles, Karlin y Nielsen (9) obtienen títulos hasta de 1:20 en población sana.

Los antígenos filamentosos han demostrado una especificidad del 100%; en 462 sueros procedentes de pacientes con diferente diagnóstico entre las cuales se encontraban casos de micosis profundas y leishmaniasis no observamos bandas de precipitación (arco S) (2). Sin embargo, Ishizaki y col. (8) usando el antígeno levaduriforme en la ID obtuvo reacciones cruzadas con suero de conejos inoculados con *Klebsiella pneumoniae* K 47.

En el caso del *S. schenckii* la composición química de la forma levaduriforme, micelial y conidias es muy similar, pero en estas dos últimas estructuras el principal componente antigénico de superficie es el *norhamnosyl rhamnomanan*, mientras que el de las hifas es el *dirhamnosyl rhamnomanan*, el cual se considera el determinante antigénico específico. Sueros de pacientes con esporotricosis muestran mayor especificidad para el dirhamnosyl que para el polisacárido de la forma levaduriforme. Estos resultados orientan hacia la presencia de hifas en el huésped, las cuales son visualizadas con facilidad (11, 14).

Por los resultados obtenidos en este trabajo los cuales coinciden en su mayoría con los citados anteriormente (7, 9) pensamos que las técnicas inmunológicas hasta el momento no constituyen el método más idóneo para la orientación diagnóstica de la esporotricosis cutánea, siendo más seguro y fácil de realizar el estudio de la inmunidad celular (hipersensibilidad retardada) empleando la Esporotriquina, de cuya sensibilidad y especificidad no hay duda (1, 3, 13). En nuestro medio debido a la superposición de las áreas endémicas de la esporotricosis y la leishmaniasis (3, 6) y a las formas clínicas tan similares que originan estos dos organismos, es importante usar conjuntamente la Esporotriquina y la Leishmanina.

Indudablemente siendo la respuesta a la Esporotriquina, una orientación diagnóstica debe continuarse el estudio con el aislamiento del *S. schenckii* de la lesión, lo cual hará el diagnóstico definitivo.

Trabajo financiado por el proyecto S1. 1297, CONICIT.

ABSTRACT

Serologic diagnosis of cutaneous sporotrichosis. Comparative study between different techniques. *Albornoz M.B., (Sección Micología, Instituto de Biomedicina. Apartado Postal 4043. Caracas 1010. Venezuela), Blumer S., Kaufman L., Villanueva E. Invest Clín 28(2): 87-97, 1987.*— Sporotrichosis is a mycosis of world-wide distribution. In Venezuela its incidence is higher in the Andean States, the Central States and Bolivar State. Due to the discrepancies of published results using serologic techniques for the diagnosis of cutaneous localizations, we used agglutination techniques (C.D.C. Atlanta, U.S.A.) and precipitation techniques (Mycology Section, Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela) in the same serum samples from 32 cases of sporotrichosis. Both tests gave 47% positivity. When these results were analysed in relation to clinical forms, in the lymphagitic disseminated form we found circulating antibodies in AgL and IP in 80 and 100% respectively. Fixed forms give a percentage which varies between 36% for AgL and 7 and 21% for the other techniques (AgT and IP). In multiple cutaneous forms AgT did not detect antibodies in any of the cases and AgL and IP were positive in 25%. These results suggest that the presence of circulating antibodies in cutaneous sporotrichosis is related with the immunological response of the host, and with the clinical form of these disease, rather than with the various techniques and antigens used. The use of intradermal tests with Sporotrichin is a more sensitive and specific methods to guide the diagnosis of this mycosis, which finally be decided by the isolation of *S. schenckii* from lesions. In Venezuela, due to co-existence of sporotrichosis and leishmaniasis in the same areas Sporotrichin and Leishmanin should be used simultaneously.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1— ARANHA PEREIRA C.: Contribuicao ao estudo do valor practico da intradermoreacao con a esporotriquina no diagnostico da esporotricose. *Rev Parana (Brasil)*. XXIV. Nº 1-2. Jan. Feb. Mar. 1955.
- 2— ALBORNOZ, M.B. de, VILLANUEVA E., TORRES E.D. de: Application of immunoprecipitation techniques to the diagnosis of cutaneous and extracutaneous forms of sporotrichosis. *Mycopathologia*, 85; 177-183, 1984.

- 3- ALBORNOZ M.B. de: Esporotricosis en "Lecciones de Micología", Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, Instituto de Biomedicina, 59-66, 1979, Caracas.
 - 4- Boletines Informativos: "Las Micosis en Venezuela". N° 1 (1985), 4 (1986), 7 (1987).
 - 5- BLUMER S., KAUFMAN L., KAPLAN W., McLAUGHLIN D., KRAFT E.E.: Comparative evaluation of five serological methods for the diagnosis of Sporotrichosis. *Ap Mic* 26(1): 4-8, 1973.
 - 6- CABELLO de BRITO I.: Esporotricosis, Micosis en Venezuela, Ciencia y Tecnología de Venezuela, Vol. 2 (2): 87-91, 1985.
 - 7- CASSERONE S., CONTI-DIAZ I.A., ZANETTA E., PEÑA de PEREIRA M.E.: Serología de la esporotricosis cutánea. *Sabouraudia* 21; 317-321, 1983.
 - 8- ISHIZAKI H., KURATA Y., WHEAT W.: Serological cross reactivity between *Klebsiella pneumoniae* K 47 and *Sporothrix* species. *Current Microbiol* 2: 355-356, 1979.
 - 9- KARLIN J.V., NIELSEN Jr. H.S.: Serological aspects Sporotrichosis. *Jour Infec Diseases* 121 (3): 316-327, 1970.
 - 10- LAVALLE P., MARIAT F.: Sporotrichosis. *Bull Inst Pasteur* 81: 295-322, 1983.
 - 11- MABERRY J.D., MULLINS J.F., STONE O.J.: Sporotrichosis with demonstration of hyphae in human tissue. *Arch Dermatol* 93: 65-67, 1966.
 - 12- McMILLEN S., LAVERTY E.R.: Sporotrichosis serology as a clinical aid. *Bact Proc* 115, 1969.
 - 13- SCHNEIDAU, J.D., LAMAR L.M., HAIRSTON M.A.: Cutaneous hypersensitivity to sporotrichin in Louisiana. *J Am Med Ass* 188: 371-373, 1964.
 - 14- TRAVASSOS L.R., KENNETH O.L.L.: *Sporothrix schenckii* and Related Species of *Ceratocystis*. *Microb Rev* 44 (4): 683, 721, 1980.
 - 15- WONNACOTT T.H., WONNACOTT R.J.: Introducción a la Estadística. Ed Limusa, México, 1981.
-