



# Aislamiento de *Sporothrix schenckii* del medio ambiente en Venezuela

Mireya Mendoza, Elvia Diaz, Primavera Alvarado, Efrén Romero y María Cecilia Bastardo de Albornoz

Laboratorio de Micología, Instituto de Biomedicina. Apartado Postal 4043, Caracas 1010A, Venezuela

**Resumen** El hongo dimorfo *Sporothrix schenckii* es el agente causal de la esporotricosis, micosis subcutánea frecuente en América Latina. El aislamiento de este hongo del medio ambiente y de otras fuentes ha sido descrito. Hasta donde tenemos conocimiento, no se tienen publicaciones de su aislamiento de las regiones endémicas del territorio venezolano. En el presente trabajo, un caso clínico de esporotricosis en Colonia Tovar, producido por traumatismo después de manipulación de tierra, permitió el aislamiento del hongo del suelo, siendo este el primer caso documentado en Venezuela de aislamiento de *S. schenckii* del medio ambiente de un área endémica.

**Palabras clave** *Sporothrix schenckii*, Aislamiento, Medio ambiente, Esporotricosis, Área endémica

## Isolation of *Sporothrix schenckii* from environmental samples in Venezuela

**Summary** The dimorphic fungus *Sporothrix schenckii* is the etiological agent of sporotrichosis, a subcutaneous mycosis frequently found in Latin America. The isolation of this fungus from the environment and other sources has been widely reported. Nevertheless, to our knowledge this fungus has not been isolated from the endemic areas of Venezuela. In studies related to a clinical case of sporotrichosis in "Colonia Tovar", produced by traumatism after manipulating soil samples, the fungus was isolated from the soil of that particular area. This is the first report of the isolation of *S. schenckii* from environmental sources in an endemic area of Venezuela.

**Key words** *Sporothrix schenckii*, Isolation, Environment, Sporotrichosis, Endemic area

*Sporothrix schenckii* es un hongo dimorfo, que se desarrolla en la tierra, restos vegetales y plantas [12,16]. Es el agente causal de la esporotricosis, micosis subcutánea del hombre y otros mamíferos [14,15], frecuente en América Latina, donde prevalece un clima tropical, con suelos de alto contenido orgánico y temperaturas máximas de 31 °C [15]. Afecta principalmente a granjeros, agricultores y veterinarios [2,5]. En cuanto al aislamiento de *S. schenckii* del medio ambiente y de otras fuentes, existen varios trabajos en la literatura [7,12,13]. Sin embargo, no tenemos conocimiento, hasta la fecha, de ningún hallazgo

en la zona de Colonia Tovar o en otras regiones endémicas del territorio venezolano. Orientados por un caso clínico de esporotricosis, se realizó por primera vez el aislamiento del hongo del medio ambiente de un área de Venezuela.

Se trataba de una mujer de 51 años, raza blanca, que residía en Colonia Tovar, Estado Aragua, pueblo montañoso ubicado a 60 km al suroeste de Caracas, que presentaba una lesión granulomatosa en el dedo índice de la mano derecha, de 2 cm x 1 cm de diámetro, no dolorosa, producida por un traumatismo durante la preparación de tierras para fertilización. Se llevó a cabo el estudio micológico y las pruebas intradérmicas con esporotriquina [6] y leishmanina [4]. La paciente presentó una reacción positiva sólo a la esporotriquina de 10 mm x 15 mm de inducción. Esta prueba es positiva en el 98% de los pacientes con esporotricosis, y es uno de los mejores métodos para orientar al diagnóstico [1]. El tratamiento con yoduros logró una remisión completa de la lesión. El aislamiento del hongo no fue posible por contaminación del cultivo.

Se procedió a la recolección de dos muestras (200 g) de tierra, abonada y no abonada, del sitio donde la paciente preparaba la tierra. Estas fueron transportadas al laboratorio para su procesamiento, empleándose para su análisis los métodos directo e indirecto descritos por Mackinnon y cols. [12].

Se utilizaron cinco tubos de ensayo de 20 cm x 2,2 cm para cada muestra. Se adicionó a cada uno 5 g de muestra de tierra, con y sin abono, por separado, 25 ml de solución

### Dirección para correspondencia:

Dra. Mireya Mendoza  
Instituto de Biomedicina  
Laboratorio de Micología  
San Nicolás a Providencia  
Área Hospital Vargas, San José  
Caracas, Venezuela  
Tel.: (+58) 212 8624630  
Fax: (+58) 212 8611258/ 8619593  
E-mail: mmendoza@movistar.net.ve

Aceptado para publicación el 20 de abril de 2007

©2007 Revista Iberoamericana de Micología  
Apdo. 699, E-48080 Bilbao (Spain)  
1130-1406/01/10.00 €

salina con cloranfenicol, con concentración de 150 mg/l, y 3 g de perlas de vidrio estériles. Los tubos fueron agitados durante 1 min en vórtex, y se dejaron reposar durante 20 min. Los sobrenadantes de cada muestra fueron procesados.

**Aislamiento del hongo por método directo.** Del sobrenadante de cada tubo se sembraron diez placas de Petri conteniendo medio Mycosel® (Himedia Laboratorios, Mumbai-India), a razón de 0,5 ml/placa. Estas se incubaron a temperatura ambiente, controlando a diario, y bajo lupa, el crecimiento. Las colonias con características macroscópicas compatibles con *S. schenckii* fueron examinadas microscópicamente con tinción de azul de lactofenol y subcultivadas.

De las 100 placas evaluadas se obtuvieron dos colonias (S1 y S2) compatibles con *S. schenckii* de las tierras con abono, y una (S3) de las tierras sin abono. Las placas presentaron colonias de color crema, que posteriormente se tornaron marrón en su centro. Al microscopio se observaron hifas delgadas, hialinas, septadas y ramificadas con abundantes conidias redondas y ovals dispuestas a lo largo de la hifa y en cúmulos en la región terminal del conidióforo de tipo simpodial.

**Aislamiento del hongo por método indirecto.** Bajo aprobación del Comité de Ética, 0,5 ml de cada sobrenadante fue inoculado en cuatro ratones machos Balb/c, por vía intraperitoneal. Se sacrificaron a partir del día 30, con remoción y siembra del hígado, bazo y pulmón en placas de Petri con medio Mycosel®.

De 40 ratones examinados, se logró aislar una colonia (S4) a partir del bazo de un ratón inoculado con tierras abonadas. El cultivo mostró un color marrón oscuro, al microscopio de luz, hifas delgadas hialinas septadas y ramificadas, con abundantes conidias pigmentadas dispuestas a lo largo de las hifas, y en forma de rosetas en el tope de la célula conidiógena.

Para la reversión a levadura, los aislamientos S1, S2, S3 obtenidos y un aislamiento control (nº 9862) de *S. schenckii*, de un paciente diagnosticado en el Laboratorio de Micología, Instituto de Biomedicina, fueron sembrados en medio Sabouraud tiamina-asparagina, e incubados a 35 °C. Se llevaron a cabo de tres a cuatro subcultivos hasta obtener un 95-99% de reversión. Los cultivos mostraron colonias de aspecto pastoso color crema. Al microscopio se observaron levaduras redondas, ovals y las típicas formas alargadas de "cigarro". El aislamiento obtenido del ratón también mostró reversión.

Para la producción de exoantígenos específicos, los cultivos problema y el control, fueron evaluados por el método de Kaufman y Standard [9]. Los aislamientos se sembraron en placas de Petri con medio Sabouraud dextrosa agar, incubando durante 10 días. Posteriormente, cada cultivo fue cubierto con solución salina estéril, dejándose en plataforma de agitación durante 30 min. El sobrenadante fue filtrado a través de filtro millipore® (Millipore Corporation, Massachussets, USA), obteniéndose los extractos antigénicos. Estos se ensayaron por inmunodifusión doble con un suero de paciente de esporotricosis. Los aislamientos problema y el aislamiento control presentaron líneas de precipitación frente al suero de paciente de esporotricosis (Figura).

Por otra parte, los cultivos sospechosos y el control, fueron inoculados en ratones Balb/c (10<sup>4</sup> conidias/ml), por vía testicular. A los 20 días post-inoculación no se observó inflamación significativa de los testículos, posiblemente por ineficiencia del inóculo. Los ratones se sacrificaron, y se procedió a la remoción y procesamiento de los testículos para la siembra en medio Sabouraud-dextrosa agar, y se logró el aislamiento de colonias oscuras compatibles con *S. schenckii* en todos los casos.

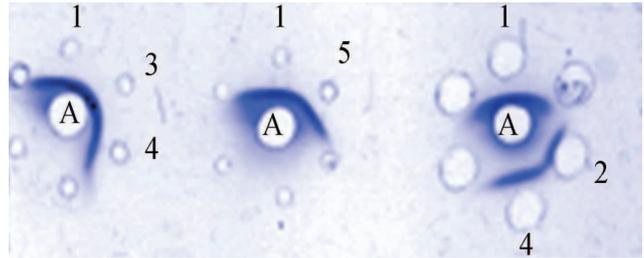


Figura. Prueba de exoantígenos con los aislamientos de *Sporothrix schenckii* obtenidos del ambiente.

1. Antígeno control de *Sporothrix schenckii*.

2. Exoantígeno control de *Sporothrix schenckii*, aislamiento de paciente (9862).

3. Exoantígeno de *Sporothrix schenckii* aislado de ambiente (S1).

4. Exoantígeno de *Sporothrix schenckii* aislado de ambiente (S2).

5. Exoantígeno de *Sporothrix schenckii* aislado de ambiente (S3).

A. Suero de paciente con esporotricosis.

En Venezuela la esporotricosis constituye la micosis subcutánea de mayor incidencia en el área urbana. Las zonas más afectadas son los estados centrales, Mérida, San Cristóbal y Bolívar [1]. Entre los estados centrales tenemos el estado Aragua, donde se encuentra el pueblo de Colonia Tovar, que tiene una altitud de 1.800 m sobre el nivel del mar, temperaturas entre 14 °C y 21 °C, humedad relativa del 58% y vegetación predominante de bosque nublado en las zonas altas. Las condiciones geográficas y climáticas de esta región son favorables para el desarrollo del hongo [10,11]. Además, el grupo más frecuente de la población son agricultores, lo cual concuerda con la alta incidencia de casos de esporotricosis, hasta diez casos por año en esa región y entre tres y siete casos a nivel nacional [3]. Sin embargo, no se ha documentado el aislamiento del hongo del medio ambiente en este pueblo, ni en otras zonas endémicas de esporotricosis en Venezuela. Solo se tiene conocimiento de un aislamiento ambiental a partir de una planta procedente de bosque xerófilo de espinar en una zona semi árida del estado Falcón [8], región que presenta una temperatura anual superior a 24 °C y precipitaciones hasta 800 mm anuales, siendo la zona de mayor endemidad de cromoblastomicosis en nuestro país [18]. Este hallazgo no ha podido ser repetido. De ahí nuestro interés de intentar el aislamiento de *S. schenckii* de la zona endémica de Colonia Tovar, orientándonos por un caso clínico de esporotricosis en dicho lugar.

En este estudio, el método directo fue más efectivo para el aislamiento del hongo del medio ambiente, obteniéndose tres aislamientos, y solo uno por el método indirecto, este último con la ventaja de aislarse en cultivo puro. La baja eficiencia de aislamiento en el ratón pudo estar relacionada con el grado de contaminación microbiológica de la muestra.

En este trabajo, el aislamiento de *S. schenckii* de tierras del pueblo de Colonia Tovar, relacionado con un caso clínico de esporotricosis cutánea fija, nos permite confirmar por primera vez en Venezuela la presencia del hongo en muestras del medio ambiente de un área endémica, lo cual da base para futuros estudios epidemiológicos tanto de esa zona como de otras de características similares.

Agradecemos al personal del Centro Clínico de la Colonia Tovar, Estado Aragua-Venezuela y al del Bioterio del Instituto de Biomedicina por su disponibilidad y colaboración en este trabajo.

## Bibliografía

1. Albornoz MB de. Esporotricosis. En: Albornoz MB de (Ed.) Temas de Micología Médica. Caracas, ELALCA, 1996: 103-128.
2. Bernardes EAR, Orofino CRC, Miguens BP, Penha CVL, Neves E, Pereira BAS, Dias CMP, Mattos M, Gutierrez MC, Schubach A, Oliveira NMP, Lazera M, Lopez BLM. Development of an enzyme linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of several clinical forms of sporotrichosis. *Med Mycol* 2005; 43: 487-493.
3. Boletín Informativo Las Micosis en Venezuela, No. 37-38 Año XVII-XVIII, Año 2004-2005. Casuística 2002-2003, pág. 8 y 9.
4. Convit J, Ulrich M, Aranzazu N, Castellanos PL, Pinardi ME, Reyes O. The development of a vaccination model using two microorganisms and its application in leprosy and leishmaniasis. *Leprosy Review* 1986; 57: 263-273.
5. Dixon D, Salkin R., Duncan A., Hurd J, Haines J, Kemna, Coles F. Isolation and characterization of *Sporothrix schenckii* from clinical and environmental sources associated with the largest U.S. epidemic of sporotrichosis. *J Clin Microbiol.* 1991; 29: 1106-1113.
6. Fava Netto C, Salcedo VV, Melo SI, Brazil GD. Antígeno polisacarídico do *Paracoccidioides brasiliensis* estude do tempe de cultivo do *P. brasiliensis*, necessário ao preparo do antígeno. *Rev Inst Méd trop São Paulo* 1969; 11: 177-181.
7. Hernández-Hernández F, Ramírez GA, Espinosa TA, Romo LY. Morphological and genetic identification of nature *Sporothrix schenckii* strains. Abstract P0657, The 16<sup>th</sup> Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. Paris, 2006.
8. De Hoog GS, Queiroz-Telles F, Haase G, Fernandez-Zeppenfeldt G, Attili Angelis D, Gerrits Van Den Ende AH, Matos T, Peltroche-Llacsahuanga H, Pizzirani-Kleiner AA, Rainer J, Richard-Yegres N, Vicente V, Yegres F. Black fungi: clinical and pathogenic approaches. *Med Mycol* 2000; 38 (Suppl 1): 243-250.
9. Kaufman L, Standard P. Improved version of the exoantigen test for identification of *Coccidioides immitis* and *Histoplasma capsulatum* cultures. *J Clin Microbiol* 1978; 8: 42-45.
10. Mackinnon JE, Conti-Díaz IA. The effect of temperature on sporotrichosis. *Sabouraudia* 1962; 2: 56-59.
11. Mackinnon JE, Conti-Díaz IA, Yarzabal LA. Experimental sporotrichosis, ambient temperature and amphotericin B. *Sabouraudia* 1964; 3: 192-194.
12. Mackinnon JE, Conti-Díaz IA, Gezuele E, Civilia E, Da Luz S. Isolation of *Sporothrix schenckii* from nature and considerations on its pathogenicity and ecology. *Sabouraudia* 1969; 7: 138-145.
13. Mesa AAC, Reyes MMR, Pérez MA, Navarro BH, Souza V, Zuñiga G, Toriello C. Phenotyping and genotyping of isolates according to geographic origin and clinical form of sporotrichosis. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3004-3011.
14. Nakamura Y, Sao H, Takahashi H, Koide K, Hasegawa A. *Sporothrix schenckii* isolated from a cat in Japan. *Mycoses* 1996; 39: 125-128.
15. Noriega CT, Rivera GR, Sabanero G, Trejo BR, Sabanero LM. *Sporothrix schenckii*: cultivos en diferentes suelos. *Rev Lat Amer Microbiol* 1993; 35: 191-194.
16. Rodríguez JV, Gamboa A. Algunas observaciones sobre la viabilidad de esporas de *Sporothrix schenckii* en muestras de tierras. *Rev Iberoam Micol* 1991; 8: 99-103.
17. Schubach TM, de Oliveira Schubach A, dos Reis RS, Cuzzi-Maya T, Blanco TC, Monteiro DF, Barros BM, Brustein R, Zancoppe-Oliveira RM, Fialho Monteiro PC, Wanke B. *Sporothrix schenckii* isolated from domestic cats with and without sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Mycopathologia* 2002; 153: 83-86.
18. Yegres FJ, Yegres NR de, Pérez BM. Cromomicosis. En: Albornoz MCB de (Ed.) Temas de Micología Médica. Caracas, ELALCA, 1996: 87-102.