

## REPORTE DE CASO

### Valor de las técnicas moleculares y de los factores de riesgo en el diagnóstico y evolución de la esporotricosis. A propósito de 2 casos por *Sporothrix brasiliensis* y *S. globosa*

### Value of molecular techniques and risk factors in the diagnosis and evolution of sporotrichosis. About 2 cases of *Sporothrix brasiliensis* and *S. globosa*

 Aldama Caballero, Arnaldo<sup>1,2</sup>;  Aldama Negrete, Juan Guillermo<sup>3</sup>;  Pereira Brunelli, José<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Médicas, Cátedra de Dermatología. San Lorenzo, Paraguay.

<sup>2</sup>Hospital Nacional, Servicio de Dermatología. Itaugua, Paraguay.

<sup>3</sup>Hospital Nacional, Departamento de Medicina Interna. Itaugua, Paraguay.

<sup>4</sup>Centro de Especialidades Dermatológicas. San Lorenzo, Paraguay.

---

## RESUMEN

La Esporotricosis es una micosis profunda causada por el hongo dimorfo *Sporothrix schenckii*. El advenimiento de técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa ha hecho posible identificar varias especies dentro del complejo *Sporothrix spp* como *S. brasiliensis*, *S. schenckii sensu stricto*, *S. globosa*, *S. mexicana* y *S. albicans*. Las diferencias son moleculares, pero también geográficas, macroscópicas, en asimilación de azúcares y crecimiento de colonias a 37°; determinando formas clínicas, evolución y respuestas terapéuticas diferentes.

Comunicamos 2 casos de Esporotricosis diagnosticados en el Hospital Nacional de Paraguay, cuyos estudios de PCR del gen de la calmodulina hechos en el extranjero, determinaron ser producidos por *S. brasiliensis* y *S. globosa* respectivamente. El objetivo de la comunicación es resaltar la importancia de las técnicas moleculares para el diagnóstico preciso de la especie de *Sporothrix spp*, considerando los factores de riesgo asociados a la caracterización epidemiológica y a las diferencias clínico-evolutivas de los casos de esporotricosis.

**Palabras Clave:** Esporotricosis por *Sporothrix brasiliensis*, Esporotricosis por *Sporothrix globosa*, Esporotricosis en Paraguay.

---

*Autor correspondiente:* Prof. Dr. Arnaldo Aldama Caballero. Cátedra de Dermatología, Facultad de Ciencias Médicas - Universidad Nacional de Asunción. San Lorenzo, Paraguay. E-mail: arnaldo\_aldama@hotmail.com

Fecha de recepción el 27 de Julio del 2020; aceptado el 3 de Septiembre del 2020.

## ABSTRACT

Sporotrichosis is a deep mycosis caused by the dimorphic fungus *Sporothrix schenckii*. The advent of molecular techniques as the polymerase chain reaction has made it possible to identify several species within the *Sporothrix* spp complex such as *S. brasiliensis*, *S. schenckii* sensu stricto, *S. globosa*, *S. mexicana* and *S. albicans*. The differences are molecular but also geographic, macroscopic, in sugar assimilation and colony growth at 37°, determining different clinical forms, evolution and therapeutic responses.

We report 2 cases of sporotrichosis diagnosed in the National Hospital of Paraguay, whose studies of PCR of the calmodulin gene carried out abroad, determined to be produced by *S. brasiliensis* and *S. globosa* respectively. The objective of the communication is to highlight the importance of molecular techniques for the precise diagnosis of the species of *Sporothrix* spp, considering the risk factors associated with the epidemiological characterization and the clinical-evolutionary differences of the cases of sporotrichosis.

**Keywords:** *Sporothrix brasiliensis* sporotrichosis, *Sporothrix globosa* sporotrichosis, Sporotrichosis in Paraguay.

## INTRODUCCION

La esporotricosis es una micosis profunda producida por *Sporothrix schenckii*, un hongo dimorfo que penetra al organismo generalmente por implantación traumática a partir de sustratos orgánicos, mordeduras o arañazos de animales especialmente el gato, picaduras de insectos etc. Presenta varias formas clínicas (linfangítica, fija, diseminada cutánea o sistémica y extracutánea) y el diagnóstico se confirma fundamentalmente por el cultivo (1-4).

El advenimiento de técnicas moleculares, como la PCR, ha permitido reconocer varias especies dentro del complejo *Sporothrix* spp agrupados en 5 clados (Conjunto de especies emparentadas): *S. brasiliensis* (clado 1), *S. schenckii* sensu stricto (clado 2), *S. globosa* (clado 3), *S. mexicana* y *S. albicans* (clado 4 y 5 respectivamente). Existen diferencias geográficas, macroscópicas, en asimilación de azúcares y crecimiento a 37°, pero la confirmación molecular mediante la secuenciación de la región ITS del ADNr o del gen de la calmodulina o B tubulina es la definitiva (2,4,5).

Las especies que se han relacionado con afecciones en humanos son fundamentalmente las 3 primeras, mientras la *S. mexicana* y *S. albicans* se han aislado de la naturaleza y

excepcionalmente en humanos (6). Existen otras especies como *S. luriei* y *S. inflanta* no incluidas en el complejo por tener diferencias filogenéticas (2,4)

Estas especies además de sus diferencias genotípicas y fenotípicas difieren en su distribución geográfica, pues el *S. brasiliensis* inicialmente fue aislado de pacientes procedentes del Brasil, *S. schenckii* sensu stricto de Estados Unidos y Sudamérica y el *S. globosa* de China, India, Italia, España (4)

En un estudio de 32 aislamientos clínicos y ambientales de México, Guatemala y Colombia se pudo determinar por análisis estadístico de secuencias parciales del gen de la calmodulina que 28 eran *S. schenckii* sensu stricto y 4 *S. globosa* (7).

*S. globosa* también fue descrita en EEUU y Chile, en donde aislaron de una paciente con esporotricosis linfática y del suelo del entorno de su vivienda (8).

*S. brasiliensis* ha producido importantes epidemias en el Brasil relacionados con el gato, constituyendo una zoonosis emergente. El 83% de los pacientes y el 85% de los perros

con esporotricosis tuvieron relación con gatos afectados y el 56 % de los pacientes recordaron haber sido mordidos o arañados por ese animal (9,10).

La determinación de las especies además de contribuir a un mejor conocimiento de la epidemiología de la enfermedad tiene importancia en la presentación clínica, evolución y respuesta a la terapéutica (11).

*S. globosa* parece tener menor virulencia y no provocar formas diseminadas o extracutáneas al no lograr adecuado desarrollo a los 37°. Se adquiere de la tierra, asimila sacarosa y es rafinosa negativa (2,4).

En cambio *S. brasiliensis* es el agente más agresivo, puede producir formas diseminadas en humanos siendo frecuentemente fatal para los gatos, además de mayor resistencia a los antifúngicos. In vitro la terbinafina es la más efectiva, seguido por posaconazol, itraconazol, voriconazol y la anfotericina y el fluconazol son los menos efectivos (10-12).

Factores de riesgo para adquirir la infección son: habitar en áreas endémicas; ciertas profesiones, donde son frecuentes las heridas,

como jardineros; el contacto con animales; la edad, pues los niños son más susceptibles, los adultos son más resistentes al desarrollar cierta inmunidad y con los años ésta disminuye, haciendo que los ancianos puedan desarrollar formas severas; las condiciones socioeconómicas; las enfermedades intercurrentes sobre todo las inmunodepresoras; el diagnóstico tardío. (1,2)

El objetivo de la comunicación es recalcar la importancia de los estudios moleculares en los casos de esporotricosis para una mejor comprensión de las características clínico-evolutivas de esta patología y la necesidad de contar con estos recursos en nuestro país.

## CASOS CLINICOS

**Caso 1:** Paciente de sexo masculino, de nacionalidad brasilera, residente en Itá (Paraguay) desde hace 9 meses (antes Sao Paulo-Brasil) consulta por lesiones nodulares y gomosas de 2 meses de evolución, que siguen un trayecto linfático por lo que se plantea el diagnóstico de esporotricosis linfagítica (Figura 1).



**Figura 1.** Esporotricosis. Lesión gomosa inicial (en círculo). Lesiones nodulares siguiendo un trayecto linfático.

Refiere contacto con gato doméstico traído del Brasil, que presenta lesiones ulceradas en rostro desde hace 4 meses, que finalmente le produce la muerte.

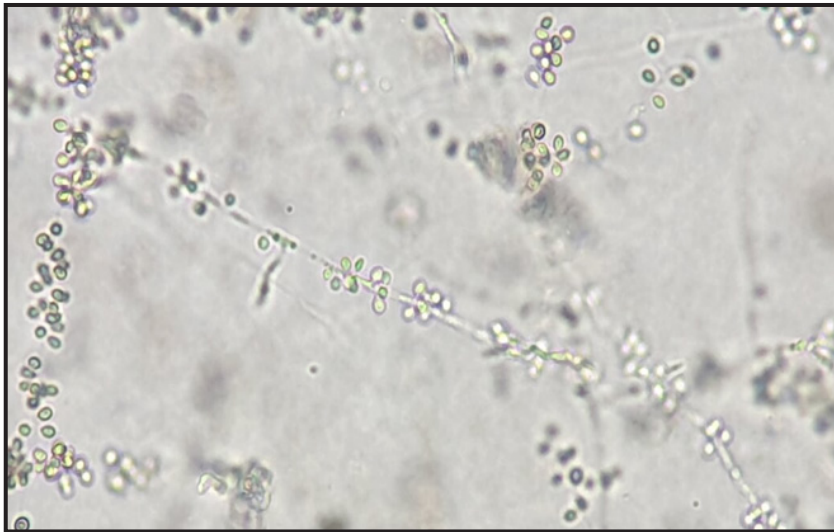
El hijo de 11 años presenta una lesión única en abdomen que fue interpretada como esporotricosis a placa fija, diagnóstico confirmado laboratorialmente.

El estudio micológico directo con la coloración de Giemsa permitió observar levaduras y el cultivo confirmó el diagnóstico de esporotricosis,

al observarse en la microscopía hifas con conidios con la imagen de duraznos en floración característica del *Sporothrix* spp (Figura 2).

El material es remitido al Departamento de Microbiología del Laboratorio Dr. Carlos Malbrán de Buenos Aires (Argentina) donde por secuenciación parcial del gen calmodulina es identificado *S. brasiliensis*.

El paciente es tratado con yoduro de potasio a dosis creciente hasta llegar a 5gr/día con mejoría progresiva y curación a los 5 meses.



**Figura 2.** Micromorfología de las colonias, Hifas hialinas, septadas y delgadas, con presencia de conidióforos con conidios lisos, ovalados y globosos dispuestos de forma simpodial característicos del *Sporothrix* spp.

**Caso 2:** Mujer, 82 años procedente de Ypacaraí (Paraguay), consulta por lesiones diseminadas de 2 meses de evolución, afectando rostro y miembros en forma de pápulas y placas ulcerocostrosas y queratósicas (Figura 3).

La paciente tiene varios factores de inmunodepresión además de la edad: artritis reumatoidea, asma por lo que se automedica con ciclos de corticoides, 4 meses antes dengue, 3 meses antes neumonía de la comunidad y 2 meses antes traumatismo del pie que requirió cirugía además de antibioticoterapia.

En el examen directo y en la anatomía patológica se observaron levaduras y con el cultivo se confirmó el diagnóstico de *Sporothrix* spp.

El material fue remitido a la Fundación Oswaldo Cruz de Brasil retornando el siguiente informe:

Identificación molecular: El aislado se identificó molecularmente mediante una reacción de PCR utilizando cebadores específicos. El ADN total extraído de la fase de levadura se utilizó como molde en las reacciones de PCR para cada par de cebadores específicos de especies candidatos evaluados: *S. brasiliensis*, *S. schenckii* y *S. globosa*. Las reacciones se realizaron de acuerdo a la literatura con pocas modificaciones en un volumen final de 25 µL, incluyendo Buffer 1x PCR, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,4 mM cada dNTPs y 50 U/mL de Platinum Taq DNA Polimerasa; 10 pmol/µL cada uno de cebadores directos e inversos y 100 ng/µL de ADN buscado.

Las condiciones fueron las siguientes: una etapa de desnaturalización inicial de 5 minutos a 95 ° C; seguido de 35 ciclos de 1 minuto a 95° C, 1 minuto a la temperatura de annealing y 1 minuto a 72° C; seguido de un paso final de 10 minutos a 72° C. En el protocolo de toma de contacto, la temperatura de annealing en el primer ciclo fue de 70° C, y posteriormente, la temperatura de annealing se redujo en 1 °C / 2 ciclos durante los siguientes 20 ciclos; finalmente, la PCR se completó con una temperatura de annealing de 60 ° C durante los 15 ciclos restantes.

En resumen, al usar la PCR específica de la especie basada en secuencias del gen

calmodulina de miembros clínicamente relevantes del género *Sporothrix*, el ADN genómico del aislado obtenido del paciente reaccionó exclusivamente con los cebadores específicos de *S. globosa*. Se mostró una única banda clara por electroforesis en gel y detección por UV. No se generó amplificación de ADN con cebadores específicos para *S. brasiliensis* ni *S. schenckii* (Figura 4).

Se concluye con el diagnóstico de esporotricosis cutánea diseminada. pues no presenta ninguna afectación sistémica y es tratada con anfotericina y posteriormente con itraconazol con curación del cuadro al 3er mes (Figura 5).

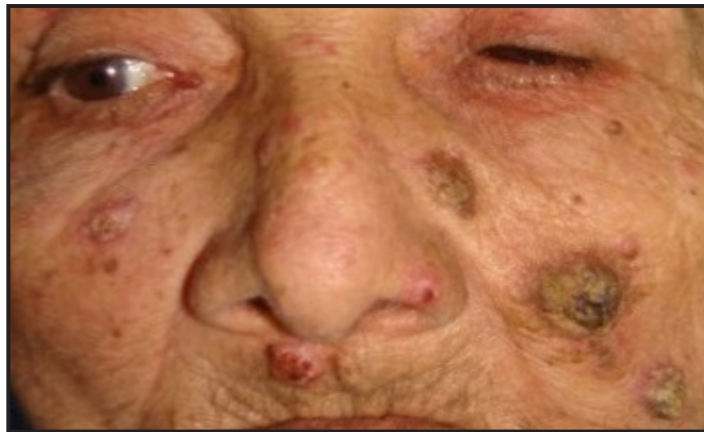


Figura 3. Pápulas y placas ulcerocostrosas y queratósicas en rostro.

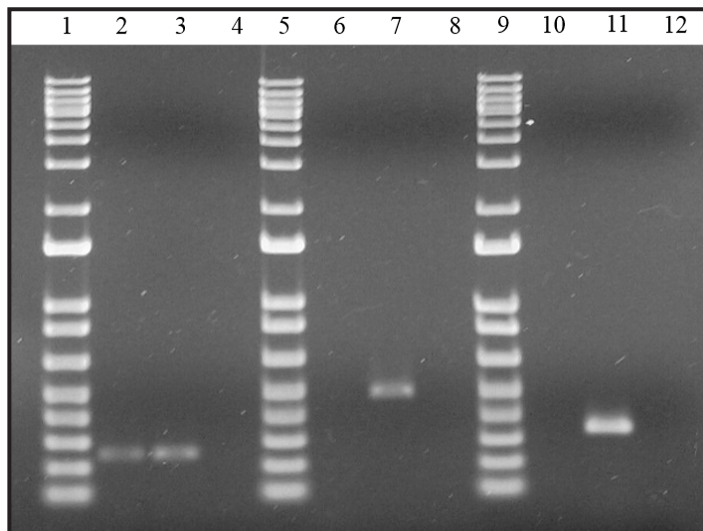


Figura 4. PCR específica de especies de *Sporothrix* spp. (1,5 y 9) Marcador de tamaño molecular, 1 kb. (3) *S. globosa* 27135. (7) *S. brasiliensis* 16490. (11) *S. schenckii*. 36277 (2, 6 y 10) En el caso con cebador específico para *S. globosa*, *S. brasiliensis* y *S. schenckii* respectivamente. (4, 8 y 12). Control negativo.



**Figura 5.** Curación al 3er mes de tratamiento.

## DISCUSION

La esporotricosis presenta varias formas clínicas algunas graves, dependiendo esta evolución de la interacción de varios factores como el estado inmunitario del paciente, de la especie del hongo, de la carga fúngica, de la profundidad del inóculo y de la respuesta terapéutica (13,14).

En inmunocompetentes se presenta las formas fijas y linfangítica y en inmunocomprometidos las formas diseminadas tanto cutánea como sistémica y extracutáneas (13,14). Es lo que se observó en los casos presentados, el primero sin factores conocidos de inmunodepresión presenta una forma linfangítica, mientras el segundo caso con varias comorbilidades la forma diseminada.

Las formas diseminadas son poco frecuentes. Sin embargo, en Rio de Janeiro se describen 24 casos de esporotricosis diseminada producidos por contacto con gatos afectados por esta micosis, demostrando la mayor agresividad del *S. brasiliensis* responsable de estos casos (15).

En estos 2 casos el estado inmunitario del paciente fue el principal factor para la evolución clínica del caso, y fue diferente a lo mencionado en la literatura referente a las especies.

El primer caso fue producido por *S. brasiliensis*, pero el buen estado inmunitario del paciente hizo que presente una forma linfangítica con una respuesta adecuada al yoduro de potasio (16), pues se menciona la mayor resistencia del *S. brasiliensis* a los tratamientos instaurados (12).

En el segundo caso, a pesar de que *S. globosa* es considerada una especie menos agresiva (2,4), el estado inmunitario de la paciente, deprimido por varios factores como los ciclos de corticoides por asma, las interurrencias clínicas como el dengue, la neumopatía y el procedimiento quirúrgico que requirieron antibióticos, ser portadora de artritis reumatoidea y la edad avanzada, hicieron que desarrolle una forma diseminada. Felizmente tuvo una adecuada respuesta al tratamiento primero con anfotericina y consolidado luego con itraconazol (17)

Estos casos clínicos demuestran la importancia fundamental del estado inmunitario del paciente para el desarrollo de la forma clínica.

En cuanto al agente el primer caso fue producido por una especie introducida al país por un animal enfermo traído del Brasil, mientras el segundo es autóctono. La especie más frecuentemente

aislada en series internacionales es *S. schenckii* sensu stricto (7), que aún no hemos registrado.

El primer caso tiene gran importancia en Salud Pública al ser muy frecuente tener gatos domésticos y estos ser muy susceptibles a la esporotricosis, que le produce formas graves generalmente mortales y además se convierten en transmisores por mordidas y arañazos (10,12). Sin embargo, no se produjeron otros casos en gatos o humanos en la zona de procedencia del paciente.

Comunicados estos 2 casos con estudios moleculares, para resaltar la importancia de la determinación de la especie del *Sporothrix* spp y los factores de riesgo asociados por las diferencias señaladas. Es necesario implementar las técnicas moleculares en nuestro medio y ampliar el número de determinaciones de especies en casos de esporotricosis para poder sacar conclusiones definitivas.

#### AGRADECIMIENTOS

- A los Dres. Vanessa Rabello y Rosely Zancopé- Oliveira.
- A la Dra. Florencia Reyes y a la Bioquímica Alejandra Hevia.
- A los Dres. Jesús García y Fabián Aldama.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Lacaz C, Porto E, Costa J. Micología Médica. Sao Paulo: Sarvier; 1984 p.175-188.
2. Arenas R. Micología Médica Ilustrada, 4ª edición. Mexico: Mc Graw Hill; 2011 p.147-158.
3. Aldama A. Dermatología Tropical. Atlas y manejo. Asunción: Visualmente; 2010 p.95-98.
4. Marimon R, Cano J, Gené J, Sutton D, Kawasaki M, Guarro J. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, Three New *Sporothrix* Species of Clinical Interest. J Clinical Microbiol 2007;45: 3198–3206. DOI <https://doi.org/10.1128/JCM.00808-07>.
5. Legarraga P. *Sporothrix schenckii*. Rev Chil Infectol 2016; 33 (5). DOI <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182016000500012>.
6. Marques N, Marques M, Azevedo M, Santos C, Zancopé R, Lima N. Esporotricosis causada por *Sporothrix mexicana*, Portugal. Emerg Infect Dis 2011;17(10):1975–1976.
7. Madrid H, Cano J, Gené J, Bonifaz A, Toriello C, Guarro J. *Sporothrix globosa*, un hongo patógeno con amplia distribución geográfica. Revista Iberoamericana de Micología 2009; 26 (3): 218-222
8. Cruz R, Vieille P, Oschilewski D, Aislamiento ambiental de *Sporothrix globosa* en relación a un caso de esporotricosis linfocutánea. Rev Chilena Infectol 2012; 29 (4): 401-4.
9. Chakrabarti A, Bonifaz A, Gutierrez MC, Mochizuki T, Li S. Global epidemiology of sporotrichosis. Medical Mycology. 2015;53(1):3-14.
10. Gremião IDF, Miranda LHM, Reis EG, Rodrigues AM, Pereira SA. Zoonotic epidemic of sporotrichosis: cat to human transmission. PLoS Pathog. 2017;13(1): e1006077
11. Marimon R, Serena C, Gené J, Cano J, Guarro J Susceptibilidad antifúngica in vitro de cinco especies de *Sporothrix*. Agentes antimicrobianos Chemother . 2008; 52: 732–4
12. Etchecopaz A, Lanza N, Toscanini M, Devoto T, Pola S, Daneri G et al. Sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* in Argentina: Case report, molecular identification and in vitro susceptibility pattern to antifungal drugs. Médicale, April 2020, 100908 <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2019.100908>.
13. Saúl A, Bonifaz A. Clasificación de la esporotricosis. Una propuesta con base en el comportamiento inmunológico. Dermatología Rev Mex 2011; 55 (4):200-208.
14. Bravo T. Esporotricosis, avances recientes en el diagnóstico, histopatología y la epidemiología en México. Rev Latinoamer Patol Clin 2012; 59(3):147-71.
15. Lima M, Oliveira A, Galhardo MC, Schubach TM, dos Reis RS, Conceição MJ, do Valle AC. Sporotrichosis with widespread cutaneous lesions: report of 24 cases related to transmission by domestic cats in Rio de Janeiro, Brazil. Int J Dermatol. 2003; 42(9)

:677-81.

16. Garcia J, Wattiez V, Fornerón L, Aldama A, Gorostiaga G, Rivelli V, Pereira J. Esporotricosis transmitida por gato doméstico. Reporte de un caso familiar. Rev. Del Nacional (Itauguá) 2017; 9 (2): 67-76.
17. Aldama A, Aldama F, Centurión I, Pereira J, Rabello V, Zancopé-Oliveira R. Esporotricosis cutánea diseminada. Rev. Nac. (Itauguá) 2019;11(2):119-132.