



# Cromomicosis por *Rhinocladiella aquaspersa*: descripción del primer caso en Venezuela

Maigualida Pérez-Blanco, G. Fernández-Zeppenfeldt, Rosaura Hernández V, Francisco Yegres y Dante Borelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda (CIB/UNEFM). Coro, Estado Falcón, Venezuela. Apartado Postal 7456. Fax: (068) 516377 - 514882. y

<sup>2</sup>Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela (IMT/UCV). Caracas, Venezuela

## Resumen

Se describe un caso de cromomicosis por *Rhinocladiella aquaspersa*, considerado el primero en Venezuela y quinto en el mundo por ésta especie, en un niño de 5 años, procedente de la Sierra de Falcón, con lesiones de 2 años de evolución, localizadas en miembro superior izquierdo y caracterizada por cicatrices queloidianas, nódulos abscesados, contiguos, de superficie escamocostrosa. La enfermedad fué diagnosticada por la observación de células escleróticas al examen directo de las escamocostros retiradas de las lesiones y aclaradas con hidróxido de potasio al 10%. La identificación de *R. aquaspersa* se realizó mediante su aislamiento en cultivo sobre terrenos de Lactrimel, agar glucosado de Sabouraud y Sablac, evidenciándose el crecimiento lento de colonias aterciopeladas, planas, verdeoscursas; y en cultivo en lámina por la observación de las estructuras de diseminación, caracterizadas por conidióforos erectos, sencillos o ramificados terminando en simpodias de hasta ocho órdenes de conidias rubias, elipsoides o elipsoidal-truncadas y acropleurógenas. Las pruebas de termotolerancia indican una temperatura óptima de crecimiento de 28°C, no se logró reproducir la enfermedad en ratones Balb/c. El paciente presentó respuesta insatisfactoria al itraconazol y mejoría a terapia tópica. Hasta el presente han sido estudiados 370 casos de cromomicosis en el Estado Falcón, detectándose 21 casos en niños, sugiriéndose la existencia de una susceptibilidad a ésta micosis desde la niñez.

## Palabras clave

Cromomicosis, *Rhinocladiella aquaspersa*, Niños, Venezuela

## Chromomycosis by *Rhinocladiella aquaspersa*: The first case in Venezuela

## Summary

A case of chromomycosis induced by *Rhinocladiella aquaspersa* is described in Falcon State, which is considered as the first case in Venezuela, and the fifth one in the whole world of this species of *Rhinocladiella*. The case was observed in a five year-old child from the south part of Falcon State. The child presented wounds of two years of duration, in his upper left limb. These wounds were characterized by keloid scars, and contiguous nodules, with a scaly-scab surface. The disease was diagnosed through direct observation of cells extracted from the wounds and cleared with potassium hydroxide at 10%. The identification of *R. aquaspersa* was made by 1) The isolation in culture, using Lactrimel, Sabouraud-agar and Sablac as culture media; and 2) By observation, in slide culture, of dissemination structures characterized by erect conidiophores which were either simple or branched. The thermo-tolerance test applied indicate an optimum development temperature of 28°C. It was not possible to reproduce the illness in Balb/c mice. The patient showed an unsatisfactory response to Itraconazol medication and improvement to an external local application therapy. Up to the present time, 370 cases of chromomycosis have been studied in Falcon State, with 21 cases in children. This suggests the existence of a susceptibility to this kind of mycosis from childhood.

## Key words

Chromomycosis, *Rhinocladiella aquaspersa*, Children, Venezuela

### Dirección para correspondencia:

Maigualida Pérez-Blanco  
Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad  
Nacional Experimental Francisco de Miranda  
(CIB/UNEFM). Coro, Apartado Postal 7456, Estado  
Falcón, Venezuela  
Fax: (068) 516377 - 514882.

Aceptado para publicación el 1 de octubre de 1997

La cromomicosis es una enfermedad crónica, granulomatosa y supurativa de la piel, generalmente localizada, causada por varias especies de hongos dimórficos de la familia *Dematiaceae*, denominados por Borelli "cromomicetos" [1,2]. En Venezuela, los agentes etiológicos descritos para estas micosis son *Fonsecaea pedrosoi* y *Cladophialophora carrionii*, siendo éste último agente el más frecuentemente aislado y responsable de la endemia de cromomicosis en la zona semiárida del Estado Falcón, en la región noroccidental del país [3,4].

Borelli en 1972, describió una nueva especie, agente de cromomicosis, aislada de un paciente residente en México, que denominó *Acrotheca aquaspersa*; clasificada por Schell, McGinnis y Borelli en 1983 como *Rhinocladiella aquaspersa* [5,6]. Hasta el presente se han conocido otros tres casos, todos en el neotrópico: uno por Ferreira López (Minas Gerais, Brasil) [7], otro por Montero Gei (Costa Rica) y el tercero por Restrepo *et al.* (Medellín, Colombia) (comunicación personal). Este trabajo pretende informar sobre un caso de cromomicosis en un niño, causado por *R. aquaspersa*, caso que consideramos el primero en Venezuela y quinto en el mundo por ésta especie.

**Caso clínico.** Niño de cinco años, procedente del caserío El Tigrito, Santa Cruz de Bucaral, Estado Falcón, área que corresponde a la zona de vida llamada "bosque húmedo premontano" caracterizado por temperatura media anual de 25 °C, humedad relativa media 68%, precipitación anual promedio entre 1.000 y 2.000 mm y altitud 660-1.000 metros [8], quien consultó por presentar una dermatosis desde los tres años de edad, que se inició en hombro izquierdo, evolucionando con cicatrización espontánea de aspecto queloidiana, extendiéndose a cara externa del brazo y caras posterior e interna del codo donde se observan nódulos abscesados, contiguos y de superficie escamocostrosa, apreciándose además, dermatosis en rostro con pitiriasis alba (Figura 1), buen estado general con crecimiento pondoestatural y desarrollo psicomotor acorde para su edad y sexo. Otros órganos y sistemas sin lesiones aparentes. Al interrogatorio no refiere tratamientos previos de su enfermedad actual ni otros antecedentes patológicos. Evaluación laboratorial hemática, renal y hepática dentro de límites normales.



Figura 1. Cromomicosis por *R. aquaspersa* en un niño de cinco años, localizada en miembro superior. Cicatrices queloidianas, nódulos abscesados, contiguos y de superficie escamocostrosa.

El diagnóstico de la enfermedad se realizó mediante la observación microscópica de la forma parasitaria

del agente en las escamo-costras retiradas de las lesiones. El material clínico fue aclarado con hidróxido de potasio al 10%, evidenciándose células escleróticas, de color marrón, en número escaso; estos elementos eran en parte equiseptados, con diámetro de 6-8 µm y su forma no era distinguible de los otros agentes de cromomicosis. Para el aislamiento del hongo se realizó tratamiento de las escamocostras en una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 1 h, seguidamente lavado con agua destilada estéril, a fin de eliminar los hongos contaminantes habituales que impedían aislar el agente [9].

Posterior a este tratamiento, las escamo-costras fueron sembradas según las técnicas de cultivo rutinarias en agar Lactritmel y agar glucosado de Sabouraud [10,11]. Los cultivos se incubaron a la temperatura ambiente del laboratorio (25 °C-28 °C) durante 30 días o más. Se estudió el crecimiento de las colonias a 4, 10, 25, 28, 35, 36, 37, 38 y 40°C. Los caracteres culturales son, en parte, comunes con los de las especies ya conocidas de cromomicetos: crecimiento lento de colonias aterciopeladas, planas, verdeoscursas, micelio fuliginoso, liso y cilíndrico; temperatura de crecimiento desde 10 °C hasta 35 °C inclusive, con una temperatura óptima de 28 °C. El cultivo en láminas, sobre medio Sablac, permitió la identificación de *R. aquaspersa* por la observación de las estructuras de diseminación desde los cinco días de crecimiento, caracterizadas por conidióforos erectos, sencillos o ramificados terminando en simpodias de hasta ocho órdenes de conidias, éstas últimas eran rubias, elipsoides o elipsoido-truncadas, acropleurógenas, de paredes delgadas (Figuras 2 y 3).

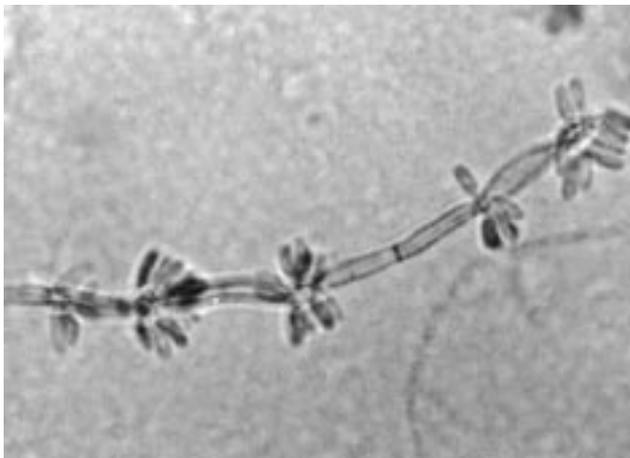


Figura 2. *R. aquaspersa*. Cultivo en lámina: Conidióforos, erectos, septados, con desarrollo acropleurógeno de conidias elipsoidales. Sablac, 30 días, 28 °C (400x).

Se tomó muestra de las lesiones por biopsia previa al tratamiento para estudio histopatológico, la cual fue procesada según las técnicas convencionales. Los cortes histológicos coloreados con hematoxilina y eosina mostraron hiperqueratosis, paraqueratosis, acantosis, papilomatosis y microabscesos ocupados por neutrófilos, granulomas conformados por linfocitos abundantes y plasmocitos e histiocitos escasos, no se logró visualizar células fúngicas.

El paciente recibió itraconazol a dosis de 3-5 mg/Kg/día, vía oral, una vez al día con los alimentos. Se realizaron recuentos hemáticos y pruebas de función hepática-renal previas y durante el tratamiento, observándose una baja efectividad de éste triazol tanto clínica

como al estudio micológico durante 100 días de su administración. Se decidió suspender el itraconazol e iniciar tratamiento combinado: electrocirugía, termoterapia y quimioterapia tópica con 5-fluorouracilo al 1.5%. Este tratamiento continúa con mejoría de las lesiones. Al examen directo de las escamocostras, las células escleróticas se muestran deformadas o ausentes. En cultivos repetidos cada 21 días no se ha aislado nuevamente el agente.



Figura 3. *R. aquaspersa*. Cultivo en lámina: conidióforos sencillos y ramificados con desarrollo de conidias simpodiales. Contraste de fase (400x).

Se realizaron estudios de patogenicidad en ratones Balb/c de diferentes edades a través de tres experimentos [10,12].

Experimento 1523. De un cultivo crecido sobre Lactritmel durante 21 días, una camada de 11 ratones de 8,8 g de peso promedio recibieron en cavidad peritoneal 0,5 ml de una suspensión  $1.000 \times 10^3$  células/ml en buffer fosfato salino 0,2 M pH 7,2. Fué posible examinarlos a los 75 días y no se les encontró lesiones visibles. Sacrificados, tampoco se observaron lesiones en cavidad peritoneal.

Experimento 1524. De un cultivo crecido sobre Lactritmel por tres semanas, una camada de 10 ratones de 12 g de peso promedio recibieron en cavidad peritoneal 0,25 ml de una suspensión  $1.000 \times 10^3$  células/ml en buffer fosfato salino 0,2 M pH 7,2. Los animales no desarrollaron lesiones visibles. Sacrificados por parejas con intervalos de dos semanas, se les encuentran nódulos grisáceos en el peritoneo, contenidos de restos inmodificados del inóculo. El retrocultivo dió positivo hasta los 40 días.

Experimento 1525. De un cultivo crecido sobre Lactritmel durante tres semanas, cuatro ratones de 36 g de peso promedio, fueron inoculados por vía hipodérmica en la raíz de la cola y en la almohadilla plantar con 0,1 ml de una suspensión  $1.000 \times 10^3$  células/ml en buffer fosfato salino 0,2 M pH 7,2. Las lesiones caudales y plantares curaron en menos de 10 días y no aparecieron otras lesiones. Los animales fueron sacrificados, uno a la vez, a los 26, 40, 54 y 70 días. Se encontraron nódulos abdominales grisáceos, cuyo contenido comprendía restos inmodificados del inóculo. Los retrocultivos fueron negativos, excepto los del segundo ratón.

En los últimos 15 años se ha confirmado que la zona semiárida del Estado Falcón es la principal área endémica de cromomicosis en Venezuela y que el agente causal es *C. carrionii*. Se aisló *F. pedrosoi* solo en tres

casos que procedían de la zona subhúmeda [3]. Con el presente reporte suman 370 los casos estudiados en el Estado Falcón, 20 han sido detectados en niños con edades, en el momento de la infección, entre 5 y 11 años; 16 de éstos eran varones, todos procedían de la zona semiárida mencionada, había antecedentes familiares de cromomicosis en 11 casos y lesiones localizadas en los miembros superiores con un diámetro de 4 a 40 mm, recibieron terapia tópica con remisión de la enfermedad [13].

El caso que se describe resultó inusual según lo conocido de cromomicosis en nuestro laboratorio. El lugar de procedencia del paciente, si bien no corresponde a la reservarea de *C. carrionii* (800 mm de lluvia anual o menos), si podría corresponder a la de *F. pedrosoi*; sin embargo, no conocemos de otros casos de cromomicosis en esa región. Llama la atención la edad de infección (tres años), la expresión clínica de la enfermedad con lesiones muy extensas para el tiempo de evolución, la dificultad en el aislamiento del agente causal, aunque se logró en tres ocasiones y la respuesta terapéutica insatisfactoria al itraconazol, droga que los autores han comprobado altamente efectiva en dosis de 100 mg diarios durante un promedio de tres meses en 80 casos de cromomicosis por *C. carrionii* tratados y en un caso por *F. pedrosoi* con más de 20 años de evolución en dosis de 400 mg diarios por dos años [14]. En nuestros laboratorios se han evaluado comparativamente las cinco cepas de *R. aquaspersa* referidas, observándose la correlación existente entre la patogenicidad experimental (y en parte la espontánea), la termofilia y la edad de la cepa después de su aislamiento. Las primeras dos cepas (la cepa tipo, aislada en el laboratorio del Profesor Antonio González Ochoa, México y la cepa recibida del Profesor Cid Ferreira Lopes, Minas Gerais) estudiadas recién aisladas crecieron a 37°C sobre Sablac y en su tiempo mostraron intensa patogenicidad cuando fueron inoculadas a la dermis de voluntario (la cepa tipo) o al peritoneo de ratones (ambas cepas). Nuestra experiencia en patología experimental de cromomicosis nos permite esperar regularmente la transformación a la forma parasitaria parcial o total. Si la inoculación se realiza en animales recién nacidos, esperamos metástasis diseminada con preferencia a la médula ósea. Si la cepa proviene del suelo o ha sido mantenida largamente en colección, la patogenicidad puede ser escasa o aberrante [10,12].

La cepa costarricense, recibida de Fernando Montero Gei, varios años después de aislada, no creció por encima de 35 °C, ni creció en el ratón. La cepa colombiana, aislada por Mirtha Arango y recibida por Angela Restrepo a los cuatro meses de aislada, no creció en el ratón, donde resultó extinguida a los 43 días de inoculada al peritoneo, ésta cepa apenas crecía a 35°C sobre Sablac, la lesión humana de donde había sido aislada estaba limitada al borde del pabellón auricular. La cepa venezolana que estamos describiendo, crece muy escasamente a 35 °C, no crece ni se transforma en el ratón, donde quedó extinguida a los 40 y 54 días (ratones recién nacidos) o entre 54 y los 70 días (ratones adultos), la lesión por ella producida se encontraba en la cara externa del brazo de un niño, no se encontró en la biopsia, allí el parásito era tan escaso que no fué posible su observación. Cabe acotar que Juan Enrique MacKinnon informó *in litteris* que él no había obtenido crecimiento a 37 °C de las primeras dos cepas ni de otra idéntica aislada del suelo, pero él no usaba Sablac sino agar peptoglucosado (llamado vulgarmente medio de Sabouraud).

Con esta descripción se sugiere la existencia de una susceptibilidad a ésta enfermedad desde la niñez. Queda planteada la necesidad de emprender estudios tendientes a caracterizar la interacción hospedador-parásito

descrita parcialmente para la cromomicosis por otras especies etiológicas [15,16], así como determinar la sensibilidad de *R. aquaspersa* a fármacos antimicóticos y el aislamiento de este hongo del ambiente para un mejor conocimiento de su ecología.

A la Licenciada Leyla de Humbria, Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda por la realización de las pruebas hematológicas y hepáticas. Este estudio ha sido parcialmente financiado por Fundacite Falcón S296-038.

## Bibliografía

- Borelli D. Causal agents of chromoblastomycosis (chromomycetes). Proc V Int Cong Mycoses, PAHO Scientific Publications 1980; 396: 334-335.
- Borelli D. *Taeniolella boppii*, nova species agente de cromomicosis. Med Cut ILA 1983; 11: 227-232
- Richard-Yegres N, Yegres F, Zeppenfeldt G. Cromomicosis: endemia rural, laboral y familiar en Venezuela. Rev Iberoam Micol 1992; 9: 38-41.
- Hoog GS, Guého E, Masclaux F, Gerrits Van Den Ende A, Kwon-Chung K, McGinnis M. Nutritional physiology and taxonomy of human-pathogenic *Cladosporium-Xylohypha* species. J Med Vet Mycol 1995; 33: 339-347.
- Borelli D. *Acrotheca aquaspersa* nova species agente de cromomicosis. Acta Cient Venez 1972; 23: 193-196.
- Schell W, Willey A, McGinnis M, Borelli D. *Rhinocladiella aquaspersa*. A nova combination for *Acrotheca aquaspersa*. Mycotaxon 1983; 17: 341-348.
- Da Silva Lacaz C, Porto E, Costa Martins J. Dermatitis verrucosa cromoparasitaria (cromomicose). En: Da Silva Lacaz C (Ed.) Micología Médica. Sao Paulo, Sarvier, 1984; 275-285.
- Tamayo F. Fitogeografía de Venezuela en Mapas. Dirección de Cartografía Nacional, Ministerio de Agricultura y de los Recursos Renovables 1983: 30-31.
- Zeppenfeldt G, Richard-Yegres N, Yegres F, Hernández R. *Cladosporium carrionii*: hongo dimórfico en cactáceas de la zona endémica para la cromomicosis en Venezuela. Rev Iberoam Micol 1994; 11: 61-63.
- Borelli D. Cromomicosis: diagnóstico y tratamiento. XIII Jornadas Nacionales de Microbiología. Coro, 1983: 60-79.
- Borelli D. Medios caseros para micología. Arch Venez Med Trop Parasit Méd 1962; 4: 301-310.
- Borelli D. A method for producing chromomycosis in mice. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1972; 66: 793-794.
- Richard-Yegres N, Yegres F, Pérez-Blanco M, Zeppenfeldt G. Cromomicosis en niños de la zona semiárida del Estado Falcón. XXVIII Reunión Anual Sociedad Venezolana de Dermatología. Maracaibo. 1992: 76-77.
- Pérez-Blanco M, Yegres F, Richard-Yegres N, Humbria L, Hernández R, Zeppenfeldt G. Itraconazol: eficacia en cromomicosis por *Cladosporium carrionii*. Derma Venez 1994; 1: 13-16
- Esterre P, Lortat-Jacob H, Sainte-Marie D, Pradinaud R, Grimaud J. The potential role of cytokines in the immunopathology of chromomycosis. J Mycol Méd 1994; 4: 145-148.
- Sanchez-Mirt A, Pérez-Blanco M, Caleira E, Rangel O. Histopatología y ultraestructura de la cromomicosis causada por *Cladosporium carrionii*. Invest Clin 1995; 36: 173-182.