

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA (UCR)

SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO



ESPOROTRICOSIS: ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO

**Trabajo Final de Graduación sometido a la consideración de la Comisión del
Programa de Estudios en Especialidades en Microbiología para optar por el grado y
título de Especialista en Micología Médica**

Ángelo Rivera Barquero

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2021

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

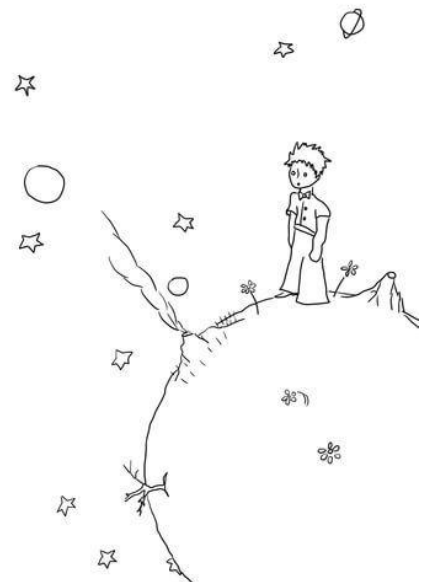
A Dios por la maravillosa vida que me tocó vivir

A mis padres por su incondicionalidad

A mis profesores por sus valiosas enseñanzas

“Adieu, dit le renard. Voici mon secret. Il est très simple: on ne voit bien qu’avec le cœur.
L’essentiel est invisible pour les yeux.”

Antoine de Saint-Exupéry, Le Petit Prince



**SISTEMA DE ESTUDIOS EN POSGRADO
PROGRAMA DE POSGRADO EN ESPECIALIDADES EN MICROBIOLOGÍA****ACTA-68-2021****Acta presentación de Requisito Final de Graduación Trabajo de Investigación**

Sesión del Tribunal Examinador celebrada el viernes 20 de agosto del 2021 con el objeto de recibir el informe oral del estudiante Ángel Rivera Barquero carné # A03499, quien se acoge al Reglamento General del Sistema de Estudios de Posgrado para presentar el Trabajo Final de Graduación, para optar por el grado académico de **Especialista en Micología Médica**. Están presentes los siguientes miembros del Tribunal Examinador: Stefany Lozada Alvarado, MSc., quien preside y tutora, Ingrid Salas Campos, MSc. y Daniela Jaikel Víquez, MSc., lectoras.

ARTICULO 1

Quien preside solicita al postulante realizar la presentación oral de su Trabajo de Investigación titulado: **“Esporotricosis: Estado actual del conocimiento”**

ARTICULO 2

Terminada la disertación, los miembros del Tribunal Examinador interrogan al postulante durante el tiempo reglamentario y, una vez concluido el interrogatorio, el Tribunal se retira a deliberar.

ARTICULO 3

El Tribunal Examinador declara el Trabajo Final de Graduación: Aprobado

☒

Reprobado

☐**ARTICULO 4**

Se da lectura al acta que firman los miembros del Tribunal Examinador y el Postulante, a las 17:30 horas.

Nombre	Firma	No. Cédula
Stefany Lozada Alvarado, MSc. Quien preside	BETTY STEFANY LOZADA ALVARADO (FIRMA) Firmado digitalmente por BETTY STEFANY LOZADA ALVARADO (FIRMA) Fecha: 2021.08.26 14:17:18 -06'00'	801340333
Ingrid Salas Campos, MSc.	INGRID SALAS CAMPOS (FIRMA) Firmado digitalmente por INGRID SALAS CAMPOS (FIRMA) Fecha: 2021.08.26 17:13:21 -06'00'	401380332
Daniela Jaikel Víquez, MSc.	DANIELA JAIKEL VIQUEZ (FIRMA) Firmado digitalmente por DANIELA JAIKEL VIQUEZ (FIRMA) Fecha: 2021.08.27 06:10:39 -06'00'	111830673
Ángelo Rivera Barquero Estudiante	ANGELO RIVERA BARQUERO (FIRMA) Firmado digitalmente por ANGELO RIVERA BARQUERO (FIRMA) Fecha: 2021.08.27 21:04:58 -06'00'	303780215

Observaciones: El tribunal acuerda conceder mención de honor al trabajo

Nota: Solamente firmarán el acta los responsables de la actividad descrita

Si el trabajo es merecedor de mención de honor anotar en observaciones

TABLA DE CONTENIDOS

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS	ii
HOJA DE ACEPTACION	
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Definición	1
1.2 Sinonimia.....	1
1.3 Historia	1
2. ETIOLOGÍA.....	3
2.1 Descripción del agente etiológico	3
2.2 Clasificación taxonómica y aspectos genéticos.....	3
2.3 Otros aspectos (dimorfismo)	5
3. ECOLOGÍA.....	6
4 EPIDEMIOLOGÍA.....	7
4.1 Distribución geográfica	7
4.2 Fuente de infección y vía de entrada.....	11
4.3 Sexo y edad	12
4.4 Periodo de incubación.....	13
4.5 Factores predisponentes.....	13
5 PATOGÉNESIS	15
5.1 Historia natural de la enfermedad	15
5.2 Factores de virulencia	17
5.2.1. Cambios morfológicos.....	19
5.2.2. Pared celular	20
5.2.3. Termotolerancia.....	23
5.2.4. Melanina	23
5.2.5. Adhesión a células del hospedero	28

5.2.6. Adquisición de Nutrientes.....	29
5.2.7. Biopelículas	32
5.2.8. Respuesta ante condiciones de estrés.....	33
5.2.9 Daño directo al hospedero.....	34
5.2.10. Toxinas y metabolitos secundarios	34
5.2.11. Vesículas extracelulares	34
5.2.12. Secreción de hidrolasas.....	35
6. RESPUESTA INMUNE	38
6.1 Mecanismos de respuesta inmune mediadas por células	39
6.2 Mecanismos inmunes de respuesta humoral.....	47
6.3 Evasión de la respuesta inmune.....	48
6.3.1 Inhibición de la fagocitosis.....	48
6.3.2. Producción de proteasas.....	49
6.3.3 Inmunosupresión transitoria.....	49
6.3.4. Liberación de exoantígenos	50
6.4. Inmunizaciones (vacunas)	50
7. MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	56
7.1 Esporotricosis Linfocutánea	57
7.2 Esporotricosis Cutánea Fija	58
7.3 Esporotricosis Cutánea Diseminada (forma hematológica)	60
7.4 Esporotricosis Sistémica.....	61
7.5 Esporotricosis Osteoarticular	61
7.6 Esporotricosis Pulmonar	62
7.7Esporotricosis Meníngea.....	63
7.7 Manifestaciones de hipersensibilidad y Síndrome inflamatorio de Reconstitución Inmune .	64
8. ASPECTOS VETERINARIOS	67
9. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL.....	69
10 DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.....	70
10.1 Diagnóstico micológico	70
10.2 Histopatológico	75
10.3 Otros métodos diagnósticos	79
10.3.1 Pruebas serológicos	79
10.3.2 Pruebas moleculares	80

10.3.3 Inmunofluorescencia indirecta	84
10.3.4 Espectrometría de masas.....	84
10.3.5 Esporotricina	84
11 TRATAMIENTO	86
11.1 Yoduro de Potasio (KI).....	86
11.2 Termoterapia	87
11.3 Antimicóticos	88
11.3.1. Tratamiento de la esporotricosis cutáneo fija y linfocutánea	90
11.3.2. Tratamiento para esporotricosis pulmonar	90
11.3.3. Tratamiento de la esporotricosis osteoarticular.....	90
11.3.4. Tratamiento de la esporotricosis meníngea	91
11.3.5. Tratamiento de esporotricosis en embarazadas y niños	91
12 MODELOS DE INFECCIÓN	92
13. CONCLUSIONES	93
14. REFERENCIAS.....	95

RESUMEN

La esporotricosis, es una enfermedad cosmopolita causada por especies del complejo dimorfo *Sporothrix schenckii*, sin embargo, se presenta con predominio en la franja intertropical. La esporotricosis es la micosis subcutánea que ocupa el primer lugar de acuerdo a su frecuencia en Costa Rica, particularmente por las especies *S. schenckii* y *Sporothrix globosa* (Rodríguez, 1992; Lozada, 2018 y Lozada *et al.*, 2020)

La infección se presenta por inoculación traumática con material contaminado con el hongo. Por tanto, algunos oficios se han relacionado como factores predisponentes, como: campesinos, cazadores, alfareros y trabajadores de la construcción, entre otros. Además, pueden presentarse formas pulmonares por inhalación del hongo y formas zoonóticas, especialmente relacionadas a *Sporothrix brasiliensis* (Padilla, Siordia, Novales, 2007; Carrada, 2012b; Martínez *et al.*; 2013; Campos *et al.*; 2016).

El complejo *S. schenckii* posee una amplia gama de factores de virulencia como la producción de melanina, composición de pared, termotolerancia, moléculas para la adhesión a las células, mecanismos de adquisición de nutrientes, así como la adaptación morfológica (dimorfismo), formación de biopelículas, producción de hidrolasas ante la respuesta del sistema inmune y el desprendimiento de pared fúngica (fenómeno de Shedding) (Garrison y Mirikitani, 1983 y Tamez *et al.*; 2020).

Este hongo al cruzar las barreras primarias del sistema inmune, va a activar una respuesta inmune celular innata asociada al reconocimiento de los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). En una segunda etapa, se presenta una respuesta mixta Th1/Th17 protectora (García, Lozoya, González, y Martínez, 2018). Usualmente, su forma clínica está restringida a la piel, en el tejido celular subcutáneo con o sin diseminación linfática, pero es posible que evolucione a formas diseminadas en pacientes con inmunodeficiencias (Saúl y Bonifaz, 2011).

El diagnóstico de esporotricosis es por medio del cultivo del agente causal, pero se puede apoyar por métodos inmunológicos, histopatológicos y moleculares. Algunos tratamientos que han dado buenos resultados, especialmente para las formas cutáneas y linfáticas son el yoduro de potasio y la termoterapia, sin embargo, el tratamiento de primera elección es el itraconazol, por otro lado, para las formas diseminadas tales como la osteoarticular, pulmonar y meníngea se recomienda administrar anfotericina B (Pavón, Bonifaz y Ponce, 2007 y Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007).

ABSTRACT

Sporotrichosis is a cosmopolitan disease caused by dimorphic fungal species of the *Sporothrix schenckii* complex. However, this mycosis occurs predominantly in tropical and subtropical areas. It is the most frequent subcutaneous mycosis in Costa Rica, particularly caused by *S. schenckii* and *S. globosa* (Rodríguez, 1992; Lozada, 2018 and Lozada *et al.*, 2020).

The infection occurs by traumatic inoculation with organic materials contaminated with the fungus. Therefore, some occupations have been described as predisposing factors, such as: farmers, hunters, potters, and construction workers, among others. In addition, pulmonary forms can occur after inhalation of the fungus and zoonotic infection has been related to *S. brasiliensis* (Padilla, Siordia, Novales, 2007; Carrada, 2012b, Martínez *et al.*; 2013 and Campos *et al.*; 2016). *Sporothrix* spp. has a wide range of virulence factors such as melanin production, wall composition, thermotolerance, molecules for adhesion to cells, nutrient acquisition mechanisms, as well as morphological adaptation (dimorphism), biofilm formation, production of hydrolases against the hosts immune system and the detachment of the fungus wall (Shedding phenomenon) (Garrison and Mirikitani, 1983 and Tamez *et al.*; 2020).

By crossing the primary barriers of the immune system, this fungus will activate an innate cellular immune response associated with the recognition of molecular patterns associated with pathogens (PAMPs). In a second stage, a protective mixed Th1 / Th17 response is presented (Garcia, Lozoya, González, & Martínez, 2018). Usually, its clinical form is restricted to the skin, in the subcutaneous cellular tissue with or without lymphatic dissemination, but it is possible to evolve into systemic or disseminated forms, especially in patients with immunodeficiencies (Saúl and Bonifaz, 2011).

The Gold Standard for diagnosis of sporotrichosis is the culture of the fungus and it can be supported by immunological, histopathological, and molecular methods. Some treatments that have given good results, especially for the cutaneous and lymphatic forms are Potassium Iodide and thermotherapy; however, the first choice for treatment is Itraconazole. On the other hand, for disseminated forms such as osteoarticular, pulmonary and meningeal it is recommended to administer Amphotericin B (Pavón, Bonifaz and Ponce, 2007 and Kauffman, Bustamante, Chapman, and Pappas, 2007).

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1: Casos de esporotricosis humana, reportados en la literatura, utilizados para esta revisión	8
Cuadro 2: Clasificación de la esporotricosis según comportamiento inmunológico	16
Cuadro 3: Efecto de la melanina sobre el sistema inmune.....	26
Cuadro 4: Dimorfismo de <i>S. schenckii</i> según tipo de nutrientes en diferentes medios de cultivo ..	30
Cuadro 5: Efecto de la Dectina-1 en <i>S. schenckii</i> y <i>S. brasiliensis</i> según su morfotipo, correlacionado con el porcentaje de glucosa en su pared.....	44
Cuadro 6: Resumen de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) reconocidos por RRP's en <i>Sporothrix</i> spp.	46
Cuadro 7: Perfil de especificidad de anticuerpos de pacientes con esporotricosis.....	52
Cuadro 8: Diagnósticos diferenciales de los cuadros clínicos de esporotricosis	69
Cuadro 9: Caracterización diferencial de algunas especies del complejo <i>S. schenckii</i>	74
Cuadro 10: Estudios moleculares para la identificación de	80
Cuadro 11: Imprimadores más frecuentes utilizados para la identificación de	81
Cuadro 12: Patrones de susceptibilidad <i>in vitro</i> de <i>Sporothrix</i> spp. ante diferentes antifúngicos de uso frecuente en el tratamiento de la esporotricosis.....	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Prevalencia mundial de la esporotricosis.....	8
Figura 2: Diagrama de hipótesis de la evolución de especies ancestrales de <i>S. schenckii</i> , <i>S. globosa</i> y <i>S. brasiliensis</i>	19
Figura 3: Modelo hipotético de pared celular para los hongos patógenos dimórficos <i>S. schenckii</i> y <i>S. brasiliensis</i>	21
Figura 4: Desprendimiento de “material capsular” de <i>S. schenckii</i> o Fenómeno de “Shedding”	22
Figura 5: Vía metabólica para la producción de Melanina a partir de L-DOPA	24
Figura 6: Vía metabólica para la producción de DHN-Melanina.....	25
Figura 7: Melanina en <i>S. schenckii</i>	26
Figura 8: Biopelículas de <i>S. schenckii</i>	32
Figura 9: Respuesta inmune del hospedero contra <i>Sporothrix</i> spp.....	38
Figura 10: Ulceración dorsal de los miembros inferiores de ratones no inmunizados y preinmunizados con gp60.....	54
Figura 11: Presentación clínica de la esporotricosis linfocutánea	57
Figura 12: Presentación clínica de la esporotricosis cutánea	59
Figura 13: Presentación clínica de la esporotricosis cutánea superficial.....	59
Figura 14: Forma clínica de la esporotricosis cutánea diseminada	60
Figura 15: Presentación de caso clínico de eritema nodoso relacionado con <i>Sporothrix</i> spp.....	65
Figura 16: Tomografía de senos paranasales, presentación clínica Enfermedad sinusal primaria por esporotricosis.....	66
Figura 17: Lesiones de esporotricosis cutánea en gatos.....	67
Figura 18: Características microscópicas de la forma micelial de <i>Sporothrix</i> spp.	71
Figura 19: Radulosporas de <i>Sporothrix</i> spp	72
Figura 20: Variedad morfológica de las colonias del complejo <i>Sporothrix</i> spp.	73
Figura 21: Esporotricosis en tejido, tinción de Grocott	75
Figura 22: Cuerpo asteroide esporotricósico.....	77
Figura 23: Métodos moleculares para identificación y epidemiología molecular.....	83

LISTA DE ABREVIATURAS

AFLP: Polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ARN: Ácido ribonucleico

Ca: Calcio

CAE: Cuerpo asteroide esporotricósico

CAL: Calmodulina

CO₂: Dióxido de carbono

ConA: Concavalina A

DHN: Dihidroxinaftaleno

ECD: Esporotricosis Cutánea Diseminada

ECF: Esporotricosis Cutánea Fija

ECS: Esporotricosis Cutánea Superficial

ED: Esporotricosis Diseminada

EL: Esporotricosis Linfocutánea

EO: Esporotricosis Osteoarticular

EP: Esporotricosis Pulmonar

ExoAg: Exo antígeno

Gp: Glicoproteína

HIV: Virus de la inmunodeficiencia humana

IDR: Intradermoreacción

IgA: Inmunoglobulina tipo A

IgG: Inmunoglobulina tipo G

IgM: Inmunoglobulina tipo M

IR: Infrarrojo

ITS: Espaciador interno transcrito

IL: Interleucina

IRIS: Síndrome inflamatorio de reconstitución inmune

KDa: Kilo Daltons

KI: Yoduro de potasio

KLRG: Receptor tipo lectina de la subfamilia G de células asesinas

KOH: Hidróxido de potasio

Lip: Lipasa

Mg: Magnesio

Mn: Manganeseo

MLST: Típo de secuencia multilocus

MPO: Mieloperoxidasa

N: Nitrógeno

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

NK: Natural Killer, células asesinas naturales

NLRP3: Receptor tipo NOD, con dominio Pirina conteniendo proteína 3

NO: Óxido nítrico

O: Oxígeno

PAMP: Patrones moleculares asociados a patógenos

PAS: Ácido peryódico de Schiff

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

RAPD: Amplificación aleatoria de ADN polimórfico

RCA: Amplificación de PCR basada en replicación en círculo rodante

RFLP: Polimorfismo de longitud de fragmento de restricción

RMN: Resonancia magnética nuclear

ROS: Especies reactivas del oxígeno

RRP: Receptor de reconocimiento de patrones

SAP: Aspartil proteasas secretadas

s.f.: Sin fecha

SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

SidA: Enzima ornitina monooxigenasa

SNP: Polimorfismos de un solo nucleótido

TGF: Factor de Crecimiento Transformante

TNF: Factor de Necrosis Tumoral

TLR: Receptor tipo Toll

Tregs: Células T reguladoras

UFC: Unidad formadoras de colonias

Ure: Ureasa

UV: Ultravioleta

WGS: Secuenciación del genoma completo

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Definición

La esporotricosis es una micosis subaguda o crónica, que ocurre usualmente a través de la inoculación traumática de materia orgánica contaminada con especies del complejo *S. schenckii*. Generalmente, se limita a la piel y al tejido celular subcutáneo, se caracteriza por nódulos que siguen la trayectoria linfática, pero es posible que se presente una lesión fija o evolucione a formas sistémicas o diseminadas más severas, siempre y cuando existan factores predisponentes (Padilla, Novales, Zuloeta y Collado, 2012).

1.2 Sinonimia

A diferencia de otras micosis, son pocas las sinonimias de esta enfermedad, y son poco utilizadas (Bonifaz, 2015):

Enfermedad de los jardineros

Enfermedad de los cortadores de rosas

Micosis profunda de los gatos

1.3 Historia

En 1898, Benjamín Schenck, en Estados Unidos, realizó el primer estudio de esporotricosis linfocutánea, lo describe como: “un absceso subcutáneo refractario, causado por un hongo posiblemente relacionado con *Sporotricha*”. En Chicago, en 1900 se comunica un segundo caso del que obtienen el cultivo por Hektoen y Perkins y lo clasifican como *S. schenckii*. En 1907 Lutz y Splendore en Brasil hacen la primera descripción formal de los cuerpos asteroides. En 1912 Beurmann y Gougerot, en Francia publican la obra clásica “Les Sporotrichoses”, en la que describieron, además de las formas cutáneas, casos pulmonares, diseminados a hueso y mucosas, así como el tratamiento con yoduro de potasio (Padilla, Novales, Zuloeta y Collado, 2012).

En Costa Rica, en 1916, fueron reportados cuatro casos en el Hospital de San José, confirmado por cultivos realizados por el Dr. Clodomiro Picado. Sin embargo, el Dr. Picado había observado el primer caso en 1914, según informe de la Junta de Caridad de San José. La siguiente publicación fue en 1940, donde el licenciado Luis Bolaños expone otro caso en su obra “Micosis observadas en Costa Rica”. Entre 1938 y 1944 se reportaron 14 casos más en el Hospital San Juan de Dios. Y entre 1944 y 1947 se aislaron 19 casos, de estos últimos 11 corresponden a trabajadores de la caña de azúcar. Antes de 1947 en Costa Rica, solamente se reportaron casos de esporotricosis localizada, sin embargo, en las décadas posteriores, especialmente, por la pandemia del HIV-SIDA, la instauración de tratamientos quimioterapéuticos y la mayor sobre vida de pacientes con inmunodeficiencias, se comienza a observar, además de los casos localizados, muchos casos de diseminación sistémicos (Romero, s.f.).

Entre 1988 a 1993 la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica (UCR) realizó un proyecto, para determinar aspectos clínicos, epidemiológicos y ecológicos de la esporotricosis en Costa Rica, con 100 casos en estudio (Rodríguez, 1992).

Hasta inicios del siglo XXI solamente se conocía *S. schenckii* como única especie implicada en esta enfermedad, cuando estudios moleculares permitieron describir otras especies, como *S. brasiliensis*, *S. globosa* y *S. mexicana* (Etchepozas *et al.* 2021).

Por otro lado, la Dra. Lozada, como parte de su Tesis de Maestría en Microbiología con énfasis en Micología Médica de la Universidad de Costa Rica, realizó el primer estudio de identificación molecular de especies del complejo *S. schenckii* en nuestro país. La Dra. Lozada caracterizó 57 aislamientos recolectados entre 1994 y 2015 pertenecientes a la Micoteca de la Facultad de Microbiología de la UCR (B7732) (Lozada, 2018 y Lozada *et al.*, 2020).

2. ETIOLOGÍA

2.1 Descripción del agente etiológico

S. schenckii es un hongo dimórfico, en su estado saprófito a 25 °C crece en su forma filamentosa, la cual en el examen microscópico presenta micelio hialino, septado y delgado. Esporula mediante conidióforos largos y finos, que presentan disposición simple simpodial, a partir de los cuales surgen conidias simples hialinas dispuestas en “forma de flor”. Pueden observarse radulosporas triangulares, globosas u ovaladas o alargadas, pigmentadas o no, de acuerdo con la especie. Macroscópicamente, se observa una colonia blanca-cremosa que con el tiempo se vuelve más oscura en medios como agar Sabouraud (más cloranfenicol o cicloheximida) o agar papa dextrosa, requiriendo de al menos cinco a siete días para su maduración. En su forma saprofítica algunas cepas son termotolerantes y crecen a temperaturas mayores o iguales a 37 °C. Otras en cambio en su estado micelial no son termotolerantes, cuando las cepas no termotolerantes se inoculan traumática a un tejido, se presentará el fenómeno de dimorfismo, pero las lesiones serán focalizadas, y no se extenderán por los ganglios linfáticos al tejido celular subcutáneo (Camargo *et al*; 2012).

Además, es resistente a la desecación, pero sensible a la exposición solar directa y al frío y crece en diversos sustratos, principalmente vegetales (Camargo *et al*; 2012).

La forma levaduriforme se obtiene mediante el cultivo en medios enriquecidos como agar infusión cerebro corazón mantenidos a (35 – 37) °C, las cuales al microscopio se observan blastosporas ovoides o alargados (con apariencia de cigarro) que miden entre (2 - 4) x (3 – 6) um (Bonifaz, 2015; Legarraga, 2016; Lozada, 2018 y Lozada *et al.*, 2020).

2.2 Clasificación taxonómica y aspectos genéticos

Los agentes causales de la esporotricosis son un conjunto de especies del complejo *S. schenckii*, este complejo pertenece al Phylum Ascomycota, familia de los Ophiostomataceae y se desconoce su forma teleomórfica. Aunque, se especula que la forma teleomórfica corresponde al ascomiceto *Ophiostoma stenoceras* (antes *Ceratocystis stenoceras*). Se han descrito varias especies dentro de este complejo, para fines de estudio se agrupan en: aislamientos de procedencia ambiental y aislamientos provenientes de

lesiones asociadas a patología en seres humanos y animales (Bonifaz, 2015; Legarraga, 2016 y Lozada, 2018).

Mediante la secuenciación de los genes que codifican para la calmodulina, la quitina sintetasa y la β -tubulina, las especies descritas en el grupo de origen parasitario se subdividieron en cinco clados (Arvizu *et al*; 2010).

Los cuales se citan a continuación:

- *Sporothrix brasiliensis* (Clado I)
- *Sporothrix schenckii sensu stricto* (Clado II)
- *Sporothrix globosa* (Clado III)
- *Sporothrix mexicana* (Clado IV)
- *Sporothrix pallida* (Clado V)

Cabe mencionar, que esta clasificación no solamente se basa en técnicas moleculares de secuenciación de los genes antes mencionados, sino también en algunas otras características: micromorfológicas, térmicas, bioquímicas (degradación de tres carbohidratos: sacarosa, rafinosa y ribitol) (Arvizu *et al*; 2010).

Los estudios fenotípicos y genotípicos han comprobado que las especies, *S. schenckii* (*sensu stricto*), *S. brasiliensis* y *S. globosa* son de importancia clínica y veterinaria mientras que *S. mexicana*, *S. pallida*, a pesar de que sí hay existen reportes sobre su aislamiento en muestras de pacientes, son primordialmente aisladas de muestras ambientales. Recientemente, se involucró la especie *S. pallida* en un caso de onicomicosis (Cruz, Vieille, Opazo y Soto, 2013 y Quijandria y Ruiz, 2018).

En la literatura, se mencionan otras especies, como *Sporothrix albicans* y *Sporothrix nivea*, las cuales tienen tanta similitud genética con *S. pallida* que pueden englobarse en el Clado V. Por su parte, *S. mexicana* posee un ancestro común con *S. pallida*. Y *S. brasiliensis* y *S. globosa* están relacionadas con *S. schenckii sensu stricto* (Arenas, 2019).

En 2008, algunos investigadores propusieron que una de las variantes morfológicas de *S. schenckii*, la variedad *luriei*, sea elevada a especie (*Sporothrix luriei*). Además,

recientemente se han descrito nuevos taxones dentro del género *Sporothrix* spp. basados en la secuencia de genes ITS y β -tubulina, estas son: *Sporothrix stylites*, *S. humicola* y *S. lignivora*. En 2010 se describieron dos nuevas especies saprófitas del género *Sporothrix* spp. a saber: *S. brunneoviolacea* y *S. dimorphospora*. La especie *S. brunneoviolacea* se caracteriza fenotípicamente por la producción de un pigmento pardo violeta difuso en cultivo *in vitro*. Sin embargo, *S. dimorphospora*, no muestra la producción del pigmento característico en cultivos *in vitro* (Messias, 2010).

En el caso particular de Costa Rica, según el estudio realizado por la Dra. Lozada, las especies que se encontraron circulando fueron *S. schenckii sensu stricto* y *S. globosa*, y por tanto, podrían tener mayor relevancia clínica en nuestro entorno (Lozada, 2018 y Lozada *et al.*, 2020).

2.3 Otros aspectos (dimorfismo)

Sporothrix spp. exhibe una característica de dimorfismo térmico. Esto lo hace por medio de la transducción de señales intracelulares para adaptarse a cambios ambientales; así, la fosfolipasa citosólica A2 afecta su dimorfismo y es necesaria para la conversión a su fase patógena. A temperatura ambiental se presenta en forma filamentosa, y a 37 °C, la temperatura del cuerpo humano, se encuentra en forma de levaduras, que se observan en formas más ovaladas, de lágrima o de cigarrillo (Camargo *et al.*; 2012 y Arenas, 2019).

3. ECOLOGÍA

Sporothrix spp. es un hongo saprófito que se aísla con frecuencia del suelo, la madera y las plantas ornamentales (Sabanero *et al*; 2000). Las condiciones óptimas de crecimiento del hongo son las zonas boscosas con clima templado-húmedo, entre 25 y 28 °C y con humedad del 80 - 95 % (Pavón, Bonifaz y Ponce, 2007).

El rápido crecimiento de las grandes urbes en algunos países de Latinoamérica, particularmente en zonas endémicas de esporotricosis, ha llevado al hombre y a sus animales domésticos, a acercarse cada vez más al ambiente natural del *Sporothrix* spp. permitiendo que estos animales se infecten y a la vez, puedan infectar al ser humano, por medio de mordeduras o rasguños. También hay reportes de casos en los que se involucran animales no domésticos, todos estos informes son considerados accidentales y anecdóticos. Caso contrario ocurre con la especie *S. brasiliensis*, que sí es considerada una zoonosis emergente, especialmente relacionada a gatos. Este comportamiento del hongo se explica por la alta virulencia y factores de patogenicidad, de *S. brasiliensis*, como se expondrá más adelante (Bove, Mayorga, y Hernández, 2008).

La transmisión zoonótica debe mantenerse en vigilancia epidemiológica constante, para que no se convierta en un problema de salud pública. Las sapronosis producidas por otras especies del complejo *S. schenckii* se pueden controlar mediante la eliminación de la biomasa vegetal que permite esta contaminación. Por el contrario, las zoonosis de los gatos constituyen una fuente de infección mucho más difusa y más difícil de controlar (Zhang *et al*; 2015).

4 EPIDEMIOLOGÍA

4.1 Distribución geográfica

La esporotricosis es una enfermedad cosmopolita, siendo una de las micosis más distribuidas a nivel mundial, reportándose casos en los cinco continentes (Saúl y Bonifaz, 2011). En América, los países con mayor número de casos publicados son: Brasil, México, Colombia, Perú, Uruguay, Venezuela, Costa Rica, Guatemala y los Estados Unidos de América, en Oceanía Australia, en Asia son Japón, India, China Oriental y Corea del Sur. En África sólo la República de África del Sur. En Europa se conoce focos endémicos pequeños en el sur de Italia, España y las Islas Británicas (Carrada, 2012b).

Ocasionalmente, puede haber una transmisión ambiental de esporotricosis, asociada clásicamente con actividades de manipulación del suelo, ya sea por motivos laborales o de ocio. Por ejemplo, los brotes que ocurrieron en los Estados Unidos, especialmente en el Valle del Mississippi, en los años 80, involucrando a trabajadores de reforestación infectados por árboles de pino y plántulas de musgo. También como microepidemias como la que ocurrió a principios de los 90, con personas infectadas por el contacto con heno almacenado en una casa abandonada donde se celebraban fiestas de Halloween. Así como grandes epidemias, como la que ocurrió en los años 40, cuando tres mil mineros en Sudáfrica fueron infectados por contacto con vigas de soporte de madera contaminada, siendo la epidemia más grande en el siglo XX (ver figura 1). (Orofino, Marques, Messias, y Bernardes, 2017). En el cuadro 1, se muestran los casos y brotes revisados en este trabajo:

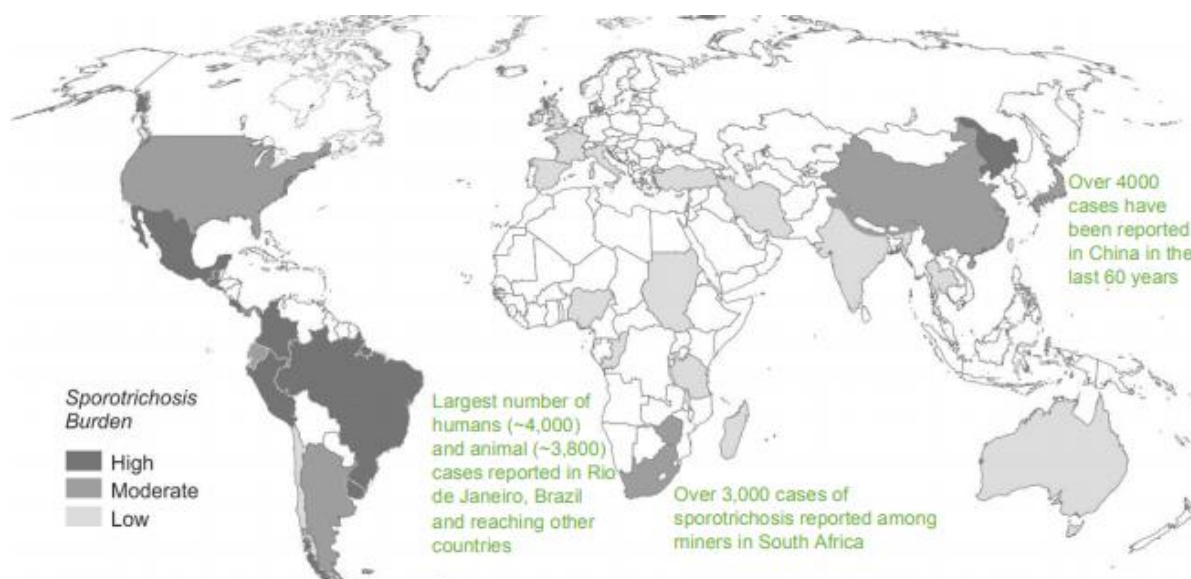


Figura 1: Prevalencia mundial de la esporotricosis (Chakrabarti *et al.*; 2015)

Cuadro 1: Casos de esporotricosis humana, reportados en la literatura, utilizados para esta revisión.

País y año	Cantidad de Casos	Cuadro clínico	Referencia
Costa Rica, 1944-1947	19	Cutánea Fija	Romero, s.f.
Jalisco, México 1960-2017	1134	Cutánea Fija y Linfocutánea	Mayorga <i>et al</i> ; 2019
Guatemala, 1979	34	Cutánea Fija y Linfocutánea	Mayorga <i>et al</i> ; 1979
Colombia 1981-1983	78	Cutánea Fija, Linfocutánea, Cutánea Superficial, Cutánea Diseminada	Vélez, Santamaría, Guzmán y Escobar, 1984
Costa Rica, 1982-1992	100	Cutánea Fija, Linfocutánea, Cutánea Superficial	Rodríguez, 1992.
India, 1992	1	Pulmonar	Padhye <i>et al</i> ; 1992
Paraguay, 2000	3	Cutánea Superficial	Aldama, <i>et al</i> ; 2000
Uruguay, 2000	1	Osteoarticular	Villamarin <i>et al</i> ; 2000
México, 2001	1	Linfocutánea	Padilla y Saucedo, 2001

Brasil, 2002	1	Linfocutánea	Haddad <i>et al</i> ; 2002
México, 2005	5	Cutánea Superficial	Carrada, 2005
México, 2006	1	Pulmonar	Carrada, 2006
México, 2007	2	Cutánea Fija y Cutánea Superficial	Pavón, Bonifaz y Ponce, 2007
México, 2007	1	Diseminada	Chávez <i>et al</i> ; 2007
USA, 2007	1	Cutánea Diseminada	Vilela, Souza, Fernandes y Mendoza, 2007)
México, 2007	1	Cutánea Fija	Padilla, Siordia y Novales, 2007
México, 2008	1	Cutánea Diseminada	Rodríguez, Magaña, Juárez y Arenas, 2008
Italia, 2008	1	Linfocutánea	Criseo, Malara, Romeo, y Puglisi, 2008
Brasil 1998-2009	2200	Linfocutánea	Barros <i>et al</i> ; 2010 y Barros, de Almeida y Schubach, 2011
Francia, 2009	1	Cutánea Fija	Magand <i>et al</i> ; 2009
India, 2009	1	Linfocutánea	Yegneswaran <i>et al</i> ; 2009
Chile, 2010	1	Cutánea Fija	Escafi <i>et al</i> ; 2010
México, 2010	1	Cutánea Fija	Arvizu <i>et al</i> ; 2010
México, 2012	1	Cutánea Fija	Padilla, Novales, Zuloeta y Collado, 2012
Chile, 2012	1	Linfocutánea	Cruz, Vieille, Oschilewski, 2012
Perú, 2013	2	Cutánea Fija	Ramírez y Lizárraga, 2013
Chile, 2013	1	Onicomycosis	Cruz, Vieille, Opazo y Soto, 2013
México, 2013	1	Linfocutánea	Martínez, <i>et al</i> ; 2013
China, 2013	457	Linfocutánea	Song <i>et al</i> ; 2013
Perú, 2014	4	Cutánea Superficial	Timaná <i>et al</i> ; 2014
Costa Rica, 2015	1	Osteoarticular	Hernández, Cortés y Rodríguez, 2015
México, 2016	1	Cutánea Fija	Campos <i>et al</i> ; 2016
Cuba, 2016	1	Linfocutánea	Fernández <i>et al</i> ; 2016
México, 2018	1	Cutánea Fija	Ochoa <i>et al</i> ; 2018

Aunque la esporotricosis está ampliamente distribuida en el mundo, algunas especies parecen ser más ubicuas que otras. En Asia, especialmente en China, *S. globosa* es el agente etiológico predominante en el 99.3 % de los casos de esporotricosis humana. En otras áreas endémicas, *S. schenckii* es la especie predominante, como Australia y Sudáfrica (94 %), también en Norteamérica y parte de Suramérica (89 %). En el sur y las regiones del sudeste brasileño, el principal agente causal de la esporotricosis es *S. brasiliensis* (88 %) y es el agente etiológico del brote ocurrido en Brasil asociado a la infección en gatos. Esta epidemia, sin precedentes en la literatura, que involucra gatos, perros y seres humanos pudo haber comenzado de manera insidiosa antes de 1998, esto debido a alta virulencia de esta especie y a la menor sensibilidad a determinados agentes antifúngicos como el itraconazol o la anfotericina B (Bastos de Lima *et al*; 2001; Legarraga, 2016 y Orofino, Marques, Messias, y Bernardes, 2017).

La esporotricosis es la micosis subcutánea que ocupa el primer lugar de acuerdo a su frecuencia en Costa Rica, alcanzando un 0.3% de todas las dermatosis y las especies que circulan son *S. schenckii* y *S. globosa* (Rodríguez, 1992; Lozada, 2018 y Lozada *et al.*, 2020).

En recientes años, se ha reportado un aumento de la esporotricosis en zonas urbanas densamente pobladas, esto sugiere cambios en los aspectos epidemiológicos. Algunas hipótesis que intentan explicar esto son:

- Actividad humana: con la modificación del ambiente del hongo (Etchepezas *et al.* 2021).
- Cambios climáticos con aumento de temperatura, humedad y lluvias que favorecen el crecimiento de hongos (Conceição y Nazaré, 2018).
- El aumento de reportes zoonosis por transmisión con animales domésticos (principalmente perros y gatos) afectados por la esporotricosis e implicados como dispersores de hongos en el medio ambiente y el espacio doméstico. Especialmente, en áreas urbanas marginales de alta concentración de humanos y estos animales (Conceição y Nazaré, 2018).

4.2 Fuente de infección y vía de entrada

Esta micosis posee capacidad, según la especie, de transmitirse como una sapronosis o como una zoonosis. Dependiendo de la fuente de transmisión, varía el morfotipo inoculado: hifas y conidias en sapronosis y levaduras en zoonosis (Etchepezas *et al.* 2021).

El principal medio de infección es por inoculación subcutánea, aunque la mayoría de los pacientes no recuerdan haber tenido algún trauma. Entre los traumas incriminados se citan los relacionados con plantas, entre ellas, café, caña de azúcar, limón dulce, musgo, paja y rosas. Están los relacionados con metales tales como varillas de hierro, clavos de hierro, agujas metálicas (hipodérmicas y de coser) y zinc. También las laceraciones con las uñas, con astillas de madera, y las caídas con posterior contacto con tierra (Vega, Bonifaz, Blancas, y Mercadillo, 2002; Schubach, Barros y Wanke, 2008; Bove, Mayorga y Hernández, 2008).

Algunos casos anecdóticos relacionados con animales como vectores indirectos son:

- Mordedura de rata (Rodríguez, 1992).
- Mordedura de iguana (Martino *et al.*; 1986)
- Mordedura de murciélago vampiro (Martínez *et al.* 2013),
- Picadura de mosquito (Rodríguez, 1992).
- Mordedura de araña (Rojas *et al.*; 2013)
- Mordedura de garrapata (Rodríguez, 1992).
- Picadura de hormigas (Bada, Arenas y Ruiz, 2007).
- Laceración con escamas de pez tilapia (Mayorga *et al.*; 1979 y Haddad *et al.*; 2002)

En Uruguay más del 80 % de los casos clínicos son secundarios a arañazos de armadillos (Ackermann, Vomero, Fernández y Pírez, 2017). En 1978 en Guatemala se reportó una epidemia por el manejo de pescado de agua dulce en el lago de Ayarza (Mayorga *et al.*; 1979). Todos estos casos son casos excepcionales, y los animales son acarreadores de las conidias de *Sporothrix* sp. y hay que diferenciarlos de las zoonosis verdaderas por contacto estrecho con animales, como gatos, perros y roedores.

Como ya se mencionó, en el sureste de Brasil, se reportan casos de transmisión zoonótica por *S. brasiliensis*, debida a la epidemia en gatos domésticos, que al momento de este trabajo se mantiene activa y se disemina a otros países vecinos como Argentina. Se han

reportado más de 3000 casos de zoonosis con transmisión de gatos a humanos en Brasil y aunque más raramente, a través de perros, a causa de esto, el aumento de casos fue, incluso, de 85 %, considerándose una verdadera zoonosis. En los gatos, la enfermedad, generalmente se manifiesta como esporotricosis cutánea diseminada, con muchas lesiones y con gran cantidad de blastosporas, lo que facilita la trasmisión al humano, por medio de mordeduras, arañazos y contacto con el exudado de las lesiones cutáneas de los animales enfermos (Bastos de Lima *et al*; 2001; Legarraga, 2016 y Etchepozas *et al*. 2021).

Los hábitos de vida de los gatos son importantes en el rol que poseen estos como transmisores de esta micosis: vida domiciliar-peridomiciliar con el humano, afilamiento de las garras en el ambiente, les gusta vagar cerca de su comunidad, entierran sus excrementos con sus garras, disputan territorio que usualmente terminan con mordidas y arañazos a huéspedes susceptibles (Etchepozas *et al*. 2021).

Por otra parte, también está comprobado que en individuos que viven en zonas altamente endémicas, las conidias e hifas del hongo puede penetrar vía respiratoria y provocar casos pulmonares primarios (Bonifaz, 2015).

4.3 Sexo y edad

Según los estudios no existen diferencias en cuanto al sexo. Sin embargo, la disposición entre sexos es atribuible a quien realice las actividades relacionadas con un mayor riesgo de infección, como la agricultura, por lo que en Colombia predomina en los hombres y en Japón en las mujeres. Con respecto a la edad, tiene dos picos de incidencia, el primer grupo son los niños escolares, de un 20% hasta el 60% (según la fuente consulta) de los casos de esporotricosis se presentan en esta población. En los niños, frecuentemente se presentan las lesiones en la cara, a diferencia del segundo grupo de alta incidencia (los adultos jóvenes) los cuales presentan, usualmente, lesiones en miembros superiores e inferiores. En los adultos jóvenes (20 a 40 años de edad) esta mayor cantidad de casos se debe a las actividades laborales y de ocio que los expongan a traumatismos con materia contaminada con el hongo (Vélez, Santamaría, Guzmán y Escobar, 1984; Mayayo, Capilla y Arrillaga, 2009; Arvizu *et al*; 2010; Camargo *et al*; 2012 y Timaná *et al*; 2014).

Existen pocos estudios en Costa Rica, especialmente en cuanto a la epidemiología de esta micosis en nuestro país, sin embargo, la Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica, realizó un proyecto epidemiológico, durante los años 1988 a 1993, se contabilizaron

100 casos de esporotricosis, y se determinó que el 69% de los casos eran varones y 31% mujeres, siendo los más afectados por esta micosis, personas dedicadas a labores agrícolas, estudiantes, amas de casa y pensionados; quienes representaron en conjunto un 81% de los casos estudiados (Rodríguez, 1992).

4.4 Periodo de incubación

Su período de incubación usualmente varía de una semana a un mes. La esporotricosis cutánea, es la forma más frecuente de esta micosis, inicia por un traumatismo con material contaminado, presentará un chancro esporotricósico entre los 10 y 15 días de inoculación, posteriormente se desarrollará un complejo cutáneo linfático (Saúl y Bonifaz, 2011).

4.5 Factores predisponentes

A diferencia de otras micosis subcutáneas, como el micetoma y la cromoblastomicosis, la esporotricosis no tiene una influencia hormonal comprobada para la adaptación del hongo, únicamente influye el tamaño del inóculo y la condición tisular e inmunológica del hospedero, por lo tanto, la posibilidad de que existan casos infantiles es frecuente (Arvizu *et al*; 2010).

Algunas ocupaciones laborales son con frecuencia los más afectados, por el riesgo que poseen de sufrir algún traumatismo con material contaminado con el hongo, tales como campesinos, pescadores, cazadores, alfareros, ganaderos, carpinteros, albañiles, y trabajadores de la construcción, plantadores de árboles, madereros, floricultores, cafetaleros y trabajadores de los viveros. Existen pocos reportes de inoculación accidental en laboratorios de micología, estos casos se deben a heridas traumáticas ocasionadas por material de laboratorio con el hongo (Camargo *et al*; 2012).

En la forma pulmonar primaria, también, algunas profesiones se han relacionado, por ejemplo: los trabajadores de los invernaderos y aserraderos, los alfareros que manejan la paja seca, quienes están encargados de extraer, secar y manipular el musgo de los pantanos o la tierra rica en humus vegetal, en estos casos, las conidias penetran al pulmón por inhalación directamente (Carrada, 2006).

En la población inmunocompetente predominan las formas localizadas; mientras que las formas diseminadas se presenta en pacientes con VIH, diabetes, abuso de alcohol, neoplasias, enfermedades hematológicas, enfermedades linfoproliferativas y tratamiento inmunosupresor (Camargo *et al*; 2012).

5 PATOGÉNESIS

5.1 Historia natural de la enfermedad

Esta micosis, usualmente, inicia por la inoculación traumática con material contaminado. Se presenta un chancro esporotricósico después de los 10 a 15 días de la inoculación, posteriormente se desarrollará un complejo cutáneo linfático para dar tres posibles caminos (Saúl y Bonifaz, 2011):

- a) Involución de la lesión y cura de la infección.
- b) Persistencia del cuadro cutáneo fijo.
- c) Diseminación linfática por continuidad, dando lesiones gomosas o placas verrucosas, en forma de rosario extendiéndose a los ganglios principales cervical, inguinal y axilar. En el caso de los pacientes inmunocomprometidos se puede presentar diseminación a otros órganos (mucosas, huesos, articulaciones, sistema nervioso central y fungemia) lo que puede llevar a la muerte del paciente.

Por otro lado, también puede presentarse el cuadro pulmonar primario con características similares de evolución a la tuberculosis, es decir, en la mayoría de los casos el sistema inmune controlará la infección en pacientes inmunocompetentes, manteniéndose en latencia hasta que se presente un estado de inmunosupresión. Sin embargo, en un dos por ciento de los pacientes puede presentarse un cuadro de neumonía con la posibilidad de diseminación al resto del organismo (Saúl y Bonifaz, 2011).

A pesar de que el tratamiento es relativamente sencillo, su gran polimorfismo clínico dificulta su diagnóstico (cuadro 2) En caso que el paciente sea inmunocompetente, *S. schenckii* estimula un estado de hipersensibilidad que permite limitar el avance de la enfermedad (incluso, en algunos casos, producir una involución completa de la infección), esto demostrable con la prueba de esporotricina. Para algunos autores, los casos de esporotricosis del grupo I (ver cuadro 2) en realidad, son reinfecciones, donde la primoinfección se dio en pulmón; y los casos del grupo II se deben a algún tipo de debilitamiento inmune (Padilla, Siordia, y Novales, 2007; Saúl y Bonifaz; 2011 y Timaná *et al*; 2014).

Es por esta razón, que se han propuesto diferentes clasificaciones clínicas, pero este trabajo expondrá la clasificación desde el punto de vista inmunológico del hospedero y de

la respuesta ante la esporotricina y presencia de cuerpos asteroides. Es así que se tienen dos grupos, según el siguiente cuadro:

Cuadro 2: Clasificación de la esporotricosis según comportamiento inmunológico

	I. Casos hiperérgicos y normérgicos	II. Casos anérgicos e hipoérgicos
Formas clínicas	Fija Linfangíticas	Hematógena o cutánea diseminada Cutánea superficial Osteoarticular Pulmonar/visceral
Formas parasitarias en examen directo y en tejidos	Raras	Frecuentes
Histopatología	Granuloma supurativo	Granuloma inespecífico
Espоротricina (IDR)	Positiva	Frecuentemente negativa
Resistencia	Alta	Baja
Pronóstico	Muy bueno	Reservado
Regresión espontánea	Frecuente	Nunca
Respuesta al tratamiento	Muy buena	Mala

Tomado y modificado de Saúl y Bonifaz, 2011

Además de la respuesta inmune del paciente, otros factores que determinan la enfermedad son la carga del inóculo, la profundidad del trauma, así como los factores de virulencia y patogenicidad propios del agente causal, el tiempo de interacción hospedero-hongo, el

estadio morfológico y la presencia de cationes divalentes como el Ca^{+2} y Mg^{+2} (Sandoval, G; Barbosa, G. y Sabanero, M. 2009 y Camargo *et al.* 2012).

5.2 Factores de virulencia

Los factores de virulencia se pueden definir como las características de los microorganismos que les permiten la sobrevivencia y el crecimiento en su hospedero, entre los que se encuentra la adhesión o invasión de tejidos y el daño directo a los mismos, la evasión y resistencia al estrés que produce el sistema inmune al hongo y los relacionados con la capacidad del microorganismo para crecer e incluso adaptarse morfológicamente al ambiente parasitario (Sascha, Mogavero, Kasper, y Hube, 2016).

El descubrimiento del origen de la virulencia microbiana ha sido el objetivo principal de muchos estudios. El origen y persistencia de la virulencia en hongos dimórficos es enigmático porque la interacción con un mamífero hospedero no es un requisito para la supervivencia. Algunos autores llamaron a este fenómeno “virulencia confeccionada” (Téllez *et al.*; 2014). En general, la teoría más aceptada es que los microorganismos adquieren estrategias de supervivencia por la interacción con otros organismos en su hábitat natural y estas a su vez, se convertirán en factores de virulencia cuando accidentalmente encuentran un animal anfitrión (Bastos de Lima, de Almeida y Oliveira, 2011).

El complejo *S. schenckii* está presente en la naturaleza en ambientes con condiciones diversas, incluso ambientes contaminados, entornos con un amplio rango de pH de 2.2 a 12.5, el piso de piscinas, sobre otros hongos desecados, pulgas, hormigas, pelo de caballo, entre muchos otros. Estos entornos también seleccionan a ciertos hongos tolerantes al estrés y puede conducir su evolución hacia la adquisición de rasgos de importancia médica. Otros factores que contribuyen seleccionando hongos resistentes son las temperaturas extremas, presión osmótica, humedad, productos químicos de radiación y amebas del suelo (Téllez *et al.*; 2014).

Sporothrix spp. es capaz de resistir condiciones extremas, como temperaturas muy bajas durante varios años y presión osmótica extrema. Algunos estudios han revelado que a diferentes niveles de exposición a la luz ultravioleta, este hongo mantiene su viabilidad, aunque depende de las variantes morfológicas, la cepa y dosis de luz ultravioleta (Téllez *et al.*; 2014).

Se ha demostrado que los microorganismos, incluidos los hongos, poseen la capacidad de sobrevivir adaptándose o mutando en altas concentraciones de metales pesados tóxicos. En general, dos mecanismos se han propuesto para la tolerancia de metales pesados en hongos (Téllez *et al*; 2014):

- Secuestro extracelular por medio de la quelación y/o unión a la pared celular, empleada principalmente para evitar que los metales ingresen al citosol.
- Secuestro físico intracelular de metales por unión a metalotioneínas, secuestro como fosfatos insolubles o eliminación de la célula a través de transportadores como CadA, ZntA o PbrA, evitando el daño causado por metales a blancos celulares sensibles y reduciendo la carga de metal en el citosol.

Los hongos ambientales pueden biodegradar hidrocarburos aromáticos en su hábitat. Un informe reveló que varios hongos, incluido *S. schenckii*, fueron aislados de biofiltros de aire expuestos contaminado con hidrocarburos y estos lograron crecer consumiendo hidrocarburos aromáticos volátiles como la única fuente de carbono y energía. Además, en otro estudio fue evaluado el efecto de fungicidas contra varios hongos patógenos ambientales, entre ellos *S. schenckii* el cual tenía mayor resistencia a estos productos que otros hongos (Téllez *et al*; 2014).

Se ha demostrado, que las blastosporas de *S. schenckii* cuando son ingeridas por *Acanthamoeba castellanii*, son capaces de sobrevivir dentro del protozoo, matarlo y usarlo como nutriente. La estrategia que utiliza este hongo para sobrevivir dentro de las amebas, es la misma que utilizaría en el caso que se pongan en contacto con el sistema inmune de los mamíferos, particularmente con las células fagocíticas (Bastos de Lima; de Almeida y Oliveira, 2011).

Existen diferencias significativas entre la virulencia de las diferentes especies pertenecientes al complejo *S. schenckii*. Una hipótesis (ver figura 2) afirma que esta virulencia se debe a mutaciones del ancestro común de estas especies, por medio del efecto fundador de las poblaciones de hongos. Se ha propuesto que *S. schenckii* es la especie ancestral por motivos filogenéticos, principalmente debido a su alto grado de variabilidad en todos los marcadores, su amplia distribución y la presencia de una hipotética sexualidad (por la observación de distribución genética equilibrada tipo de apareamiento). La especie parece transmitida, predominantemente, por traumatismos con plantas. La proporción de casos transmitidos de *S. schenckii sensu stricto* por gatos es mucho más

baja que en *S. brasiliensis*, pero mucho más alta que en *S. globosa*, donde es cero. En humanos, los casos diseminados por *S. schenckii sensu stricto* ocurren casi solo en pacientes inmunodeprimidos, en los gatos parecen ser relativamente susceptibles a la infección. Los principales vástagos clonales (*S. brasiliensis* y *S. globosa*) parecen haberse adaptado con éxito a sus respectivos nuevos hábitats. El vástago clonal de *S. brasiliensis* en promedio ha aumentado la virulencia en los gatos, produciéndoles esporotricosis cutánea diseminada, con muchas lesiones y con gran cantidad de blastosporas, lo que facilita la transmisión al humano, por tanto, se produce un cambio de las sapronosis a las zoonosis. La rama clonal de *S. globosa* tiene menor virulencia y ha mantenido un comportamiento sapronótico (Bastos de Lima *et al*; 2001; Zhang *et al*; 2015 y Legarraga, 2016).

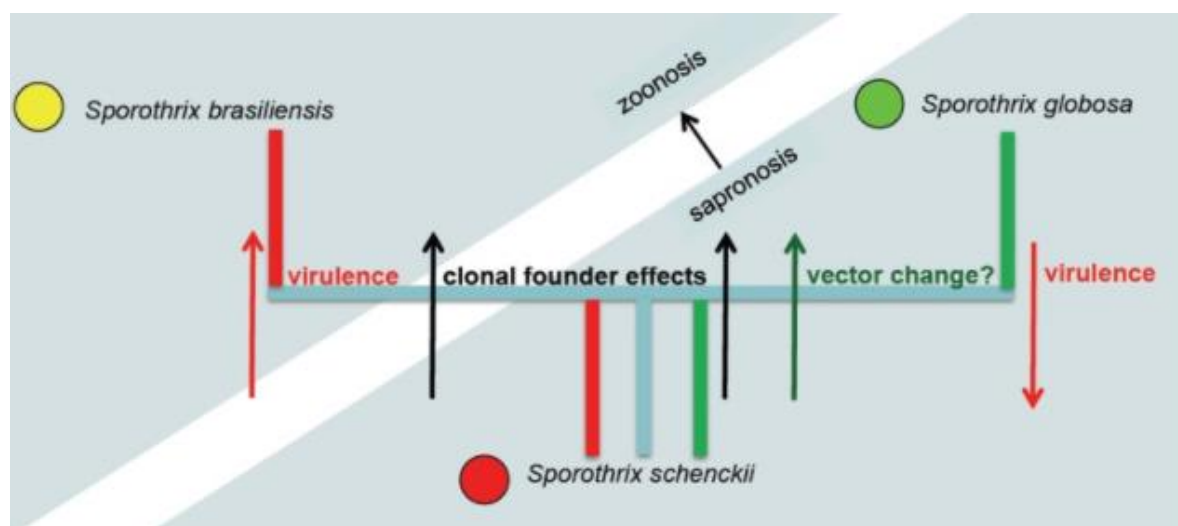


Figura 2: Diagrama de hipótesis de la evolución de especies ancestrales de *S. schenckii*, *S. globosa* y *S. brasiliensis* (Zhang *et al*; 2015).

5.2.1. Cambios morfológicos

Para sobrevivir dentro del hospedero y otros entornos hostiles, los hongos generalmente desarrollan cambios morfológicos y estructuras especializadas que los ayudan en el proceso de adaptación. Este cambio morfológico permite que las células fúngicas eviten la fagocitosis y el entorno citotóxico del fagolisosoma, entre otras condiciones perturbadoras

impuestas por el anfitrión. Este hongo es ampliamente conocido como un hongo dimórfico, esta capacidad fue descrita por primera vez por Howard en 1961. *In vitro*, las fases micelial y de levadura se puede obtener por cultivo a 25 °C y 37 °C, respectivamente. Este cambio morfológico está regulado por una histina kinasa (SsDRK1). Esta proteína también regula la expresión de genes de virulencia y patogenicidad *in vivo* en otros hongos (Lopes, Schubach, Costa, 2005 y García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

5.2.2. Pared celular

La pared celular juega un papel central en la interacción patógeno-hospedero, mediando así varios procesos asociados con la patogenicidad de los microorganismos. Se debe conocer la composición de la pared fúngica del hongo en cuestión para así poder correlacionarlo con el reconocimiento que tienen sus componentes ante receptores específicos de la respuesta inmune (Lopes *et al*; 2018b).

Se han realizado estudios de la arquitectura de la pared de *S. schenckii* y *S. brasiliensis*, como se puede observar en la figura 3. Ambas especies manifiestan algunas diferencias y estas se hicieron más claras a medida que las blastosporas envejecían. En el caso de *S. brasiliensis* tiene mayor contenido de quitina y ramnosa y una pared celular más gruesa que *S. schenckii* (Lopes *et al*; 2018b).

Sporothrix spp. HYPOTHETICAL CELL WALL MODEL

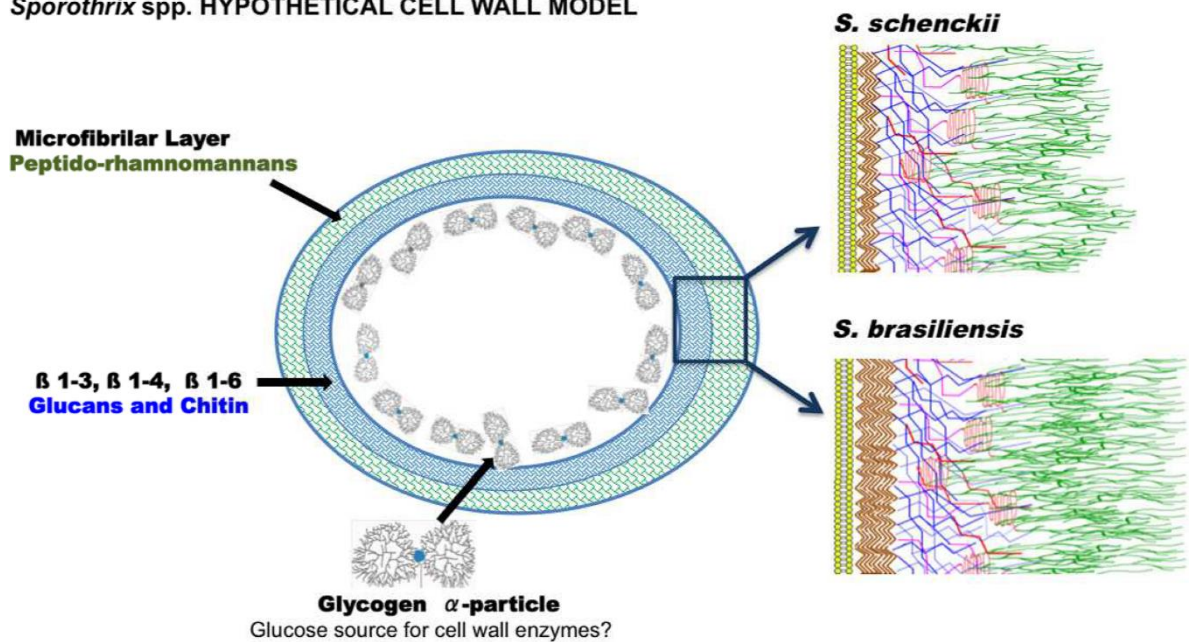


Figura 3: Modelo hipotético de pared celular para los hongos patógenos dimórficos *S. schenckii* y *S. brasiliensis* (Lopes *et al*; 2018a).

Este modelo se basa en análisis bioquímicos y estructurales (espectroscopia IR y RMN), así como en microscopia electrónica y microscopia de fluorescencia. Estas técnicas indicaron la presencia de péptidoramnomannanos localizados en la capa fibrilar más externa (verde), quitina (marrón) y β -glucanos 1, 3 (azul) y β -glucanos 1, 6 (rosado) en la capa más interna, y partículas α de glucógeno en forma de roseta organizadas cerca de la membrana plasmática y la pared celular. Los α -glucanos, cuya presencia se ha descrito en otros hongos patógenos dimórficos, estuvieron ausentes. (Lopes *et al*; 2018b)

Por otro lado, las capas externas de la pared celular de *S. schenckii* pueden desprenderse (Fenómeno de Shedding), teniendo el potencial de causar antigenemia o inflamación a una distancia del sitio en el que se encuentra la célula madre del patógeno (Lopes *et al*; 2018b). Esto se observó por primera vez, por medio de la tinción de blastosporas de *S. schenckii* con el colorante catiónico azul Alcian 8GX y nitrato de lantano en la que se observa la presencia de un material opaco, anteriormente llamado: "material capsular" localizado a lo largo de la superficie de la pared, más externa. Este material se asoció con la capa microfibrilar característica de la pared celular externa (Garrison y Mirikitani, 1983). El material estaba ausente o en gran parte eliminado cuando las células se cultivaron en

cultivo líquido agitado o después del lavado de células de cultivos estáticos (Garrison y Mirikitani, 1983)

Años más tarde, por medio de criofijación y observación por microscopía electrónica, se detectó que las condiciones asociadas con el cultivo a largo plazo (inanición, cambios dependientes de la densidad celular, fisiología, etc.) indujeron la formación de esa “segunda capa de pared” en *S. schenckii* (ver figura 4) (Lopes *et al.*; 2018b). Se cree que este material débilmente unido representa una sustancia capsular compuesta, al menos en parte, de un mucopolisacárido o un complejo mucopolisacárido-proteína (Lopes, Schubach, Costa, 2006).

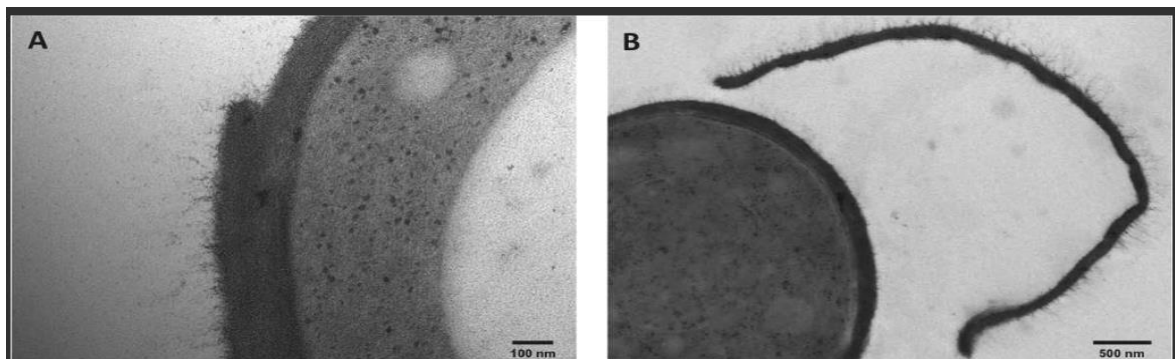


Figura 4: Desprendimiento de “material capsular” de *S. schenckii* o Fenómeno de “Shedding” Tomado de Lopes *et al.*; 2018b

Los glicoconjugados de la pared celular de los hongos patógenos están involucrados en la virulencia y la patogenicidad. Algunos glucoconjugados de la pared celular estructural, quitina, β -1-3 glucana y β -1-6-glucana, se encuentran en especies patógenas y no patógenas y están involucrados en la modulación de la respuesta inmune innata. Estos glicoconjugados se consideran como patrones moleculares asociados a patrones (PAMPs). Por su relación, estrecha con los receptores de reconocimiento de patrones (RRPs), serán abarcados de una forma más profunda en el apartado de inmunología celular (Lopes *et al.*; 2018b).

5.2.3. Termotolerancia

Algunas de las especies en su forma micelial presentan mejor termotolerancia para crecer a 37 °C (*S. schenckii*, *S. brasiliensis* y *S. mexicana*), lo que les permite diseminarse en un organismo hospedero, no así las especies que tienen menor termotolerancia, por ejemplo *S. globosa*, que se limitarán a producir su dimorfismo y crecer en lesiones cutáneas fijas. Aunque cabe mencionar que aún dentro de una misma especie, pueden haber aislamientos más termotolerantes que otras. Mesa y colaboradores realizaron un estudio comparando cepas aisladas de pacientes en Colombia, Guatemala y México. Ellos observaron que las manifestaciones clínicas de *S. schenckii* en pacientes de Colombia pertenecen al cuadro clínico de esporotricosis cutánea fija y a su vez estos aislamientos exhiben una alta inhibición de crecimiento a 35 y 37 ° C. En contraste, los aislamientos de *S. schenckii* de México y Guatemala, se manifiestan como esporotricosis linfocutánea y poseen una mejor termotolerancia (Mesa, A; *et al.*; 2002).

Además, se puede inferir, que la termotolerancia, es parte de las razones, por la cual los aislamientos de *Sporothrix* spp. ambientales no producen infección en mamíferos, puesto que no se han adaptado a la temperatura corporal de los hospederos (Bastos de Lima, de Almeida y Oliveira, 2011; Lozada, 2018 y García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

5.2.4. Melanina

En la naturaleza existen diferentes tipos de melaninas, las cuales pueden ser producidas por una gran cantidad de seres vivos, incluido los hongos. Las dopamelaninas son pigmentos producidos a partir de L-DOPA (4-dihidroxi-L-fenilalanina). Como se puede ver en la figura 5, la L-DOPA es oxidada para formar dopaquinona, este intermediario es muy importante porque es compartido con la tirosina (de la cual también puede producirse melanina) y luego por una serie de oxidaciones, con moléculas como Ciclo-dopa, dopacromo y DHI como intermediarios, se forma finalmente la melanina (Virmond, Robert, Brito y Massuda, 2016).

Tomada de Virmond, Robert, Brito y Massuda, 2016

Por otra parte, las alomelaninas o melaninas DHN son pigmentos que pueden ser producidos por hongos y plantas a partir de dihidroxinaftaleno. La ruta de producción de las alomelaninas (melanina DHN) comienza con la carboxilación de acetil-CoA en malonil-CoA, que sirve como sustrato para la formación de la pentaquetida-CoA que sufre ciclación por la enzima pentaquetida sintetasa, generando 1,3,6,8-THN. Este es posteriormente transformado, por reacciones de hidratación y deshidratación, en escitalona, vermelona y finalmente 1,8-DHN, lo que dará lugar a DHN-melanina. Ver figura 6 (Azevedo, 2016).

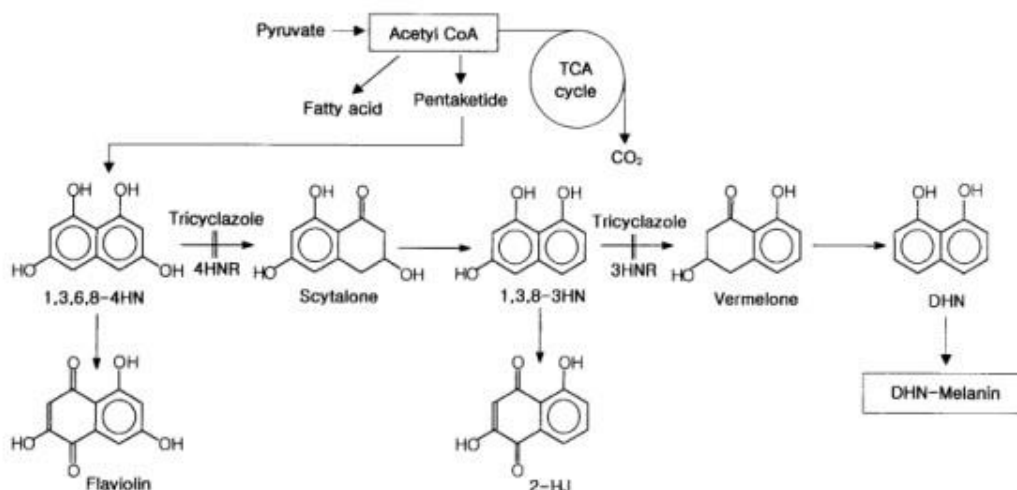


Figura 6: Vía metabólica para la producción de DHN-Melanina. Tomada de Azevedo, 2016

Ambas morfologías de *S. schenckii* (forma micelial y forma levaduriforme) son potencialmente sintetizadoras de melanina. Este es un compuesto insoluble altamente relacionado a la virulencia en varios hongos. Por ejemplo, la producción de alomelanina en las conidias dematóceas de *S. schenckii* (cepa 18782) se da a través del vía pentaketida-DHN (1,8-dihidroxi-naftaleno). Además, se demostró la producción de melanina de las blastosporas *in vitro*. Recientemente, se ha confirmado que *S. schenckii* también puede producir melanina usando compuestos fenólicos como la 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina (L-DOPA) como sustrato tanto en forma filamentosa como de levadura. La L-DOPA y otros compuestos fenólicos tienen estructuras moleculares similares a la melanina (también son compuestos fenólicos), lo que les permite ser sustrato para la formación de las mismas. Es interesante notar que solo las conidias pueden ser melanizadas por la vía DHN, pero si la L-DOPA está presente, las hifas también pueden ser melanizadas. Ver figura 7 (Bastos de Lima, de Almeida y Oliveira, 2011).

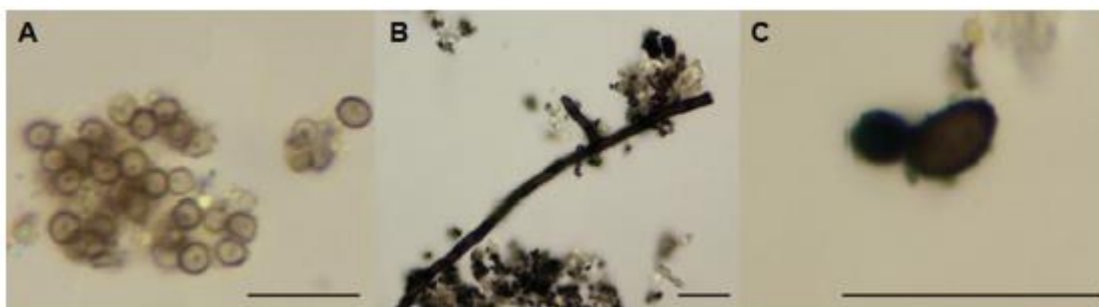


Figura 7: Melanina en *S. schenckii*. (Cepa 18782) en diferentes condiciones (A) Cultivo en medio mínimo a 25° C producen melanina solo en conidias dematiáceas. (B) Cuando se agrega L-DOPA a un medio mínimo, tanto las hifas como los conidios se melanizan. (C) Las blastosporas de *S. schenckii* también pueden producir melanina en medio de cultivo libre de compuestos fenólicos o cuando se agrega L-DOPA (Bastos de Lima, de Almeida y Oliveira, 2011).

En *S. brasiliensis*, *S. schenckii* y *S. globosa*, se observó una tercera vía para la producción de melanina por medio de la L-tirosina (piomelanina) en la fase de crecimiento estacionario de micelio y levadura (García, Toriello, Herrera y Bonifaz, 2018).

Se postula que las melaninas deben ser importantes para la protección del hongo ante el medio ambiente desfavorable, por ejemplo para la protección contra la luz ultravioleta. Además, como factor de virulencia va a modular la respuesta inmune (ver cuadro 3), le otorga mayor capacidad invasora y posiblemente resistencia a los antifúngicos (Legarraga, 2016 y Saúl y Bonifaz, 2011).

Cuadro 3: Efecto de la melanina sobre el sistema inmune

Componente del sistema inmune	Efecto
Complemento	Activación de la cascada del complemento (vía clásica y alternativa)
Fagocitosis	Resistencia o disminución de la fagocitosis
Péptidos antimicrobianos	Resistencia

Radicales libres y productos del estrés oxidativo	Quelante o estabilizador de radicales libres
Celularidad	Proliferación y diferenciación celular, formación de granuloma
Apoptosis	Inducción de apoptosis (independientemente de caspasa 3)
Citocinas	Efecto modulador, dependiente del modelo y tipo de melanina usado
Anticuerpos	Genera respuesta de anticuerpos tanto tipo IgG como IgM

Tomado y modificado de: Uran y Cano, 2011.

Son varias las interferencias que tiene la melanina en la fagocitosis, algunas de estas se han observado en otros hongos y se podrían presentarse fenómenos similares en el complejo *S. schenckii*. Se enumeran algunas a continuación (Uran y Cano, 2011):

- La melanina puede activar la fijación del complemento y la fagocitosis mediada por complemento. Sin embargo, mutantes de *Aspergillus fumigatus* deficientes en la producción de melanina, fueron más susceptibles a unir el complemento que sus homólogos melánicos nativos.
- Por medio, de la observación experimental, otro estudio demostró que las cepas melánicas son más resistentes a la fagocitosis que los mutantes amelánicos. Esto fue evaluado en *Sporothrix* spp; *Exophiala dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Fonsecaea pedrosoi*, *C. neoformans* y *S. schenckii*. En este último se demostró que las cepas albinas están restringidas al núcleo de los granulomas, en cambio las cepas melanizadas promovieron la formación de granulomas multifocales (Madrid *et al.* 2010).
- Además, la melanina es aceptora de electrones por lo que protege de los radicales libres.

Los mecanismos por los cuales la melanina disminuye la fagocitosis son (Uran y Cano, 2011):

- Alteración del potencial Z de membrana
- Reducción de eventos de fosfoisomerización

- Disminución de concentraciones sub-retinales de calcio
- Reducción del consumo de oxígeno

5.2.5. Adhesión a células del hospedero

Se ha demostrado que *S. schenckii* es capaz de unirse a tres proteínas de la matriz extracelular: fibronectina, colágena tipo II y laminina. Esto mediante glicoproteínas tipo adhesinas, integrinas y moléculas similares a lectinas, en estadios específicos del hongo. Las adhesinas de fibronectina están ubicadas en la superficie de las blastosporas, y su expresión está relacionado con la virulencia fúngica. Las adhesinas están presentes en el micelio y en las blastosporas, aunque las segundas tienen una mayor capacidad de unión a la matriz extracelular. La existencia de estas adhesinas favorece la adherencia a los tejidos del hospedero y la diseminación fúngica en todo el cuerpo. Además, la expresión de estas moléculas en *S. schenckii* probablemente también esté relacionada con la virulencia, ya que su expresión preferencial es en la forma parasitaria, sobre la forma saprófita del hongo. Esta interacción es modulada por iones divalentes como calcio y magnesio y por citosinas particularmente IL-9 y el factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- β 1) (Lopes, Schubach, Costa, 2005; Sandoval, Barbosa, y Sabanero, 2009 y Bastos de Lima, de Almeida y Oliveira, 2011).

El TGF- β 1 produce un efecto directo sobre la interacción de *S. schenckii* con la matriz subendotelial, aumentado fuertemente su unión, lo que puede interferir con la probabilidad de que las levaduras interactúen con las células. Un estudio logró demostrarlo al calcular el número de blastosporas de *S. schenckii* internalizados por las células endoteliales, el cual fue determinado por medio de un ensayo de fluorescencia diferencial que distingue las levaduras unidas externamente de las internalizadas. El número de organismos endocitosados se obtuvo restando el número de *S. schenckii* extracelulares (doble inmunomarcado con anti-S primario *Schenckii* y anticuerpos secundarios conjugados con AlexaFluor) del número de organismos marcados con Uvitex (organismos totales). Las muestras teñidas se vieron bajo epifluorescencia (Microscopio Nikon Eclipse E400) usando filtros para AlexaFluor 568 (fluorescencia roja) y Uvitex (fluorescencia azul) (Lopes, 2007).

Además, *Sporothrix* spp; tanto en su fase levaduriforme como la micelial, poseen en su pared glucopéptidos conocidos como ramno-mananas que presentan variaciones dependiendo si se encuentra el hongo como levadura o micelio. Las ramno-mananas

poseen una fracción polipeptídica y otra polisacárida. Esta última es la que le confiere capacidad antigénica, y está relacionada con la adhesión. Sin embargo, también se ha propuesto que estas ramno-mananas en un inicio pueden modular la respuesta inmune causando inmunodepresión transitoria, durante las primeras seis semanas de infección (Sandoval, Barbosa y Sabanero, 2009; Bastos de Lima, de Almeida y Oliveira, 2011 y Saúl y Bonifaz, 2011).

Por medio de estudios bioinformáticos se reportado que el genoma de *S. schenckii* presenta genes para la síntesis de Mp65 y Phr1. El Mp65 es una proteína involucrada en la integridad de la pared celular, adherencia a las células epiteliales y formación de biopelículas en algunos hongos, y tiene homología con las dos secuencias de proteínas codificadas por *S. schenckii* SPSK_05120 y SPSK_04001. De estos dos, SPSK_05120 está regulado en las blastosporas, lo que sugiere un papel importante en las propiedades adhesivas para esta morfología celular. Otra molécula, el Phr1 aunque se desconoce su función en *Sporothrix* spp. es muy importante como factor de patogenicidad en otros géneros fúngicos. Se sabe que es una proteína que tiene una expresión dependiente del pH y participa en la morfología celular, ya que los mutantes de *Candida albicans* que carecen de este gen no formaron tubos germinativos, no pudieron penetrar los epitelios humanos y adherirse a las células epiteliales y al poliestireno, por lo que se piensa, puede ser también importante en los procesos de adhesión de *Sporothrix* spp. (Tamez *et al*; 2020).

Además, al realizar estudios de electroforesis de proteínas de *Sporothrix* spp. se detectó una proteína de 70 kilo Dalton (la Gp 70) que al ser inhibida con anticuerpos monoclonales específicos evita la adhesión de las levaduras al tejido. Lo que sugiere que esta molécula puede ser utilizada como diana farmacológica para establecer una posible respuesta protectora contra la esporotricosis, como se detallará más adelante (Sandoval, Barbosa y Sabanero, 2009).

5.2.6. Adquisición de Nutrientes

El dimorfismo fúngico va a depender de muchas variantes, entre ellas de las fuentes de nutrientes. En el cuadro 4 se resumen las observaciones en cuanto a los requerimientos nutricionales que propician o inhibe la transición fúngica de *S. schenckii* en diferentes medios de cultivo.

Cuadro 4: Dimorfismo de *S. schenckii* según tipo de nutrientes en diferentes medios de cultivo

Variable	Efecto
Agar Sangre	Si se cultiva en medios ricos como agar sangre puede demostrar su dimorfismo siempre que tenga condiciones adecuadas como dióxido de carbono al 10 % y temperatura de 37 °C.
AICC	En agar infusión cerebro corazón también permite demostrar dimorfismo manteniendo la temperatura de 37 °C.
Compuestos Nitrogenados (Cisteína Glicina, Arginina) Fuentes de carbono: Caseína	Se ha demostrado que los genes que producen enzimas para la utilización de diferentes compuestos nitrogenados también participan en el dimorfismo fúngico. Para realizar esta transición el hongo requiere condiciones bajas en nitrógeno y se ve mejorado el dimorfismo ante fuentes pobres de carbono. Por lo que se puede inferir, que estos compuestos ricos en nitrógeno y carbono, van a afectar negativamente la transición dimórfica.
Glucosa	El desarrollo de la forma micelial se observó con todas las fuentes de carbono (glucosa, fructosa, manosa, arabinosa, maltosa, sacarosa y almidón) mientras que la forma de levadura se desarrolló solo cuando se agregó glucosa u otra hexosa al medio.
Tiamina y Biotina	Son estimulantes del crecimiento de <i>Sporothrix</i> spp. y la formación de levaduras

Modificado de: (Rodríguez, Rosario y Torres, 1983; Acáz *et al*; 2002 y Kingsbury, Goldstein y McCusker, 2006)

Además de los experimentos de crecimiento de *S. schenckii* en diferentes medios de cultivo, para comprobar sus requerimientos nutricionales, se han reportado estudios moleculares para la detección (por homología de secuencias genéticas), de algunas moléculas que le pueden permitir al hongo, adquirir nutrientes tan importantes como el nitrógeno, y otros micronutrientes como el hierro y el zinc (Tamez *et al*; 2020).

Por ejemplo, el hongo *A. fumigatus* codifica por la proteína rhbA que se expresa mayormente cuando el hongo está en contacto con el tejido humano o cuando está creciendo en condiciones de agotamiento de nitrógeno. Se ha encontrado dos genes

ortólogos de los codificante para la proteína Rhba de *A. fumigatus* en *S. schenckii* (Tamez *et al*; 2020).

Por otro lado, los hongos han desarrollado varias estrategias para adquirir hierro. *A. fumigatus* usa sideróforos, que son quelantes masivos específicos de hierro excretados durante la inanición de hierro, para asimilar este elemento. La captación de hierro mediado por sideróforos es esencial para la virulencia de *A. fumigatus*. La enzima ornitina monooxigenasa (SidA), cataliza el primer paso de la biosíntesis de los principales sideróforos. Se han encontrado genes equivalentes al que codifica por SidA en *S. schenckii* por lo que supone que también podría producir el mismo tipo de sideróforos. Se ha demostrado que *S. schenckii* es capaz de producir sus propios sideróforos en respuesta a la baja disponibilidad de hierro. Este mecanismo puede estar directamente involucrado en la patogenicidad y supervivencia bajo condiciones de estrés ambiental (Pérez *et al*; 2010 y Tamez *et al*; 2020).

Los tejidos del hospedero representan un entorno extremo para el crecimiento de hongos, por la baja cantidad de zinc que estos poseen, a tal punto que los mecanismos detrás de la adquisición y regulación de este metal se consideran factores de virulencia, por sí solos. La concentración de zinc libre dentro el hospedero está en una concentración más baja que la requerida para que un hongo tenga un óptimo crecimiento, ya que la mayoría del zinc está unido a proteínas. En *A. fumigatus* se conocen proteínas que permiten el secuestro del zinc de los tejidos para poder ser utilizado por el hongo, genes similares a los que codifican estas proteínas en *A. fumigatus* han sido encontrados en *S. schenckii* por lo que se estima que este último puede tener los mismos mecanismos de adquisición de este metal (Tamez *et al*; 2020).

Además, en general, los hongos patógenos pueden crecer tanto en presencia de O₂ como en condiciones limitantes de este compuesto dentro del hospedador. En el interior del cuerpo humano, los niveles de CO₂ son alrededor de 100 veces mayor que en la atmósfera, oscilando entre el 4.5% al 30 %. La disponibilidad tanto de O₂ como de CO₂ no solo requiere de una adaptación metabólica, sino que también, condiciona la morfología del hongo. En el caso de *S. schenckii* las condiciones de microaerofilia o hipoxia hace que el hongo tome su forma levaduriforme, esta condición se da en los tejidos del hospedero así como también se puede simular *in vitro* colocando el hongo en condiciones microaerófilas con (5 – 10) % de CO₂ (Mungía, Velásquez, Rosas, Guerrero, y Espinoza, s.f.)

5.2.7. Biopelículas

Una biopelícula es una comunidad celular adherida a un sustrato, con células rodeadas por una matriz extracelular y con una organización estratificada que confiere diferentes propiedades a las que se encuentran en las células individuales. La formación de una biopelícula comienza con la adherencia de la célula a una superficie biótica o abiótica, luego ocurre el crecimiento de la comunidad fúngica junto con la producción de la matriz extracelular y finalmente la dispersión de las células de las biopelículas (Tamez *et al*; 2020).

El HSP90, un participante clave en la transición levadura-hifa se ha descrito como un regulador importante para la dispersión y resistencia antifúngica asociada a biopelículas en *C. albicans*. Un ortólogo funcional de este gen ha sido identificado en *S. schenckii*. (Tamez *et al*; 2020).

S. schenckii es capaz de producir biopelículas en entornos experimentales *in vitro* (ver figura 8), con la generación de una red densa de hifas y conidias rodeadas por una matriz extracelular, que mostró mayor resistencia a fármacos antimicóticos. Queda por abordar si las biopelículas pueden generarse en condiciones *in vivo* y, de ser así, la maquinaria molecular que lo controla (Tamez *et al*; 2020).

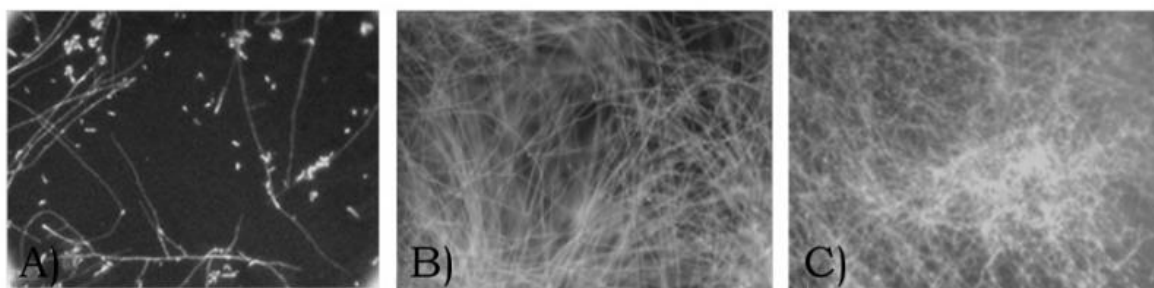


Figura 8: Biopelículas de *S. schenckii*. A) Adhesión y diferenciación de conidias a hifas; B) desarrollo y formación de la biopelícula a 24 h; C) biopelícula madura (48 h) constituida por redes de hifas. Tomado de Sánchez *et al*; 2014

5.2.8. Respuesta ante condiciones de estrés

Además del efecto de protección frente a la fagocitosis, antes mencionado, que tiene la melanina, *Sporothrix* spp; también se protege de las especies reactivas del oxígeno por medio de diferentes reacciones lideradas por la enzima ergosterol peroxidasa y la superóxido dismutasa, las cuales están presentes, también en otros hongos patógenos (Bastos de Lima, de Almeida y Oliveira, 2011 y García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

Según estudios bioinformáticos, *S. schenckii* también posee genes para otras moléculas importantes en la respuesta contra el estrés celular estas son:

- **Catalasas:** permite catabolizar el peróxido de hidrógeno del estallido oxidativo (Tamez *et al*; 2020).
- **Fosfatasa calcineurina activada por calmodulina-calcio:** regula del estrés de la célula fúngica. En *Cryptococcus* spp. permite la termotolerancia a 37 °C. En el caso de *Cryptococcus gattii* toma un papel importante en el desarrollo de la cápsula. En *Candida* spp. se ha relacionado a la producción de micelio y en *Candida glabrata* la calcineurina mantiene la integridad de la pared, ayuda a mantener la homeostasis del pH y las respuestas contra el estrés celular. Además de funcionar como un factor de patogenicidad propiamente dicho, esta molécula se ha comprobado les confiere resistencia a tratamientos antifúngicos en *Candida* spp; *Cryptococcus* spp. y *Aspergillus* spp. Por lo que se podría esperar que suceda también en el caso de *Sporothrix* spp. aunque todavía no hay estudios al respecto (Skoneczny, 2018 y Tamez *et al*; 2020).
- **Tioredoxinas:** protegen al hongo contra el estrés oxidativo (Tamez *et al*; 2020).

En extractos de las levaduras se ha confirmado, una actividad de fosfatasa extracitoplasmática, Y1, y es asociada con la zona microfibrilar de las mismas. Esta fosfatasa ácida se supone que influye en la interacción de las blastosporas de *S. schenckii* con los macrófagos. De forma análoga como lo hacen las fosfatasas ácidas de *Leishmania donovani* con neutrófilos y macrófagos la cual inhibe la producción de superóxido por modificación de receptores de superficie de neutrófilos (Hogan, Klein, Levitz, 1996).

5.2.9 Daño directo al hospedero

Cuando el hongo atraviesa la piel, se da un periodo de latencia que suele durar desde tres días hasta varias semanas. La interacción del patógeno afecta la integridad y polaridad del epitelio; consecuentemente, las uniones intercelulares se alteran y existen cambios morfológicos. En todo lo anterior participa el citoesqueleto, sugiriendo que la adhesión del patógeno al epitelio conlleva a una invasión y daño en los tejidos (Sabanero *et al*; 2006).

Se cree que este hongo posee varias proteinasas extracelulares que hidrolizan el colágeno y la elastina, y que están relacionados con la patogenia (Camargo *et al*; 2012). Se ha demostrado *in vitro*, que puede invadir los vasos sanguíneos por internalización de las blastosporas sin dañar el tejido endotelial y además puede cruzar esta barrera por medio de su matriz extracelular en conjunto con el TFG- β 1, los cuales le permiten la migración transendotelial paracelular. Por lo que su daño directo al hospedero es más reducido en tejido endotelial (Bastos de Lima, de Almeida y Oliveira, 2011)

5.2.10. Toxinas y metabolitos secundarios

Actualmente, no hay informes de producción de toxinas por *S. schenckii*, sin embargo, sí se ha detectado en el genoma de *S. schenckii* un supuesto ortólogo de la gliotoxina de *A. fumigatus*. Y aunque no se puede afirmar que tenga la capacidad para sintetizarlo, si abre la posibilidad de sugerir que *Sporothrix* spp. pueda producir metabolitos secundarios toxigénicos (Tamez *et al*; 2020).

5.2.11. Vesículas extracelulares

Las vesículas extracelulares juegan un papel importante en los hongos y son necesarias para el tráfico de moléculas a través de la pared celular. Estas vesículas contienen una combinación compleja de macromoléculas, incluidas proteínas, lípidos y glucanos (Peres *et al*; 2015).

En *S. schenckii* y *S. brasiliensis*, se han reportado vesículas extracelulares, como en otros patógenos fúngicos. Estas vesículas de *S. schenckii* se han asociado con el transporte de factores de virulencia al compartimento extracelular (Ikeda *et al*; 2018).

Por análisis proteómico del contenido de las vesículas extracelulares, se detectaron varias proteínas relacionadas con procesos como el metabolismo y el transporte, sin embargo, muchas de las proteínas detectadas requieren estudios, tanto para identificar su identidad, como para descubrir cuál es su actividad biológica (Ikeda *et al*; 2018)

Algunas de las que sí fueron identificadas son (Ikeda *et al*; 2018):

- **Proteínas de choque térmico**, implicadas en el proceso de transición de micelio a levadura en hongos termodimórficos, y de gran importancia en la adaptación al hospedero.
- **Proteínas transportadoras**, las cuales son responsables del transporte de moléculas a través de las membranas. En *C. albicans*, la eliminación de genes relacionados con esta proteína condujo a modificaciones estructurales que disminuyeron su virulencia.
- **Enzimas serina / treonina proteína quinasas**, que pueden alterar las proteínas secretadas por las células del hospedero, lo que permite el establecimiento del patógeno. Como la glucanasa de la pared celular que puede facilitar modificaciones de la pared celular y esto puede mejorar su evasión del sistema inmunológico.

5.2.12. Secreción de hidrolasas

Las hidrolasas secretadas, como proteasas, fosfolipasas, y las lipasas constituyen factores clave para la penetración del hospedero por los hongos. Las blastosporas *S. schenckii* posee altas actividades proteolíticas intracelulares y extracelulares que dependen del pH y de otros factores como la fuente de nitrógeno (Sabanero *et al*; 2018)

Al realizar estudios de la actividad proteolítica de las blastosporas de *Sporothrix* spp. se observó que a pH ácido de 5 (similar al pH de la piel) la misma revela una alta actividad proteolítica intracelular, y una menor actividad proteolítica extracelular. Pero a un pH de 7 las enzimas muestran una mayor actividad proteolítica tanto intra como extracelular. Por tanto, la alteración del pH del medio de cultivo puede usarse para forzar la producción *in vitro* de una u otra proteinasa, y la tasa de crecimiento celular no se verá afectada (Sabanero *et al*; 2018)

En cuanto al nitrógeno se ha sugerido que *S. schenckii* en su forma levaduriforme puede utilizar el colágeno como fuente de nitrógeno, liberando proteinasas. Esta observación correlaciona bien con la clínica, donde la forma parasitaria del hongo es la levadura (Tsuboi, Sanada, Takamori, y Ogawa, 1987).

Estas proteasas son parte del proceso de adhesión e invasión del hongo al hospedero. En un estudio realizado por Da Rosa y colaboradores, se demostró que las levaduras de *Sporothrix* spp. producen y liberan enzimas con actividad proteolítica (proteínasa I y II, catepsina y quimiotripsina), esto podría ayudar a explicar la capacidad del hongo para invadir los tejidos del hospedero después de que las conidias se introdujeron, incluso a través de un pequeño trauma. Esto porque en el purificado, la proteínasa I o II hidroliza el estrato córneo humano, el colágeno tipo I y la elastina, componentes naturales de la piel. Se ha determinado que 24 a 48 horas es el tiempo transcurrido entre la invasión de conidios y la transformación a levadura en el hospedero. Este tiempo transcurrido es coincidente con la expresión de actividad proteolítica observada en el día dos en cultivos (Da Rosa, Gezuele, Calegari, y Goñi, 2009).

En *C. albicans*, las aspartil proteasas secretadas (SAP) son codificadas por una familia de diez genes *SAP*, la actividad enzimática de las SAP es clave en la virulencia de este microorganismo. Estas tienen una gran cantidad de sustratos y por tanto pueden degradar muchos tipos de proteínas humanas. Todos los miembros de la familia SAP de *C. albicans* tienen un supuesto homólogo genético en *S. schenckii*, lo que podría sugerir que son actores importantes en la degradación de proteínas durante la invasión de células del hospedero por *S. schenckii* (Tamez *et al*; 2020).

Las lipasas pueden catalizar la hidrólisis de enlaces éster y son también factores de virulencia en bacterias y hongos patógenos. *C. albicans* tiene una familia de diez lipasas, y de ellas, Lip-8 está comprobada su virulencia. Una búsqueda bioinformática dentro del genoma de *S. schenckii* identificó tres supuestos ortólogos de la Lipasa-8 (LIP-8) (Tamez *et al*; 2020).

La hidrólisis de la urea forma parte de la plasticidad metabólica de algunos hongos patógenos para la asimilación de nitrógeno. Este es el caso de *C. neoformans* el cual sintetiza grandes cantidades de Ure1, la ureasa principal requerida para la virulencia completa en modelos animales de criptococosis. La presencia de ureasa en *S. schenckii* ha

sido experimentalmente confirmado y es, de hecho, parte de la caracterización metabólica de cepas del género *Sporothrix* spp. (Tamez *et al*; 2020).

El conocimiento de todos estos factores de virulencia abre la posibilidad de entender las diferencias en la virulencia que existe entre las especies de *Sporothrix* spp; como es el caso para nueve de 60 proteínas expresadas diferencialmente entre *S. brasiliensis* con respecto a *S. schenckii* que no las expresa. Donde todas estas están involucradas en la evasión del sistema inmunitario del hospedero (García, Toriello, Herrera, y Bonifaz, 2018 y Rossato *et al*; 2018). Dichas proteínas se citan a continuación:

- Aminopeptidasa I
- Glucanasa de pared celular extracelular
- Superóxido dismutasa de Mn
- Gluceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH)
- Proteína de choque térmico de 70-kDa proteína 1/8
- Hidroximetil-glutaril-coenzima A (HMG-CoA) liasa
- Acetil-CoA hidrolasa
- Proteína de unión a progesterona
- Ramnolípido biosíntesis 3-oxoacil- (proteína portadora acil) reductasa

6. RESPUESTA INMUNE

La infección con *Sporothrix* spp. ocurre en la mayoría de los casos por la inoculación traumática de blastosporas, conidias o hifas. De forma esquemática se puede resumir esta respuesta inmune en la figura 9.

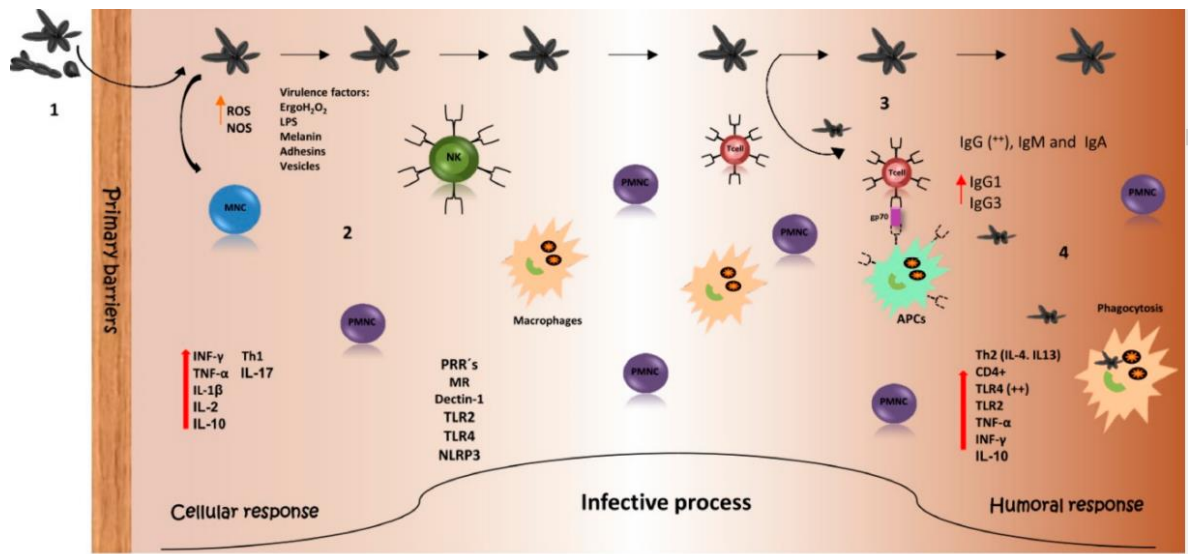


Figura 9: Respuesta inmune del hospedero contra *Sporothrix* spp (García, Lozoya, González, y Martínez, 2018). MNC: Células Mononucleares. PMNC: Células Polimorfonucleares. NK: Células asesinas naturales.

Una vez que el hongo cruza las barreras primarias del sistema inmune, es decir piel y mucosas (punto 1 de la figura 9), los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) desencadenan la respuesta inmune innata, al ser reconocidos por receptores de reconocimiento de patrones (RRP). Este reconocimiento incluye células como los neutrófilos, macrófagos y células dendríticas y moléculas para atacar al invasor como las especies reactivas del oxígeno (punto 2 de la figura 9). Varias moléculas del hongo activan las células T, propiciando una respuesta mixta Th1/Th17 protectora, al ser presentado como antígenos (por ejemplo, el Gp70) (punto 3 de la figura 9). Luego de esta respuesta, se generan anticuerpos protectores contra el hongo (punto 4 de la figura 9). Todo esto ocurre para la eliminación del patógeno (García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

En los siguientes apartados, se explicará en detalle cada uno de los componentes de la respuesta inmune contra *Sporothrix* spp.

6.1 Mecanismos de respuesta inmune mediadas por células

La inmunidad celular contra *S. schenckii* es el mecanismo de defensa inmunológica que controla la infección. Tanto las células T CD4 + como los macrófagos son necesarios para el desarrollo de la formación de granulomas, que es un factor crítico y componente esencial de la defensa normal del hospedero contra el patógeno. Se indica que la formación de granuloma en la esporotricosis puede estar asociada con la respuesta Th1 en las lesiones cutáneas. Tal respuesta Th1 eventualmente activaría macrófagos para eliminar el *S. schenckii* (Uenotsuchi *et al*; 2006).

La inmunidad celular participa en el control de esta patología, y es muy importante, según lo que se comprobó en estudios de transferencia pasiva de células en ratones con esporotricosis que muestran un aumento de la resistencia a la enfermedad. La inducción y expresión de la inmunidad celular en la enfermedad micótica depende de una secuencia compleja de interacciones entre antígenos, fagocitos y linfocitos. El hecho de que la esporotricosis sea más grave y generalmente diseminada en ratones deficientes de células T (desnudos) y en pacientes con SIDA, apoya la idea de que las células T, en especial las CD4+, tienen vital importancia para limitar la extensión de esta infección. Por otro lado, la contribución de las células T CD8+ es insignificante en la respuesta protectora contra *Sporothrix* spp. (Torres, Vásquez, y González, 1997; Tachibana, Matsuyama y Mitsuyama, 1999; Bonifaz, Saúl, Montes de Oca y Mercadillo, 2002 y Zeppone, Fernanda, Bridon, Campos, y Cardoso, 2009).

La relevancia de la respuesta celular mediada por células T contra *S. schenckii*, también ha sido demostrado por la mayor susceptibilidad a este hongo, en ratones atímicos versus ratones normales. Además, cuando los ratones atímicos se les reconstituyen con timocitos, los animales adquieren protección. Otra evidencia que apoya la relevancia de la respuesta inmune celular contra este hongo es la protección lograda después de la reconstitución con células de ganglios linfáticos de ratones preinmunizados a ratones infectados por vía subcutánea. Estos ratones muestran una menor carga fúngica en comparación con los ratones del grupo control. Las células con *S. schenckii* estimulan la producción de IFN- γ , que es un potente inductor de actividad fungicida en macrófagos. Se ha demostrado

experimentalmente, el papel preponderante en la respuesta inmune contra este hongo del IFN- γ . En un estudio se utilizó anticuerpos monoclonales contra esa citosina, y se observó que la infección no puede ser controlada si se bloquea la acción de esta (Tachibana, Matsuyama y Mitsuyama, 1999 y Alba *et al*; 2016).

Otro estudio mostró que después de la infección sistémica de ratones tipo BALB / c con *S. schenckii* sensu stricto, las células NK (natural killers o asesinos naturales) mostraron una mayor madurez fenotípica a los cinco días después de la infección, esto verificado por la expresión de CD11b / CD27. A los 10 días después de la infección, las células NK habían aumentado la expresión del ligando de CD62 (CD62L) y del receptor tipo lectina de la subfamilia G de células asesinas 1 (KLRG1), el cual es un receptor presente en las células NK maduras. Utilizando anticuerpos anti-células NK, la respuesta inmune se ve drásticamente deteriorada, lo que lleva a un aumento de más de ocho veces en la carga fúngica esplénica, acompañada del incremento de la inflamación sistémica, como lo demuestra la producción aumentada de citosinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral α , el interferón-gamma y la interleucina-6 (pero no interleucina-17a), en el bazo y el suero. Por tanto, este hongo puede impulsar la maduración de las células NK *in vivo* y dichas células son fundamentales para la protección *in vivo* contra *S. schenckii* (Souza, Leandro, Campos, y Zeppone, 2018).

Otras células involucradas son los mastocitos, los cuales son residentes, especialmente, en mucosas del tracto digestivo, vías áreas y piel. Su papel en la esporotricosis diseminada se ha demostrado *in vitro* e *in vivo*. Para demostrarlo, un grupo de investigadores utilizó un modelo murino (ratones sanos machos BALB / c con un peso de 20-25 g, en condiciones reguladas de temperatura y ciclos de luz y oscuridad). Se obtuvo dos grupos de ratones, el grupo experimental a los cuales se les depletó funcionalmente los mastocitos peritoneales por medio de una inyección con C48 / 80 (un activador de la degranulación de los mastocitos) y el grupo control que sólo se les inyectó solución salina. Posteriormente, se les inoculó peritonealmente, a ambos grupos, una suspensión de conidias de *S. schenckii*. Se observó que el agotamiento funcional de los mastocitos peritoneales antes de la infección por *S. schenckii* redujo significativamente la gravedad de las lesiones cutáneas de la esporotricosis comparado con el grupo control. Además, *in vitro*, por medio de cultivos de mastocitos estimulados con conidias de *S. schenckii* se determinó que son capaces de desgranularse para liberar histamina y producir factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e IL-6, desempeñando así un papel en la afluencia inicial de neutrófilos que participa en la

conversión de micelio a levadura. Por lo que se puede llegar a concluir que los mastocitos contribuyen a la diseminación fúngica y al empeoramiento de la enfermedad (Romo, Hernández y Salinas, 2012 y Conceição y Nazaré, 2018).

También, en un estudio realizado con esporotricosis cutánea, en ratones deficientes de mastocitos, se observó que los ratones normales infectados con *S. schenckii* desarrollaron lesiones más grandes que los ratones con deficiencia de mastocitos. Los ratones con deficiencia de mastocitos son significativamente menos susceptibles a desarrollar lesiones grandes por *S. schenckii* y tienen una menor carga fúngica en el pico de infección. Esto se puede explicar en parte, a la síntesis de *novus* de citosinas proinflamatorias por parte de los mastocitos como: TNF, IL-6, IL-10 y IL-1b. Los mastocitos activados por *S. schenckii* promueven la inflamación de la piel, lo que agrava la esporotricosis cutánea (Jiao *et al*; 2020).

Luego de producirse la inoculación del hongo en el tejido, se va a dar la presentación antigénica, y se despertará la respuesta celular de tipo Th1/Th17, con el chancro esporotricótico. El mecanismo inmunológico involucrado en la prevención, control y erradicación del *Sporothrix* spp todavía no se comprende en su totalidad. Se considera que la fagocitosis provee una importante barrera en el curso de la infección clínica, las células dendríticas, los neutrófilos y macrófagos pueden fagocitar las células fúngicas. La fagocitosis junto a la producción de especies reactivas de oxígeno son mecanismos por los cuales se eliminan las células de *S. schenckii*, esto se comprobó por medio de modelos murinos con ratones que presentan la enfermedad granulomatosa crónica (un defecto en el complejo NADPH oxidasa, por lo que lo que hay una producción deficiente de especies reactivas del oxígeno). Los ratones con esta inmunodeficiencia no pudieron controlar la infección, e incluso se diseminó en el cuerpo. Adicionalmente, cabe mencionar, que estudios con las células dendríticas dérmicas murinas, demuestran que éstas participan en la inducción de las respuestas inmunitarias contra la infección por *S. schenckii* por medio de la fagocitosis y la expresión de IL-12, pero no de IL-4, lo que sugiere la posible activación de respuestas inmunes propensas a Th1 (Borelli, D; 1964; Kajiwarra *et al*; 2004; Mayayo, Capilla y Arrillaga, 2009; Saúl y Bonifaz; 2011 Kusuhara *et al*; 2014 y García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

En cuanto a las células dendríticas y su participación en la respuesta inmune ante este hongo, un estudio demostró que los aislamientos de *S. schenckii* de origen cutáneo son mucho más potentes para activar estas células, produciendo una respuesta Th1, en

comparación con *S. schenckii* de aislamientos de origen visceral, que activan débilmente a las células dendríticas y la respuesta Th1 y propician más bien una respuesta Th2. Aunque los mecanismos para comprender estas observaciones continúan en estudio (Uenotsuch *et al*; 2006)

La respuesta inmune celular de tipo Th1, contra *Sporothrix* spp. se caracteriza por un aumento en los niveles de citosinas como IFN- γ , que activa las células efectoras del sistema inmune y la IL-12, que induce una mayor producción de IFN- γ y activa los linfocitos CD8 +, aunque como ya se mencionó estos no son adecuados para controlar este tipo de infección (Alba *et al*; 2016).

A su vez, la IL-12 aumenta la actividad de la mieloperoxidasa de los macrófagos, esto se evidenció por medio de la administración *in vivo* de interleucina-12 recombinante murina antes de la infección con *S. schenckii*, la cual induce activación de estos fagocitos profesionales (Flores *et al*; 2014).

La pared celular del patógeno juega un papel muy importante porque contiene los principales puntos de contacto con el hospedero, que promueve una respuesta inmune mixta Th1 / Th17 capaz de conferir resistencia a través de la secreción de citosinas como IFN- γ , TNF- α y la IL-17a, que activan macrófagos y neutrófilos para la eliminación de hongos. Los IFN- β pueden activar los macrófagos durante la respuesta Th1, se considerada una citosina muy importante en la infección por esporotricosis, dado que puede conferir protección mediante la eliminación de los hongos. La IL-17a es producida por las células Th17 y está involucrada en la reparación y activación de las barreras epiteliales (Borelli, 1964; Mayayo, Capilla y Arrillaga, 2009; Saúl y Bonifaz, 2011 y García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

El TNF- α es una citosina que actúa sobre los macrófagos activados para producir óxido nítrico, un producto antioxidante que presenta un alto efecto citotóxico contra *S. schenckii*, esto especialmente, al inicio y al final de la infección (Bastos de Lima, de Almeida, Oliveira, 2011).

En los modelos experimentales, se presenta una respuesta mixta Th1/Th17, pero incluso en ausencia de células Th1, las células Th17 pueden controlar la carga fúngica (Conceição y Nazaré, 2018).

Los PAMPs son moléculas conservadas e invariables que se presentan en muchos organismos patógenos. Los carbohidratos que componen la pared celular de los hongos

son el principal PAMP de estos microorganismos reconocidos por los RRP. La composición de la pared celular de los hongos varía entre las diferentes especies y van a depender del estado de crecimiento, del morfotipo (micelial o levaduriforme), del ambiente y exposición a drogas antifúngicas, por lo que es una diana cambiante para el sistema inmune (Miró *et al*; 2016 y Coates, Blanchard, y MacLeod, 2018).

Las células del sistema de defensa innato expresan una variedad de PRRs codificados en su línea germinal. La activación de los PRRs tiene entre sus principales funciones (Moalli *et al*; 2010):

- Activar al sistema inmune innato estimulando la fagocitosis o la opsonización.
- Activar el sistema inmune adquirido, estableciendo así una conexión entre ambos sistemas. Por ejemplo: la activación de estos receptores inicia una cascada de reacciones intracelulares que van a promover que otras células como las células T colaboradores respondan resolviendo la infección.

Estos pueden ser celulares como Receptores similares a Toll (TLRs), Receptores tipo lectina C (CLRs), Receptores similares a NOD (NLRs) y Receptores de la familia de galectina de las proteínas (Moalli *et al*; 2010).

Uno de los principales RRP que poseen actividad contra *S. schenckii* es la Dectina-1, este es un receptor tipo Lectina C, expresados en los macrófagos polimorfonucleares, monocitos, célula dendrítica plasmacitoides, célula dendrítica mieloide, célula de Langerhans, células T y células B (Domínguez, A. 2008; de Jong *et al*; 2010 Klibbler *et al*; 2018; Goyal, Castrillón, Klaile, y Slevogt, 2018 y R&D Systems Tools for Cell Biology Research, 2020).

Se ha demostrado que el bloqueo por medio de anticuerpos anti-Dectina-1, disminuye la producción de citoquinas que propician la fagocitosis de este microorganismo. La Dectina-1 es crucial para la producción de citoquinas por parte de células mononucleares de sangre periférica, que mediarán el reconocimiento de *S. schenckii* pero no es así para *S. brasiliensis* (García, Lozoya, González, y Martínez, 2018 y Goyal, Castrillón, Klaile, y Slevogt, 2018).

La Dectina-1 al ser estimulada por *Sporothrix* spp. incrementa la producción de IL-10, como parte de la respuesta inmune contra este microorganismo, pero su esta dependerá de la morfología y la especie, esto se resumen en el cuadro 5:

Cuadro 5: Efecto de la Dectina-1 en *S. schenckii* y *S. brasiliensis* según su morfotipo, correlacionado con el porcentaje de glucosa en su pared

Forma	Especie	Efecto de la Dectina-1	Porcentaje de glucosa
Levaduras	<i>S. schenckii</i>	Estimula la producción de IL-10	39.5 +/- 4.2
	<i>S. brasiliensis</i>	Estimula la producción de IL-10	43.1 +/- 2.3
Conidias	<i>S. schenckii</i>	Estimula la producción de IL-10	46.3 +/- 7.5
	<i>S. brasiliensis</i>	No tiene efecto	52.7 +/- 7.7
Forma micelial	<i>S. schenckii</i>	Estimula la producción de IL-10	52.0 +/- 1.4
	<i>S. brasiliensis</i>	No tiene efecto	51.5 +/- 2.9

Modificado de (Martínez *et al*; 2017)

La cantidad de β -glucana se puede correlacionar con el porcentaje de glucosa, esto según varios estudios al respecto a la composición de pared entre estos géneros. Como se observa en el cuadro anterior, el porcentaje de β glucanos, varían entre los diferentes morfotipos de una misma especie, pero esa diferencia no es significativa comparando el mismo morfotipo entre ambas especies. Al parecer, la incapacidad de reconocimiento de la forma micelial (y sus respectivas conidias) de la especie *S. brasiliensis*, por la Dectina-1, se debe al enmascaramiento natural de las β 1,3-glucanas, por otros componentes de la misma pared. Esto se logró demostrar al aplicar calor a los diferentes morfotipos de *S. brasiliensis*, (esto mata al microorganismo), pero a su vez, expone sus componentes de pared más internos, en cuyo caso *S. brasiliensis*, logró un mejor reconocimiento por la Dectina-1 (Martínez *et al*; 2017).

Diferentes especies parecen inducir diferentes respuestas inmunes en el hospedero debido a la composición de la pared. En este contexto, las células inmunes humanas reconocen diferencialmente a *S. schenckii* y *S. brasiliensis*. Esta última induce una mayor expresión de IL-10 y menor expresión de TNF e IL-6, y la expresión de IL-10 depende del reconocimiento de sus levaduras por la Dectina-1 en las células humanas (Conceição y Nazaré, 2018).

Cabe mencionar, que otros hongos dimórficos como *Histoplasma capsulatum*, *Paraccoccidioides brasiliensis* y *Blastomyces dermatitidis* ocultan la presencia de β -glucanas por medio de la expresión de α -glucanas en su pared. En el caso de *Sporothrix* spp. se ha comprobado que no produce α -glucanas (Lopes *et al*; 2018b).

Por otro lado, el receptor MR (otra Lectina C) es importante en la secreción de citoquinas proinflamatorias por medio de las células mononucleares de la sangre periférica, las cuales permitirán el reconocimiento de las conidias de *S. schenckii* y las levaduras de *S. brasiliensis*, pero tendrá un menor papel en el reconocimiento de las levaduras de *S. schenckii*. La fagocitosis de conidias, pero no de levadura de *S. schenckii*, puede indicar que los dos morfotipos son reconocidos por diferentes receptores en la superficie de las células inmunes. Otros receptores reportados como importantes en el control de la esporotricosis son receptores tipo Toll, específicamente, el TLR-2 y el TLR-4. Esto se comprobó por medio de modelos murinos mutantes deficientes en estos receptores, en los cuales la infección se vio afectada, por el no reconocimiento del microorganismo por el sistema inmune innato y una baja producción de TNF- α , IL-1 β , IL-2 y IL-10 (Sassá *et al*; 2009; García, Lozoya, González, y Martínez, 2018 y Goyal, Castrillón, Klaile, y Slevogt, 2018).

El TLR-2 puede estimular la producción de citosinas que promueven la respuesta TH1 y TH17, estas citosinas son TNF- α , IL-12, IL-1b, IL-10, IFN- γ , IL-6, IL-17, TGF- β y óxido nítrico (Conceição y Nazaré, 2018).

El receptor NLRP3 (Receptor tipo NOD con dominio Pyrina conteniendo proteína 3), es un receptor de reconocimiento de PAMPs, el cual detecta β 1,3 glucanas, y está presente en macrófagos, monocitos, células dendríticas y neutrófilos polimorfonucleares. Cuando es activado por *Sporothrix* spp. promueve la producción de las interleucinas proinflamatorias, IL-1b y IL-18, que contribuyen en la defensa contra el hongo. Así también, el NLRP3 también juega un papel importante mediando la respuesta Th, uniendo las respuestas inmunes innata y adaptativa; demostrando así, que hay una adecuada respuesta linfocítica, en contraste a otras investigaciones que habían informado que esta micosis producía inmunodeficiencia (Mayayo, Capilla y Arrillaga, 2009; Correa, Milutinovic, y Reed, 2012; Costa *et al*; 2017; Montano, Fortoul y Rendón, 2017; Klibbler *et al*; 2018 y García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

El peptido-ramnomanano que se encuentran en especies del complejo *S. schenckii*, así como en otros hongos como *Pseudoallescheria boydii* es el componente principal de la pared celular externa; son cadenas de polisacáridos unidas mediante enlaces O y N, asociadas a péptidos, en los cuales toma importancia las ramnosas, especialmente cuando se encuentran como cadenas terminales de oligosacáridos unidos por enlaces O y se presentan en su forma no reducida. Esto porque funcionan como el principal epitopo de la pared de *Sporothrix* spp. (Fernandes, Mathews, y Lopes, 1999; Sassá *et al*; 2009 y Figueiredo, *et al*; 2010).

Estas moléculas tienen gran importancia esto porque se ha observado que las ramnomananas despiertan la respuesta inmune mediada por TLR-4 permitiendo fagocitosis y respuesta proinflamatoria. Pero también se ha relacionado con Reacción de Hipersensibilidad tipo IV, así como la respuesta por anticuerpos (Fernandes, Mathews, y Lopes, 1999).

También, se ha demostrado en estudios experimentales que las cepas de *S. schenckii* van a diferir en su virulencia según su concentración proporcional entre ramnosas/manosas. Entre mayor contenido de ramnosas en su pared son más virulentas (Arrillaga, Capilla, Fernández, Fariñas y Mayayo, 2010).

A continuación se presenta un resumen de los principales PAMPS y su respectivo receptor de reconocimiento (ver cuadro 6).

Cuadro 6: Resumen de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) reconocidos por RRP's en *Sporothrix* spp.

Nombre receptor	PAMPs	Especie reconocida
Dectina-1	β 1,3 glucanas	<i>S. schenckii</i> <i>S. brasiliensis</i> (solo levaduras)
MR	α Mananas	Conidias de <i>S. schenckii</i> Levaduras de <i>S. brasiliensis</i>
TLR-2	Zimosán (β -1,3-glucanas)	<i>Sporothrix</i> spp.
TLR-4	Péptido-ramnomananas	<i>Sporothrix</i> spp.
NLRP3	β 1,3 glucanas	<i>Sporothrix</i> spp.

Tomado y modificado de (Fernandes, Mathews, y Lopes, 1999; Mayayo, Capilla y Arrillaga, 2009; de Jong *et al*; 2010; Costa *et al*; 2017; Goyal, Castrillón, Klaile, y Slevogt, 2018;

García, Lozoya, González, y Martínez, 2018; Klibbler *et al*; 2018 y R&D Systems Tools for Cell Biology Research, 2020).

6.2 Mecanismos inmunes de respuesta humoral

Aunque estas evidencias sugieren que el control de estos patógenos depende de la respuesta mixta Th1/Th17, la activación de la respuesta Th2 también es importante durante la generación de una respuesta inmune anti-*Sporothrix* spp.; especialmente en pacientes etapas avanzadas de la infección (Lopes *et al*; 2018a).

La respuesta inmune humoral es impulsada por la IL-4 producida por las células Th2. En la esporotricosis experimental, la liberación de IL-4 se incrementa a la quinta a sexta semanas después de la infección, lo que sugiere la participación de la respuesta inmune humoral solo en etapas avanzadas de la esporotricosis (Bastos de Lima, de Almeida, Oliveira, 2011). Los ratones atímicos pudieron controlar la infección mediante la administración de anticuerpos anti-*Sporothrix* spp. Esto muy probablemente a través de dos mecanismos: un aumento de la inmunidad mediada por células y producción de IFN - γ y/o la inhibición de la adhesión de la levadura al tejido del hospedero y a la matriz extracelular por los anticuerpos (García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

La respuesta Th2 se caracteriza por la presencia de IL-4, que favorece y mantiene el desarrollo de subpoblaciones de linfocitos Th2 y la producción de IL-10, que inhibe la síntesis de IL-12. Adicionalmente, la producción de anticuerpos es otra característica distintiva de la respuesta Th2. Aunque la respuesta inmune humoral a *S. schenckii* está poco estudiado, ésta si ha sido identificada en pacientes con esporotricosis. Curiosamente, ratones con esporotricosis experimental muestran respuesta Th1 durante el todo el período infeccioso y desarrollan una respuesta Th2 solo durante las fases más avanzadas (Alba *et al*; 2016).

Antes se consideraba que la inmunidad mediada por anticuerpos era irrelevante en la defensa del hospedero contra *Sporothrix* spp. pero los métodos experimentales han podido establecer un papel fundamental para la respuesta humoral en la prevención, control y tratamiento de la esporotricosis. Los ratones infectados con *S. schenckii* exhiben una respuesta Th2 representada por los isotipos IgG1 e IgG3 específicos para la glicoproteína 70 kDa solubles (Alba *et al*; 2016 y García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

Por otro lado, las levaduras *S. schenckii* son capaces de activar el complemento, tanto de la vía clásica como alternativa, esta última independientemente de la presencia de anticuerpos (García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

La lectina de unión a manosa (MBL) y la serina proteasa-2 asociada a MBL (MASP-2) son proteínas importantes en la vía de lectina del complemento. Se ha informado que las deficiencias de lectina de unión a manosa y MASP-2 son responsables de diversas infecciones fúngicas. Recientemente, se reportó que los pacientes con esporotricosis tenían niveles disminuidos de MBL y MASP-2 en sus muestras de suero en comparación con los controles (Bao *et al*; 2019).

La presencia de isotipos de anticuerpos IgG, IgM e IgA contra exoantígenos miceliales de *Sporothrix* spp. en suero de pacientes también se ha descrito durante la esporotricosis. Estos anticuerpos permanecieron detectables durante el tratamiento de la enfermedad en la mayoría de los pacientes, pero disminuyeron con el tiempo de tratamiento. La presencia de estos anticuerpos durante la esporotricosis tiene un papel importante en la patogénesis de la enfermedad, ya que se ha demostrado que la IgM activa el complemento mediante la vía clásica, y la IgA participa en el caso de afectación de la mucosa. (García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

6.3 Evasión de la respuesta inmune

6.3.1 Inhibición de la fagocitosis

El reconocimiento del hongo está mediado por los receptores como el TLR2, TLR4 y los receptores de carbohidratos. Los residuos de ácido siálico se expresan en la superficie celular de *S. schenckii*. Se comprobó que estos residuos protegen las estructuras fúngicas no opsonizadas de la fagocitosis, esto en macrófagos peritoneales de ratón. La eliminación enzimática de ácidos siálicos de las capas externas de *S. schenckii* hace que sean más susceptibles a fagocitosis (Téllez *et al*; 2014). Estudios *in vitro* han demostrado que el galactomanano, el ramnomanano y un extracto lipídico purificado de la pared celular fúngica son capaces de inhibir la fagocitosis de las levaduras de *S. schenckii* por macrófagos peritoneales (Carlos, Sgarbi, Santos y Placeres, 2002).

6.3.2. Producción de proteasas

Se ha comprobado la capacidad proteolítica de los extractos de *Sporothrix* spp. sobre las inmunoglobulinas de tipo IgG. Las proteasas pudieron interactuar con las inmunoglobulinas a un pH y temperatura similares a las observadas en los procesos inflamatorios, escindiendo tanto la IgG1 como la IgG2 en el microambiente de las levaduras vivas y produciendo fragmentos de polipéptidos consistentes en peso molecular con Fab y Fc. Además, posee una gluconasa que es liberada y produce remodelación de las membranas celulares produciendo lisis celular en macrófagos y otras células (Da Rosa, Gezuele, Calegari, y Goñi, 2009; Bastos de Lima, de Almeida y Oliveira, 2011 y García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

6.3.3 Inmunosupresión transitoria

Diferentes informes derivados de modelos de infecciones en ratones con *S. schenckii* revelan una inmunosupresión temprana transitoria, favoreciendo el crecimiento fúngico (Téllez *et al*; 2014).

Un estudio en ratones tipo BALB / c a los cuales se inoculó blastosporas de *S. schenckii* intravenosamente, vieron reducida severamente, la producción de la IL-1 y TNF, en las semanas cuatro y seis de infección y fue mayor de lo normal en las octavo a décima semana. Además, entre las semanas cuatro y seis de infección, hubo una depresión de la hipersensibilidad de tipo retardado (hipersensibilidad tipo IV) y un aumento en la multiplicación de hongos en los hígados y bazo de los ratones infectados. Por lo tanto, la deficiencia de la inmunidad celular en ratones con esporotricosis sistémica puede derivar en parte, por una alteración del sistema inmune debido a la generación anormal de IL-1 y TNF (Carlos, Sgarbi, Santos y Placeres, 2002 y Téllez *et al*; 2014).

Además, la mayoría de las especies de importancia médica de este complejo producen melanina, que inhibe la fagocitosis. También, *Sporothrix* spp. se protege de las especies reactivas del oxígeno por medio de diferentes reacciones lideradas por la enzima ergosterol peroxidasa y la superóxido dismutasa, las cuales están presentes, también en otros hongos patógenos (Bastos de Lima, de Almeida y Oliveira, 2011 y García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

Otro estudio, evaluó un extracto de lípidos de la pared de *S. schenckii* y se observó una inhibición drástica de la fagocitosis de la levadura en macrófagos peritoneales murinos previamente tratados con el extracto lipídico de la pared (Carlos, Sgarbi, Santos y Placeres, 2002)

Este efecto inhibitorio se asoció con una alta producción de TNF- α y óxido nítrico. Un estudio demostró un aumento de la carga fúngica de *S. schenckii* en un modelo murino, posterior a la producción máxima de óxido nítrico, durante la segunda y cuarta semana. También, se ha informado que el óxido nítrico induce una población de células T reguladoras CD4 + activadas por óxido nítrico (NO-Tregs) que suprimen las funciones de las células T efectoras CD4 + *in vitro* e *in vivo*. Las células Th17 son importante en los mecanismos antifúngicos. Recientemente, se descubrió que las NO-Tregs suprimió la diferenciación y función de las células Th17 pero no Th1, lo que sugiere una función supresora diferencial entre las NO-Tregs y Tregs naturales (Téllez *et al*; 2014).

Aunque el óxido nítrico es una molécula fungicida, este compuesto puede estar implicado en la inmunosupresión *in vivo*. Se ha observado que después que las levaduras se diseminan en los tejidos, se liberan altos niveles de TNF- α y óxido nítrico lo que induce la producción de moléculas como la IL-10, FasL y CTLA-4 que suprimen las respuestas de las células T (Fernandes *et al*; 2008).

6.3.4. Liberación de exoantígenos

Un péptido-polisacárido liberado de la pared celular fúngica, llamado exo-antígeno (ExoAg), se ha identificado como un factor de virulencia importante para la esporotricosis. EL ExoAg tiene en su composición la glicoproteína Gp70, por tanto, es altamente inmunogénico (Nascimento *et al*; 2008).

La liberación de este antígeno, así como parte de la pared en el fenómeno de Shedding causa antigenemia o inflamación a una distancia del sitio en el que se encuentra la célula madre del patógeno (Lopes *et al*; 2018b).

6.4. Inmunizaciones (vacunas)

En cuanto a las inmunizaciones experimentales, tanto con la fase levaduriforme como la fase micelial, con los agentes causales de la esporotricosis, clásicamente, se ha

considerado que no brindan protección contra nuevas infecciones. En las infecciones experimentales, la experiencia demuestra que, con múltiples inoculaciones, curadas o en evolución, se obtiene una protección mínima, nula o dudosa contra nuevas infecciones. La curación espontánea o terapéutica no trae en el hombre inmunidad y se han dado casos de reinfecciones (Borelli, 1964). Sin embargo, más recientemente, se menciona que en zonas endémicas podrían darse casos de resistencia natural ante el hongo (que puede ser de origen genético o por la exposición repetitiva con el agente), lo que trata de justificar que en esas zonas los casos se presentan usualmente en niños y adultos jóvenes (Saúl y Bonifaz, 2011).

Varios componentes secretorios de la pared de *S. schenckii* son altamente inmunogénicos y, por lo tanto, son objetivos potenciales para el desarrollo de vacunas y pruebas serológicas para el diagnóstico y tratamiento de la esporotricosis (Alba *et al*; 2016). Uno de estos componentes son las glucanas peptidoramnomanas, un componente único de *S. schenckii*, que contiene α -manobiosa y ácido α glucorónico, que se encuentran en las paredes de las blastosporas y pueden ser separados en dos fracciones según su capacidad de unión a la concanavalina A (Con-A). La fracción que se une a Con-A es relevante para el diagnóstico de esporotricosis en humanos, ya que, el péptido es reconocido en un 100 % de sueros de pacientes que sufren esporotricosis cutánea. En otras formas clínicas, la misma fracción demuestra 90 % de sensibilidad y 86 % de la eficiencia global (Alba *et al*; 2016 y Arenas, 2019).

Estas moléculas tienen gran importancia esto porque se observó que las ramnomanas despiertan la respuesta inmune mediada por TLR-4 permitiendo fagocitosis y respuesta proinflamatoria. Pero también se ha relacionado con Reacción de Hipersensibilidad tipo IV, así como la respuesta por anticuerpos (Fernandes, Mathews, y Lopes, 1999).

Estudios más recientes han informado que se puede desarrollar una respuesta inmune específica por anticuerpos, después de una infección previa o inmunización activa con proteínas de la pared celular de *Sporothrix* spp. o células enteras. Es decir, después de la inmunización, se pueden detectar anticuerpos contra varios antígenos fúngicos (García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

Análisis de los sueros de pacientes infectados con este hongo demuestran dos situaciones, que se muestran en el cuadro 7.

Cuadro 7: Perfil de especificidad de anticuerpos de pacientes con esporotricosis

Forma clínica	Tipo de proteínas reconocidos
Esporotricosis cutánea	15 a 20 proteínas Peso molecular entre 22 a 70 kDa
Esporotricosis extracutáneas	8 a 10 proteínas Peso molecular entre 40 and 70 kDa

Tomado de: (Alba *et al*; 2016).

En particular, los antígenos inmunodominantes fueron proteínas de 40 y 70 kDa las cuales fueron identificadas en todas las muestras de suero. Esto confirma otros estudios en los que se han detectado moléculas muy antigénicas las llamadas glicoproteínas Gp60 y Gp70, conocidas así por su peso molecular de 60 y 70 kDa, respectivamente. La Gp60 sólo se ha detectado en las formas levaduriformes de *S. schenckii* sensu stricto, *S. brasiliensis*, y *S. globosa*. Por otro lado, la Gp70 (la cual ya fue mencionada, en el apartado de adhesión, como un factor de patogenicidad) se encuentra tanto en la forma levaduriforme como en el estado saprófito. Se demostró que esta molécula puede servir como diana terapéutica, esto según experimentos con ratones que resolvieron la infección luego de ser inoculados intraperitonealmente con levaduras de *S. schenckii* y a los cuales se les aplicó inmunización pasiva con anticuerpos heteroclonales anti-Gp70. Es posible que estos anticuerpos funcionen como opsoninas y facilitan la fagocitosis del hongo (Nascimento y Almeida, 2006, Messias *et al*; 2015 y Alba *et al*; 2016).

Se han descrito varios péptidos antigénicos en la pared de *Sporothrix* spp. Estos son capaces de inducir la proliferación (*in vitro*) de células T sensibilizadas con *S. brasiliensis*. Entre ellos están el péptido ZR3, que es una secuencia de una proteína importina, el péptido ZR4 que proviene de una proteína hipotética y el ZR8, que es un péptido de la glicoproteína Gp70; las tres inducen una alta proliferación celular (García, Lozoya, González, y Martínez, 2018)

Según un estudio reciente, el péptido ZR8 es el antígeno de la glicoproteína GP70 del complejo *S. schenckii* que tiene el mejor potencial, para realizar una vacuna al aumentar la activación de la las células T CD4 + y produce niveles más altos de IFN- γ , IL-17A e IL-1 β , produciendo una fuerte respuesta inmune celular (Fogaça *et al*; 2018)

En base a esto, se desarrolló y probó una vacuna en un modelo con ratones BALB/c machos de 5-7 semanas. La inmunización con proteínas de la pared celular de *S. schenckii*

adsorbida en hidróxido de aluminio, la cual indujo anticuerpos IgG1 e IgG2 específicos contra la pared. La IgG2 participa en varios mecanismos, incluida la fijación del complemento y la unión a los receptores Fc y que estimula la fagocitosis en ratones. Además, esta activación tiene un papel importante en la producción de componentes proinflamatorios ya que se induce la secreción de TNF- α y IL-1b, esto demostrado en otro estudio, que no utiliza esta glicoproteína, si no usando la técnica de inmunización pasiva con anti-gp70 monoclonales. El TNF- α es una importante citosina proinflamatoria involucrado en el control de la esporotricosis, se ha informado de un caso de esporotricosis diseminada en un paciente tratado con antagonistas del TNF- α , presumiblemente para el tratamiento de artritis inflamatoria. Este caso ilustra la importancia del TNF- α en el control de esporotricosis; además hace pensar que esta inmunización pasiva, podría ser un tratamiento prometedor, ya que se observó la reducción significativa en el número de unidades formadoras de colonias (UFC) del hongo en órganos de ratones cuando se inyectó el anticuerpo monoclonal antes y durante la infección por *S. schenckii* (Nascimento *et al*; 2008; de Lima, Nascimento, Ferreira, Almeida, 2011; Leandro *et al.*, 2016 y García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

Estas glicoproteínas (Gp60 y Gp70), son fuertes inmunoreguladores y permiten al hongo evitar la respuesta inmune adecuada. Se tiene el reporte de una investigación, que evalúa los efectos inmunológicos de la Gp60 purificada en modelos murinos con esporotricosis subcutánea experimental (infectados con conidias de *S. schenckii*) en linajes de ratones genéticamente conocidos (C57BL/6 y BALB/c) preinmunizados con gp60, comparados con controles de ratones de los mismos linajes, pero sin preinmunizar. Los resultados mostraron que ambas cepas de ratones usan diferentes perfiles de citoquinas para combatir la infección. Los ratones C57BL/6 parecen usar una respuesta aTh17, mientras que los ratones BALB/c tienden a depender de un perfil aTh1. La preinmunización con Gp60 mostró un efecto de regulación negativa sobre la respuesta inmune ya que los niveles de citosinas disminuyeron en ambas cepas. No hubo diferencias significativas en la magnitud de la inflamación entre los preinmunizados y los no inmunizados. Sin embargo, las lesiones cutáneas debidas a la infección en ratones preinmunizados con Gp60 fueron más graves en BALB/c que en ratones C57BL/6, lo que sugiere que el antígeno ejerce un mayor efecto de regulación negativa en la respuesta Th1 (ver figura 10) (Alba *et al*; 2016).



Figura 10: Ulceración dorsal de los miembros inferiores de ratones no inmunizados y preinmunizados con gp60. (a) C57BL/6 no inmunizados, (b) C57BL/6 preinmunizados con gp60 (c), BALB/c no inmunizados, (d) BALB/c preinmunizados con Gp60 (Alba *et al*; 2016).

Estos resultados podrían explicar por qué los anticuerpos monoclonales dirigidos contra otros antígenos de *S. schenckii* como Gp70 tienen un efecto inmunoprotector en modelos murinos. Pero los anticuerpos contra Gp70 no son los únicos que tienen un papel protector contra la infección por *S. schenckii*, ya que la inmunización pasiva de sueros de ratones que contienen anticuerpos contra una hidrolasa de 44 kDa y una enolasa de 47 kDa ha demostrado una protección durante la esporotricosis murina (Alba *et al*; 2016).

La enolasa de 47kDa, forma parte de la pared de *Sporothrix* spp; pero también hay estudios que evalúan el potencial protector de una enolasa recombinante (rSsEno) formulado con o sin el adyuvante Montanide Pet-GelA (PGA) contra la infección de *S. brasiliensis* en ratones. Los ratones que fueron inmunizados con rSsEno con PGA mostraron títulos de anticuerpos incrementados contra rSsEno y aumento de la mediana del tiempo de supervivencia cuando se infectaron con *S. brasiliensis* en comparación con ratones que no habían sido inmunizados o que fueron inmunizados con rSsEno sin el coadyuvante. Produciéndose citosinas que median la respuesta Th1, además de niveles elevados de IFN- γ e IL-2, así como de otras citosinas involucradas en defensa del hospedero contra la esporotricosis, como TNF- α , IL-6 e IL-4 (Portuondo *et al*; 2019).

Otra forma de inmunización es utilizando una mezcla conidias de *S. schenckii* inactivadas en conjunto con la toxina del cólera, e inoculándolas en ratones, la cual induce una respuesta inmune celular mediada por células T CD4+, que producen principalmente interleucina 17 (IL-17) y por tanto una respuesta Th17 protectora, a diferencia de la inoculación con conidias vivas que estimulan a las T CD4+ para que produzcan IFN- γ , el cual produce una fuerte respuesta de hipersensibilidad retardada (García, Toriello, Herrera, y Bonifaz, 2018).

Los hongos pueden usar componentes de los efectores inmunes del hospedero para sobrevivir. En este sentido, los cuerpos asteroides se presentan como levaduras esféricas cubiertas por capas concéntricas de material depositado como IgG e IgM. El material depositado confiere resistencia fúngica a la respuesta inmune específica protegiendo los antígenos fúngicos y manteniendo la viabilidad y supervivencia de los hongos (Conceição y Nazaré, 2018).

Un estudio demostró que las levaduras ubicadas en el centro de los cuerpos asteroides eran viables, como lo muestra la generación de tubos germinales y formación de conidias después de 36 a 48 horas de incubación a 22 °C. La levadura central podría dividirse y proliferar incluso en los cuerpos asteroides que habían sido pretratado con suero específico anti-*S. schenckii* y complemento fresco. Los datos sugieren que cuerpos asteroides en la esporotricosis podría ser una estructura de resistencia que utiliza las moléculas inmunes del hospedero en beneficio de la levadura (Da Rosa, Gezuele, Calegari y Goñi, 2008)

7. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Existen diferentes formas de clasificación de las manifestaciones clínicas según el autor consultado, esto se debe a la observación clínica que realizan los galenos, además de la interposición de las manifestaciones de los mismos cuadros clínicos, que pueden evolucionar de uno a otro o manifestarse al mismo tiempo, esto según el estadio de la enfermedad, así como del estado inmune del paciente.

Para este trabajo se estudiarán los cuadros clínicos según la siguiente clasificación (Saúl y Bonifaz, 2011 y Arenas, 2014).

Manifestaciones cutáneas primarias:

- Esporotricosis linfocutánea (70%): presenta las variedades superficial micetomatoide, verrucosa, linfágica facial infantil y recurrens cicatrisans.
- Esporotricosis cutánea fija (25%): presenta una variedad conocida como: esporotricosis cutánea superficial (dermoepidérmica o escrofulosa)

Manifestaciones diseminadas

- Cutánea diseminada (hematógena) (1-2%)
- Sistémica

Manifestaciones extracutáneas:

- Osteoarticular
- Pulmonar
- Meníngea

Manifestaciones de hipersensibilidad y Síndrome inflamatorio de Reconstitución Inmune

7.1 Esporotricosis Linfocutánea

Esta es la forma más clásica, representando aproximadamente el 70 % de los casos. En un estudio realizado en Costa Rica, en 1992, se encontró que representaba en el 48 % de los casos documentados. La localización más frecuente de esta forma clínica se presenta en brazos, cara y piernas (figura 11). Los primeros síntomas aparecen luego de tres semanas luego de la primoinfección, pero pueden presentarse hasta seis meses después. Se caracteriza inicialmente por la presencia de un nódulo o pápula eritematosa en el sitio de inoculación del hongo, que luego se ulcera, recibiendo el nombre de chancro de inoculación esporotricósico, seguido en dos semanas por cadenas de gomas eritematovioláceas, no dolorosas que siguen los vasos linfáticos regionales (Rodríguez, 1992; Escafii *et al*; 2010; Saúl y Bonifaz, 2011; Arenas, 2014).



Figura 11: Presentación clínica de la esporotricosis linfocutánea (Fotografía Dra. Lilliana Sandoval, Micóloga Médica, Hospital México, Costa Rica)

Las localizaciones más frecuentes son: 53 % en miembros superiores, 18 % en miembros inferiores y 21% en cara, en niños es frecuente en esta última zona (esporotricosis linfágica facial infantil) (Arenas, 2019).

Los chancros esporotricosicos múltiples pueden confluir constituyendo la forma micetomatoide, frecuente en pies, conocida como esporotricosis variedad micetomatoide (Arenas, 2019).

Aproximadamente dos semanas después comienzan a aparecer lesiones gomosas lineales escalonadas, que siguen el trayecto de los vasos linfáticos próximos a la lesión, lo que corresponde a un hallazgo conocido como linfangitis nodular. Las gomas pueden ulcerar o confluir en grandes placas de aspecto verrugoso (esporotricosis variedad verrucosa) con costras y halo eritematoso violáceo, algunas cicatrizan originando fibrosis intensa, lo que puede provocar elefantiasis por linfostasis. (Rodríguez, 1992; Escafii *et al*; 2010; Saúl y Bonifaz, 2011; Arenas, 2014 y Arenas, 2019).

En las formas verrucosas y en casos muy crónicos puede desarrollarse carcinoma espinocelular, como una complicación secundaria (Arenas, 2014).

En la historia natural de este cuadro clínico, se ha observado que esta puede resolver sola (esporotricosis *recurrens cicatrisans*), persistir por años o ser foco infeccioso para una forma diseminada (Saúl y Bonifaz, 2011; Arenas, 2014 y Arenas, 2019).

7.2 Esporotricosis Cutánea Fija

La esporotricosis cutánea fija representa el 25 % de los casos a nivel mundial, sin embargo, en Costa Rica y Japón, puede representar entre el 48 % al 60 % (Rodríguez, 1992 y Saúl y Bonifaz; 2011).

Se caracteriza por lesiones localizadas en la piel (miembros superiores, inferiores y cara) sin afección linfática. Éstas son pleomórficas y se presentan como una lesión nodular escamosa, acneiforme, verrucosa o ulcerativa, con bordes bien definidos y levantados, con un halo eritematovioláceo (“ajamonado”) alrededor (figura 12), cubierta de escamas y costras melicéricas, por lo general asintomático. Y aunque son más raras las formas de dobles o las múltiples inoculaciones, también, pueden presentarse en algunas ocasiones. Algunos autores consideran que la esporotricosis cutánea fija, puede tratarse de una reinfección en un paciente previamente sensibilizado por *Sporothrix* spp. (Padilla y Saucedo, 2001; Escafii *et al*; 2010 y Saúl y Bonifaz, 2011).

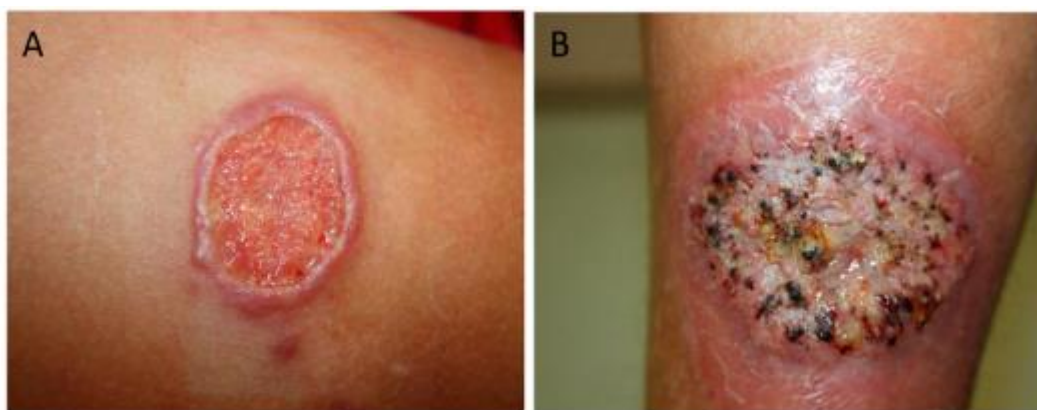


Figura 12: Presentación clínica de la esporotricosis cutánea (Conceição y Nazaré, 2018).

La esporotricosis cutánea superficial (dermoepidérmica o escrofulosa) es una variante de la forma cutánea fija. Presenta placas eritematosa-escamosas, violáceas y pruriginosas, con lesiones satélites de crecimiento periférico gradual y sin afectación linfática, especialmente en cara, en individuos anérgicos o hipoérgicos (figura 13) (Saúl y Bonifaz, 2011; Arenas, 2014; Falabella, Chaparro y Barona, 2017 y Arenas, 2019).



Figura 13: Presentación clínica de la esporotricosis cutánea superficial (Saúl y Bonifaz, 2011).

7.3 Esporotricosis Cutánea Diseminada (forma hematógica)

Esta forma está asociada a inmunosupresión y es poco frecuente (1-2 %). Las lesiones son nódulos, gomas, úlceras y placas verrucosas, que se diseminan en piel y mucosas (boca, faringe, glánde), se considera que puede deberse a múltiples inoculaciones o a autoinoculación. Puede o no acompañarse con síntomas sistémicos y se puede complicar evolucionando a formas extracutáneas, especialmente, a sistema nervioso y osteoarticular principalmente codos y rodillas (figura 14). Ocasionalmente, puede llegar a conjuntiva causando blefarokonjuntivitis (Vilela, Souza, Fernández y Mendoza, 2007; Rodríguez, Magaña, Juárez y Arenas, 2008; Saúl y Bonifaz, 2011 y Carrada, T. 2012b).).

Esta variedad no tiene curación y frecuentemente lleva a la muerte (Bonifaz, 2015).



Figura 14: Forma clínica de la esporotricosis cutánea diseminada (Saúl y Bonifaz, 2011).

7.4 Esporotricosis Sistémica

Es una infección oportunista grave, se manifiesta con pérdida de peso, afectación del estado general, fiebre, lesiones cutáneas diseminadas por gomas que pueden o no ulcerar, placas verrucosas, o escamocostrosas y fungemia. Este cuadro puede llegar a ser mortal (Arenas, 2019).

Se presenta en pacientes inmunocomprometidos, en especial por mieloma múltiple, sarcoidosis, HIV-SIDA, pacientes con tratamientos con corticosteroides, diabetes mellitus y alcoholismo (Arenas, 2014). En cuanto a los exámenes de laboratorio, puede haber un aumento de la velocidad de eritrosedimentación, así como aumento del ácido úrico y la fosfatasa alcalina (Arenas, 2019).

7.5 Esporotricosis Osteoarticular

De las presentaciones extracutáneas el 80 % son osteoarticulares. Es la artropatía micótica de mayor importancia. Suele ser de difícil diagnóstico ya que se expresa como una sinovitis monoarticular inespecífica, con dolor local, inflamación y limitación del movimiento articular, con poca o ninguna sintomatología sistémica. Puede estar presente el antecedente traumático de inoculación, o factores asociados como el alcoholismo (Villamarin *et al*; 2000 y Arenas, 2019).

Si ocurre artritis bilateral esporotricósica, esta presentación puede deberse a la autoinoculación, inoculaciones múltiples o reinfección (Xavier *et al*; 2013).

La articulación más afectada suele ser la rodilla, frecuentemente asociada a lesión linfocutánea, también pueden afectarse los huesos metatarsianos, metacarpianos, interfalángicos, codos y además hay tropismo por tibia. Las presentaciones clínicas de la esporotricosis articular pueden ser: unifocales cuando comprometen una articulación, o multifocales con compromiso articular múltiple que suele verse en inmunodeprimidos (Villamarin *et al*; 2000; Arenas, 2014 y Arenas, 2019).

La lesión osteoarticular se diagnostica solo cuando el clínico está alerta y es meticuloso en el estudio del caso. En una revisión de 30 casos extracutáneos, 80 % tuvieron lesiones óseas, con artritis destructiva y osteolítica sinovitis o periostitis, principalmente en los huesos del carpo, metacarpo y tibia, radiocúbito, fémur y costillas. Los enfermos se

quejaban por dolor, hinchazón articular y limitación progresiva de la movilidad articular. Aunque la vía de entrada es generalmente por trauma, la infección ósea puede darse mediante diseminación hemática, sobre todo en zonas endémicas (Hernández, Cortés, y Rodríguez, 2015).

7.6 Esporotricosis Pulmonar

En la esporotricosis pulmonar primaria el hongo ingresa por vía respiratoria por la inhalación de conidias de *Sporothrix* spp. y causa una neumopatía primaria, autolimitada y asintomática, que puede originar una hipersensibilidad o una neumopatía que resuelve por sí misma o que puede volverse progresiva. Sin embargo, también puede darse el caso de una esporotricosis pulmonar secundaria a partir de foco primario cutáneo en pacientes inmunocomprometidos (Arenas, 2019)

La esporotricosis pulmonar es una forma clínica muy rara, con poco más de 100 casos reportados en la literatura mundial y es típica de varones entre 30-60 años. Aproximadamente un tercio de los pacientes son alcohólicos y un tercio presentan enfermedad de base como tuberculosis, diabetes, sarcoidosis o tratamiento con corticoides. (Ortiz, 2006 y Bonifaz, 2015).

Clínicamente se divide en (Saúl y Bonifaz, 2011):

- Crónicas asintomáticas: El 98 % de los casos, la mayoría resuelven solos.
- Crónicos sintomáticos: Presentan neumonía con tos leve y expectoración, los rayos X muestran áreas de condensación o infiltrado milar en parénquima pulmonar.
- Aguda progresiva: Presenta gran expectoración, afecta ganglios linfáticos hiliares y en especial los traqueo-bronquiales, aparecen adenopatías masivas, que llegan a obstruir los bronquios, se acompaña de gran cantidad de expectoración, con o sin hemoptisis, fiebre, pérdida de peso, disnea y fatiga. Con rayos X se observan las adenopatías hiliares y a veces ensanchamiento del mediastino. Se disemina a otros órganos con frecuencia.

7.7 Esporotricosis Meníngea

Los casos de meningitis por esporotricosis, son entidades clínicas bastante raras. Se puede presentar como meningitis crónica aislada (asociada a paciente inmunocompetentes o con leve inmunosupresión) o como parte de una enfermedad sistémica diseminada (relacionada con pacientes inmunosupresos). Los primeros informes de mediados del siglo XX se centraron en la meningitis crónica aislada y enfatizó la extrema cronicidad de la infección, la similitud con la meningitis tuberculosa, la dificultad para establecer un diagnóstico. La meningitis crónica generalmente se presenta con semanas o meses de dolores de cabeza que aumentan gradualmente, ataxia y confusión. La fiebre puede estar presente o no. Con el tiempo, los signos de aumento intracraneal pueden producir presión. Casi siempre, el diagnóstico no se establece durante meses (Hessler, Kauffman, Chow, 2017 y Kauffman, 2019).

Muchos de estos pacientes con meningitis esporotricótica crónica, además de no poseer inmunosupresión severa, tampoco se les identifica un foco infeccioso primario. Una hipótesis basada en el reciente descubrimiento de que el sistema nervioso central (SNC) tiene un sistema linfático funcional conectado al sistema linfático del cuerpo; propone que este microorganismo puede llegar al SNC a través de los ganglios linfáticos cervicales profundos. Por tanto, es posible que los pacientes adquieran la infección a través de las vías respiratorias o por medio de una inoculación cutánea traumática inadvertida, y células de la respuesta inflamatoria local fagocitaran la levadura y posteriormente hayan migrado a la circulación del sistema linfático hasta alcanzar al SNC (Mialski *et al*; 2018).

En el grupo de los inmunosupresos, la meningitis por *Sporothrix* spp. es más aguda y se asocia frecuentemente con infección diseminada a partir de múltiples focos primarios cutáneos. Se manifiesta por un inicio súbito con fuertes dolores de cabeza, confusión y ocasionalmente convulsiones o hallazgos focales. Particularmente, los pacientes con SIDA van a tener predisposición a esta complicación, y se reportan casos asociados al síndrome inflamatorio de reconstitución inmune (IRIS) que será explicado más adelante (Penn, Goldstein y Bartholomew, 1992; Galhardo *et al*; 2010; Freitas *et al*; 2015 y Kauffman, 2019).

7.7 Manifestaciones de hipersensibilidad y Síndrome inflamatorio de Reconstitución Inmune

Existen reportes de reacciones de hipersensibilidad a la infección por *Sporothrix* spp. presentados como:

- Eritema nodoso: es la variedad clínico-patológica más frecuente de paniculitis aguda. Es una reacción de hipersensibilidad celular retardada, desencadenada por estímulos antigénicos muy diversos (Pacheco, dos Santos y do Valle, 2002; Ríos, Sendagorta y Gonzalez, 2009; Xavier *et al*; 2013; Papaiordanou, da Silveira, y Abulafia, 2015).
- Eritema múltiple: es una enfermedad mucocutáneo aguda recurrente con amplio espectro clínico, desde formas leves y autolimitadas hasta evolución a formas graves como el síndrome de Stevens-Johnson y la necrólisis epidérmica tóxica

Se presenta como lesiones cutáneas acrales, centrípetas, simétricas y polimorfas, constituidas por eritema, pápulas, vesículas, ampollas, placas urticarianas y lesiones en blanco de tiro o en “diana” (Galhardo *et al*; 2005 y Asz *et al*. 2006).

Para ejemplificar un caso de eritema nodoso, se presenta el caso reportado por Pacheco, dos Santos y do Valle en el año 2002. Se informó que una paciente recibió un arañazo en la esquina interna de su ojo derecho por parte su gato. El rasguño evolucionó a edema local y eritema y, una semana después, a ulceración con bordes infiltrados y un exudado purulento (figura 15, A). También informó, simultáneamente con la aparición de ulceración, la aparición de edema de miembros inferiores asociado con nódulos dolorosos y eritematosos, no ulcerativos, ni purulentos, que eran más palpables que visibles, hasta la región inguinal (Figura 15, B). El paciente no informó otros síntomas. El gato tenía ulceración en la esquina interna del ojo izquierdo y una úlcera submandibular (Figura 15, C). Se alcanzó un diagnóstico de esporotricosis asociada con eritema nodoso (Papaiordanou, da Silveira, y Abulafia, 2015).



Figura 15: Presentación de caso clínico de eritema nodoso relacionado con *Sporothrix* spp. (Papaiordanou, da Silveira, y Abulafia, 2015).

Una hipótesis que podría explicar este tipo de asociación es la estimulación constante e intensa del sistema inmune de los pacientes cuando están en contacto con gatos con esporotricosis. Esto podría ocurrir debido al hecho de que esta especie tiende a tener una gran cantidad de blastosporas en sus lesiones, lo que desencadena una exposición intensa de los humanos a antígenos de hongos e incluso culmina con infección subclínica y reinfección, causando hipersensibilidad (Xavier *et al*; 2013)

En pacientes con SIDA también pueden presentarse manifestaciones atípicas entre las que se menciona el síndrome inflamatorio de reconstitución inmune (IRIS). Este se da en pacientes con SIDA que presentaron una esporotricosis sistémica, los cuales pueden desarrollar lesiones, incluso en sistema nervioso central, cuando toman la terapia antiretroviral muy activa (HAART, del inglés, highly active antiretroviral treatment) y mejoramiento del recuento de los linfocitos CD4+ (Lyra *et al*; 2014 y Arenas, 2014). En pacientes con SIDA, se mencionan en la literatura consultada algunos casos raros y anecdóticos de endoftalmitis (Silva *et al*; 2012 y Ramírez, 2018), endocarditis (Silva *et al*; 2012) y enfermedad sinusal primaria (Ver figura 16) (Mitra *et al*; 2016).

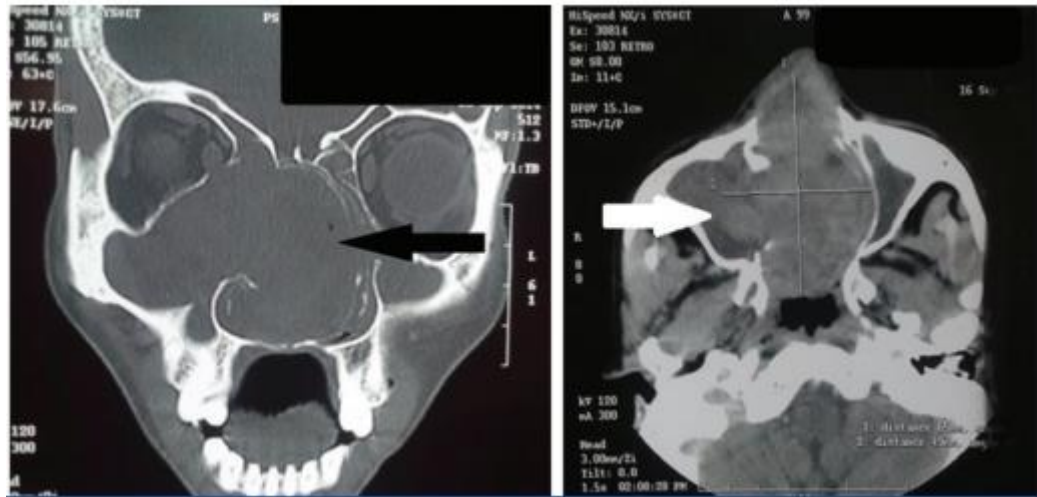


Figura 16: Tomografía de senos paranasales, presentación clínica Enfermedad sinusal primaria por esporotricosis (Mitra *et al*; 2016)

8. ASPECTOS VETERINARIOS

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 (Martínez, 2016).

El hongo se ha aislado de madrigueras de armadillos, gatos, perros, roedores, pollos, camellos, zorros, asnos, mulas, ratas, delfines, chimpancés, jabalíes, entre otros. En caballos, son frecuentes las modalidades fija y linfocutánea (Arenas, 2014).

S. brasiliensis es considerado como una zoonosis verdadera, con transmisión zoonótica (gato a humano) y enzoonótica (gato a gato y gato a perro) con alto potencial epidémico y epizoonótico. Generalmente los perros y los gatos son infectados por blastosporas que ingresan a través de lesiones en la piel a causa de traumas por mordeduras y arañazos con un gato enfermo. A partir de la lesión cutánea, la diseminación linfática es común en gatos y menos común en perros, y en el caso de estos últimos las lesiones poseen pocas blastosporas (ver figura 17) (Etchepozas *et al.* 2021).



Figura 17: Lesiones de esporotricosis cutánea en gatos Gato doméstico con lesiones cutáneas en cabeza y las patas delanteras (Carrada, 2012a).

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 (Martínez, 2016).

Las lesiones cutáneas en estos felinos contienen una gran cantidad de blastosporas, y debido a esto son considerados la principal fuente de transmisión (zoonótica y enzoonótica) (Martínez, 2016).

Las garras de los gatos son el primer sitio de contacto con el hongo, las cuales se contaminan luego de ponerse en contacto con la tierra o al afilárselas en la vegetación, luego los propágulos ingresan en su hocico y nariz, luego de lamerse sus patas, pero también se ha reportado casos de inoculación traumática con material contaminado, similar como lo que ocurre con otras especies de *Sporothrix* sp. diferentes a *S. brasiliensis* (Etchepozas *et al.* 2021).

A diferencia del ser humano, en los gatos, el virus de la inmunodeficiencia felina (FIV) y el virus de la leucemia felina (FeLV) no son determinantes para que evolucione una esporotricosis diseminada. Sin embargo, se ha demostrado en ratas que la coinfección de *Sporothrix* spp. con *Taenia taeniaformis*, produce un conflicto entre las vías inmunológicas TH1 y TH2, propiciando un perfil de citoquinas que favorece a *Sporothrix* spp., lo que podría ocurrir también en gatos infectados por el hongo y este cestodo (Etchepozas *et al.* 2021).

9. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Las características de los cuadros clínicos de la esporotricosis se asemejan a otros cuadros infecciosos y no infecciosos, en el cuadro 8 se resumen dichas patologías:

Cuadro 8: Diagnósticos diferenciales de los cuadros clínicos de esporotricosis

Cuadro clínico	Diagnósticos diferenciales
Esporotricosis Linfocutánea	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , micobacterias atípicas, nocardiasis, leishmaniasis, tularemia y lepra tuberculoide. Otras infecciones micóticas, virales y bacterianas pueden producir un cuadro similar a una linfangitis nodular
Esporotricosis Cutánea Fija	Piodermitis bacteriana, tuberculosis verrucosa, acné, lepra tuberculoide, dermatofitosis, leishmaniasis, coccidioidomicosis, cromoblastomicosis, cicatrices queloides, sífilis, micetoma y sarcoidosis, ectima estafilocócico crónico, la enfermedad por arañazo de gato y un granuloma de reacción a cuerpo extraño
Cutánea Superficial (dermoepidérmica o escrofulosa)	Leishmaniasis, lepra tuberculoide, tuberculosis cutánea y micobacterias atípicas.
Cutánea Disemina (Hematógena)	Tuberculosis, micobacteriosis atípicas, lepra, leishmaniasis, coccidioidomicosis, blastomicosis, nocardiosis y sífilis
Esporotricosis Pulmonar	Tuberculosis, criptococosis, coccidioidomicosis, paracoccidioidomicosis, neumonías viales, bacterianas, neumonía por <i>Pneumocystis jirovecii</i> , fibrosis pulmonar difusa
Esporotricosis osteoarticular	Si se presenta monoartritis crónica: tuberculosis articular, u otras infecciones crónicas como sífilis terciaria, brucelosis, histoplasmosis, paracoccidioidomicosis, sarcoidosis, metástasis, y gota. Si se presenta con lesiones erosivas e hipertrofia sinovial: poliartritis reumatoidea y sinovitis villonodular

Tomado y modificado de: (Almada, Correa, Rivelli, Aparicio y Mendoza, 2000; Villamarin *et al*; 2000; Carrada, 2005; Chávez *et al*; 2007; Escaffi *et al*; 2010 y Kasper, *et al*; 2016).

10 DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

10.1 Diagnóstico micológico

Para el diagnóstico de las formas cutáneas, el material acuoso proveniente de la úlcera es el recomendado y en el caso que se presenten escaras secas estas se deben desprender con un bisturí sin filo (Gross y Salas, 2015).

Antes de tomar la muestra, debe hacerse la limpieza de la piel con una torunda impregnada con alcohol al 70 %, para quitar las bacterias contaminantes superficiales. Entre una y otra toma cabe, también, limpiar el instrumento con gasa mojada con alcohol (Carrada, 2012b y Borelli, 1964).

Cuando no existen abscesos de ningún tamaño, se raspa la superficie de la lesión verrugóide y se utiliza todo el material que se puede recoger: material córneo, pus y fragmentos de tejido para los cultivos (Borelli, 1964 y Carrada, 2012b).

En el caso de colecciones cerradas: abscesos o pústulas, la mejor muestra será el material sanginopurulento, la forma ideal de extraerlo es mediante una jeringa con aguja calibre 25G. Otra opción, es abrir la lesión con lanceta o bisturí puntiagudo y se exprimen para sacar el contenido. Con el mismo instrumento se recogen gotas del material y se siembran placas de cultivo como agar Sabouraud glucosado y agar Mycosel® (es resistente a la cicloheximida), esto debido a que el cultivo sigue siendo el estándar de oro en la identificación de este microorganismo y el examen directo con KOH al 10 % no es de mucha utilidad, sin embargo, se puede utilizar tinción de Giemsa para observar las levaduras gemantes fagocitadas por los macrófagos, pero no se realiza de rutina (Borelli, 1964 y Gross y Salas, 2015).

El profesor Elbio Gezuele del Instituto de Higiene en Uruguay, demostró la importancia de desechar el pus que surgía a la digitopresión primaria mediante la limpieza con grasa estéril y lavado suave con suero fisiológico, comprimiendo nuevamente hasta obtener pus y exudado serosanguinolento mezclados, procedentes de los granulomas más profundos (Carrada, 2012b). Además, de no inocular las muestras “al pie del paciente” en los medios de cultivo correspondientes, las muestras deben ser transportadas y procesadas rápidamente en el laboratorio (Carrada, 2012b).

En el caso de otras formas clínicas de la micosis, es el médico tratante quien envía al laboratorio otros tipos de muestras (biopsias, esputo, aspirados, líquido sinovial, líquido cefalorraquídeo, entre otros) los cuales deben ser cultivados de la misma forma descrita.

Las placas se incuban por tres a cinco días a temperatura ambiente, para observar su forma micelial. Las colonias jóvenes presentarán color blanco-crema de aspecto húmedo y pequeñas, posteriormente, cuando la colonia envejece se tornará de color café claro o negro con apariencia ligeramente vellosa. Al microscopio, se debe verificar la presencia de esporulación tipo simple simpodial, a veces acompañada de esporulación tipo radulosporas. Ver figuras 18 y 19 (Gross y Salas, 2015).

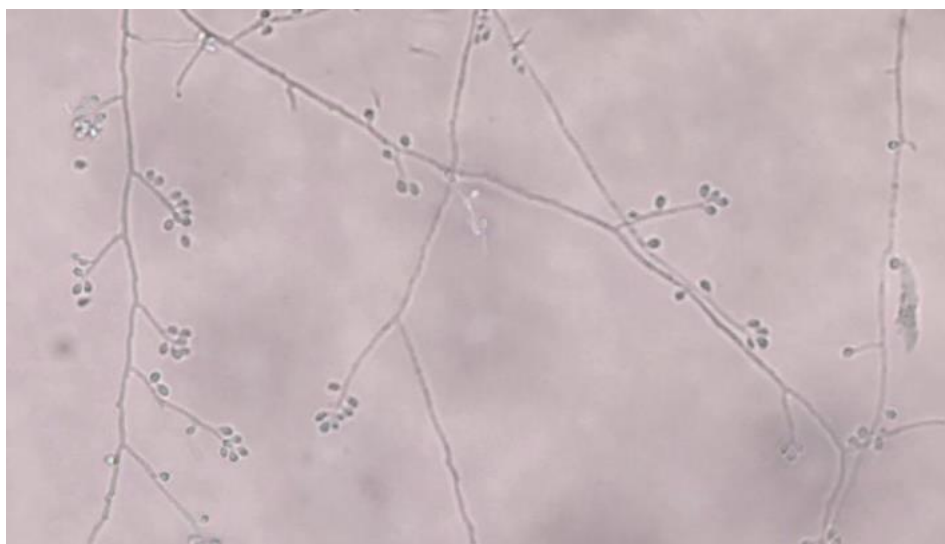


Figura 18: Características microscópicas de la forma micelial de *Sporothrix* spp. Conidioforo simple simpodial, azul lactofenol, aumento 40X. Colección de láminas micológicas, Sección de Micología Médica, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica (Fotografía tomada por Angelo Rivera Barquero).

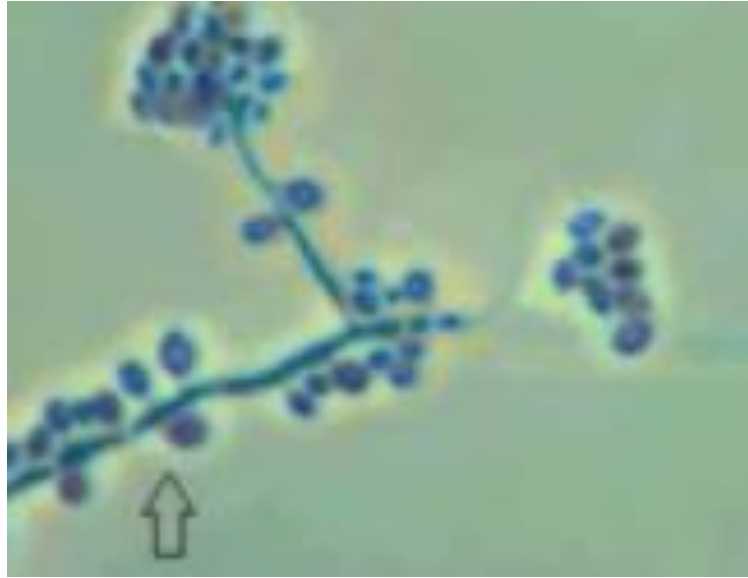


Figura 19: Radulosporas de Conidióforo simple simpodial con radulosporas, azul lactofenol, aumento 40X. (Carrada, 2012a).

Sin embargo, cabe aclarar que las características anteriormente mencionadas, pueden variar en algunos aislamientos. Se han observado cepas que son pigmentadas desde el inicio y otras que se mantienen siempre amelánicas (figura 20) (Larone, 1995).



Figura 20: Variedad morfológica de las colonias del complejo *Sporothrix* spp. Medio agar papa dextrosa con 21 días de incubación (Rojas *et al*; 2018).

Se puede realizar la inducción del dimorfismo, pero no se hace de rutina, incubando las colonias en agar infusión cerebro corazón, suplementado con 5-10 % de sangre ovina o humana incubado a 35°C; observándose las colonias levaduriformes y sus respectivas levaduras en entre 3 a 30 días según la cepa aislada (Gross y Salas, 2015).

En Costa Rica, la Dra. Lozada, en sus investigaciones, describe la diferenciación de especies del complejo *S. schenckii*, que se puede realizar por medio de las características fenotípicas, termotolerancia y asimilación de azúcares (ver cuadro 9)

Cuadro 9: Caracterización diferencial de algunas especies del complejo *S. schenckii*

Especie	<i>S. brasiliensis</i>	<i>S. globosa</i>	<i>S. mexicana</i>	<i>S. schenckii</i>
Radulosporas pigmentadas	Si	Si	Si	Si
Colonias exceden 50 mm (21 días de crecimiento)	No	No	Si	No
Crecimiento a 37°C	Si	No	Si	Si
Asimilación sacarosa	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Asimilación rafinosa	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
Morfología microscópica (fase micelial)	Células conidiogénicas terminales en conidióforos ligeramente hinchados Radulosporas globosas o sub globosas	Hifas hialinas delgadas ramificadas. Conidióforo simpodial con conidias ovoides Radulosporas de pared gruesa pigmentadas globosas	Célula conidiogénica terminal en conidióforos poco diferenciados, a menudo hinchados, gran cantidad de proyecciones en las que se producen las conidias Radulosporas sub globosas, elipsoidales u ovoides.	Hifas hialinas delgadas ramificadas. Conidióforo simpodial con conidias en forma de lágrima Radulosporas de pared gruesa pigmentadas triangular, oval o redonda.

(Tomado y modificado de Lozada, 2018 y Lozada *et al.*, 2020)

10.2 Histopatológico

La observación de la morfología del hongo, en estudios histopatológicos, es patognomónica. Se pueden observar blastosporas alargadas en forma de “cigarro o puro” de 2 µm de grosor y 6 µm de longitud, que alternan con otras de forma oval o redondeada algo mayores. Si se realiza tinción de PAS, esta es muy específica y se observan las esporas de color magenta intenso que destacan sobre el fondo. Esta tinción se puede realizar tanto en las secciones histológicas como en los extendidos citológicos. La tinción de Grocott (figura 21), confirma la presencia y morfología del hongo. Otras tinciones utilizadas son Gram y Hematoxilina-Eosina, además de la inmunohistoquímica, para la que se debe disponer de los anticuerpos específicos (Mayayo, Capilla y Arrillaga, 2009).

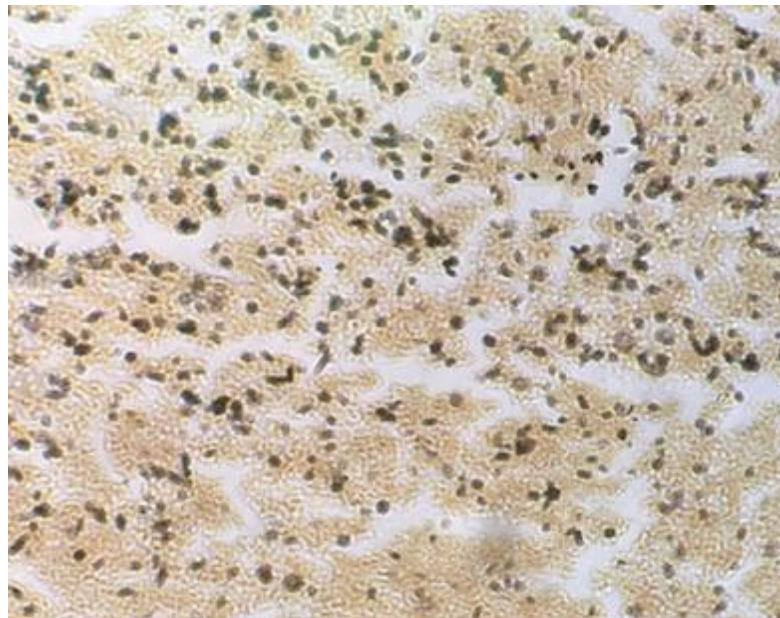


Figura 21: Esporotricosis en tejido, tinción de Grocott. Blastosporas en forma de cigarro, tinción de Grocott, aumento 100 X. Colección de láminas micológicas, Sección de Micología Médica, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. (Fotografía tomada por Angelo Rivera Barquero)

El examen al fresco, no es útil y no se utiliza de rutina, sin embargo, algunos autores refieren que se pueden identificar, en muestras al fresco, las formas estrelladas de *S. schenckii*

(cuerpos asteroides), cuyo diámetro es igual al de los macrófagos. Para esto, se utiliza solución salina con una gota de formol al 10 % (Borelli, 1964 y Arenas, 2014).

Los exámenes histopatológicos, los cuales no siempre ofrecen la posibilidad de visualizar el microorganismo en los tejidos; no obstante, y de acuerdo con el tipo de respuesta inflamatoria presente, en muchos casos el cuadro inflamatorio es compatible con una infección micótica (Borelli, 1964 y Arenas, 2014).

Para el estudio histopatológico, el médico puede obtener el material más profundo del proceso granulomatoso crónico. Se debe realizar una búsqueda exhaustiva en al menos 5 láminas por paciente, lo que parece ser la clave para mejorar los resultados (hasta un 93.75% de probabilidad de hallazgo de cuerpos asteroides) (Gezuele. y Da Rosa, 2005).

El estudio histopatológico adquiere fundamental importancia diagnóstica cuando permite el hallazgo de cuerpos asteroides resultantes del fenómeno de Splendore-Hoepli que, aunque no son patognomónicos de infección por *S. schenckii*, sí son característicos de esta micosis. Estos deben diferenciarse de otro tipo de cuerpo asteroide que no está relacionados con el fenómeno de Splendore-Hoepli, a fin de evitar reportar falsos positivos (Uribe, Zuluaga, León y Restrepo, 1985 y Hernández, Cortés, y Rodríguez, 2015).

Los dos tipos de cuerpos asterioides a diferenciar son:

1. Cuerpos asteroides resultantes del fenómeno de Splendore-Hoepli, que es una reacción antígeno-anticuerpo. El cuerpo asteroide esporotricósico extracelular (CAE) está situado en el centro del granuloma supurado y consiste en una levadura central rodeada de espículas intensamente eosinófilas. Es específico, morfológicamente característico y permite el diagnóstico de la enfermedad (figura 22). En algunas micosis como aspergilosis, candidiasis sistémica, paracoccidioidomicosis, lobomicosis y granuloma tricofítico se pueden observar imágenes similares alrededor de una levadura, pero la morfología general del cuadro histológico no guarda parecido alguno con la esporotricosis. Por lo que hay que correlacionar las observaciones microscópicas con la clínica del paciente (Rodríguez, 1985 y Gezuele y Da Rosa, 2005).

2. Intracitoplasmáticos, situados dentro de una vacuola, en células gigantes multinucleadas de diversas enfermedades granulomatosas. Son eosinófilos y constan de radiaciones aciculares, estelares, que parten de un centro amorfo. Por ejemplo, en casos de lepra lepromatosa, sarcoidosis, paracoccidioidomicosis, lacaziosis y granulomas a cuerpos extraños. Son morfológicamente idénticos entre todas las patologías mencionadas, son inespecíficos y no ayudan a ningún diagnóstico en particular. Estos se originan por fagocitosis de colágeno o por modificaciones del citocentro (Rodríguez, 1985).

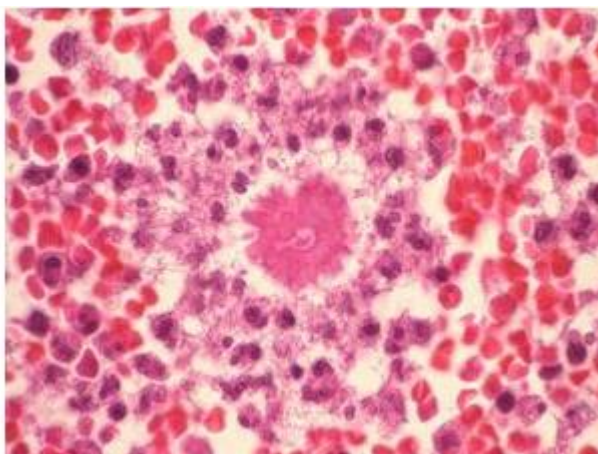


Figura 22: Cuerpo asteroide esporotricósico. Tinción de Hematoxilina-Eosina, aumento 100 x (Orellana *et al*; 2009).

Desde el punto de vista anatomopatológico las micosis pueden clasificarse en dos grupos a saber:

- a) micosis con reacción granulomatosa únicamente, como la histoplasmosis y la enfermedad de Lobo
- b) micosis con reacción granulomatosa y supurativa, a las cuales pertenece la esporotricosis. Estas son las micosis con granuloma mixto, según el concepto de Pinkus, que ya comienza a tenerse en cuenta en estudios recientes sobre la inflamación granulomatosa. En estas micosis intervienen, como parte esencial de la lesión, los polimorfonucleares neutrófilos que representan la parte supurativa, al lado de los histiocitos

o sus derivados (células epitelioides y células gigantes de diferentes tipos) que constituyen la parte granulomatosa (Uribe, Zuluaga, León y Restrepo, 1985)

La epidermis muestra hiperqueratosis, a veces pseudoepiteliomatosa, acantosis con microabscesos intraepidérmicos, en dermis superficial y media se observa un proceso granulomatoso (granuloma esporotricósico) con infiltrado dispuesto en tres zonas características: una zona central o supurativa, zona media o tuberculoide con células gigantes tipo Langhans y periférica o sifiloide con células plasmáticas. En ocasiones se ha encontrado el cuerpo asteroide, el cual es una célula gemante en el centro con un halo de radiación de material eosinófilo (fenómeno de Splendore-Hoeppli). En ocasiones se han confundido con los cuerpos asteroides intracelulares en células gigantes de algunas enfermedades granulomatosas como la sarcoidosis, granuloma de Meischer, lepra lepromatosa, lobomycosis, esquistosomiasis, tuberculosis, reacciones a cuerpo extraño y granulomas tricofíticos (Padilla, Novales, Zuloeta y Collado, 2012).

En la histopatología de las lesiones osteoarticulares, se caracteriza por presentar una sinovitis crónica granulomatosa que puede simular una tuberculosis con células gigantes, la presencia de cuerpos asteroides o blastosporas en forma de cigarro es sugestivo de esporotricosis (Villamarin *et al*; 2000).

Por otro lado, hay estudios experimentales, en los que se observan que reacciones granulomatosas producidas por la especie *S. schenckii* se ven combinadas con reacción piógena; sin embargo *S. brasiliensis* no produce dicha reacción, especialmente en hígado de ratones infectados experimentalmente, sino más bien se observan estructuras fúngicas fagocitadas. Esto quiere decir que las diferentes especies de *Sporothrix* spp. estimulan una respuesta diferente. Aunque todavía se estudian los mecanismos que tiene el hongo para realizar dicha inmunomodulación (Arillaga, *et. al*; 2010)

10.3 Otros métodos diagnósticos

10.3.1 Pruebas serológicas

La serología con sus técnicas de aglutinación de látex (sensibilidad y especificidad muy variable), inmunodifusión (positiva en el 80%), fijación del complemento (positiva en 40 %), no son de uso rutinario en los laboratorios clínicos y no han podido sustituir al cultivo (González y Soto, 1947; Borelli, 1964 y Arenas, 2019).

Existe en el mercado una técnica que se denomina LA-*SPOROTHRIX* ANTIBODY SYSTEM® de IMMY, la cual es una prueba cualitativa de aglutinación de partículas de látex, útil para determinar la presencia de anticuerpos de tipo IgM a partir del suero en pacientes con esporotricosis. Por lo tanto, es útil en el diagnóstico temprano de la infección. La prueba detecta anticuerpos aglutinantes, que son lo suficientemente grandes para unirse a las partículas de látex cubiertas de antígenos de esporotricosis. Esta prueba es de rápida ejecución, disminuye el tiempo de diagnóstico o cuando se presenta una forma diseminada de la enfermedad. La sensibilidad de esta prueba varía dependiendo de la forma clínica: 56 % para la forma cutánea, 73 % esporotricosis pulmonar, 86 % esporotricosis osteoarticular y 100 % esporotricosis diseminada. Esta prueba posee una especificidad del 54 % (por lo que no es muy efectivo para confirmación de casos). Sin embargo, presenta la desventaja de ser costosa, lo que la hace inapropiada para laboratorios de recursos limitados (Roberts y Larsh, 1971 y Reyes *et al*; 2003).

Pocos laboratorios acostumbran titular los sueros de los enfermos con formas cutáneas diseminadas, lesiones osteoarticulares, enfermedad pulmonar o meningitis (líquido cefalorraquídeo), utilizando la prueba de aglutinación con partículas de látex sensibilizado. Generalmente se obtienen títulos en los rangos de 1:4 a 1:512, considerándose positivos aquéllos de 1:4 o más como evidencia presuntiva de la esporotricosis, aunque se han descrito reacciones inespecíficas en el rango bajo 1:4 a 1:8; pero en la esporotricosis pulmonar, los títulos crecientes o un título alto y sostenido son valiosos para afianzar la sospecha del clínico (Orofino *et al*; 2010).

10.3.2 Pruebas moleculares

Los análisis clínicos con técnicas moleculares no son rutinarios para diagnósticas esta micosis a partir de muestras clínicas. Se han reportado estudios para la estandarización de la prueba PCR anidada para la detección de *S. schenckii* a partir de muestras de pacientes, sin embargo, los mismos estudios afirman que las técnicas de cultivo clásico, son superiores en sus resultados (Mendoza *et al*; 2012).

Quizás, una de las más grandes ventajas de las pruebas moleculares es que permiten realizar estudios epidemiológicos muy detallados sobre esta micosis. Los métodos de tipificación de ADN han demostrado ser útiles en elucidar la probable fuente de brotes de esporotricosis y también proporciona información para investigar las sutiles diferencias entre los aislamientos clínicos. También, es una herramienta que podría resolver casos epidemiológicos difíciles, separando especies, así como haciendo diferenciación de cepas ambientales (Carrada, 2012a).

Se ha estudiado varios métodos moleculares para la identificación de las diferentes especies de *Sporothrix* spp. que han tenido buenos resultados, dirigidos a la detección de genes codificadores de proteínas calmodulina (CAL), tubulina (Bt2), quitina sintasa 1 (CHS1), el Imprimador T3B y el espaciador transcrito interno (ITS). La secuencia CAL se ha informado como el mejor marcador molecular para la identificación molecular de *Sporothrix* spp. (Cuadros 10 y 11) (García, Lozoya, González, y Martínez, 2018.).

Las cepas de *S. schenckii* se han clasificado en 32 tipos de ADN mitocondrial por análisis de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) y se agrupan en dos grandes clasificaciones: grupo A (cepas aisladas en Costa Rica, Sudamérica, Estados Unidos y México) y grupo B (cepas aisladas en Asia y Japón). Con este conocimiento se está desarrollando una técnica PCR para la identificación rápida en tejidos (Arenas, 2019).

Cuadro 10: Estudios moleculares para la identificación de *Sporothrix* spp.

Técnica	Gen	Resultado
PCR	<i>CHS1</i>	No distingue entre especies
PCR	18S ARNs	No distingue entre especies
Análisis de secuencias	ITS	Distingue entre especies

Análisis multilocus de secuencia	<i>CAL</i> , <i>Bt2</i> y <i>CHS</i>	Distingue entre especies
Secuenciación genética parcial	Calmodulina	Distingue entre especies
Análisis de huellas genéticas	Imprimador T3B	Distingue entre especies
RFLP	Calmodulina digerida con HhaI	No distingue entre <i>S. mexicana</i> y <i>S. pallida</i>
PCR	Intrones <i>CAL</i>	Distingue entre especies
Amplificación de PCR basada en replicación en círculo rodante	Calmodulina	Distingue entre especies

Modificado de: García, Lozoya, González, y Martínez, 2018.

Cuadro 11: Imprimadores más frecuentes utilizados para la identificación de *Sporothrix* spp.

Gen	Secuencia del imprimador (5'-3')	Especie identificada
ITS-1	TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG	No distingue entre especies
ITS-4	TCC GCT TAT TGA TAT GC	No distingue entre especies
Calmodulina	CCC CCG TTT GAC GCT TGG CCC GGA TAA CCG TGT GTC ATA AT	<i>S. brasiliensis</i>
	TTT CGA ATG CGT TCG GCT GG CTC CAG ATC ACC GTG TCA	<i>S. schenckii</i>
	CGC CTA GGC CAG ATC ACC ACT AAG CCA ATG TCT ACC CGT GCT	<i>S. globosa</i>
	TCT CTG CCG ACA ATT CTT TCT C GGA AAG CGG TGG CTA GAT GC	<i>S. mexicana</i>

	CGC TGC TTT CCG CCA TTT TCG C GCC ATT GTT GTC GCG GTC GAA G	<i>S. pallida</i>
Bt2a	GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC	Distingue entre especies en conjunto con otros genes
Bt2b	ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC	Distingue entre especies en conjunto con otros genes
CHS	TGGAAGAACCATCTGTGAGAGTTG	Distingue entre especies en conjunto con otros genes

(Tomado y modificado de Carbone y Kohn, 1999; Marimon *et al.* 2006; Zhang, Xiaoming, Xuelian y Jingrong, 2011; Rodrigues, de Hoog y de Camargo, 2015 y Nessler *et al.*, 2019).

Algunas de estas técnicas, sirven para hacer análisis de identificación de especie, en cambio otras son más útiles en los análisis epidemiológicos-moleculares. En la figura 23 (en idioma inglés) se muestran algunos de los usos para estos procedimientos de diferenciación entre especies del complejo *S. schenckii* utilizando enfoques clásicos y moleculares. Los métodos clásicos presentan una gran superposición fenotípica entre especies estrechamente relacionadas, como *S. brasiliensis*, *S. schenckii* y *S. globosa*, por lo que se desaconseja su uso como único método, si se requiere una identificación precisa (García, Lozoya, González, y Martínez, 2018).

Los métodos moleculares basados en la secuenciación de ADN seguidos de análisis filogenético permiten la identificación de todas las especies del complejo *S.schenckii* descritos hasta la fecha (García *et al*; 2018).

Métodos como la PCR especie-específica, PCR-RFLP y RCA son herramientas importantes para identificar especies de interés clínico. Para la detección directa e identificación simultánea de *Sporothrix* spp. a partir de muestras complejas se puede realizar con PCR especie-específica o RCA. La caracterización de *Sporothrix* spp. en estudios de epidemiología molecular requiere el desarrollo de nuevos marcadores para acceder a la diversidad genética, con el objetivo de responder preguntas relacionadas con estructura de la población, rutas de transmisión, variabilidad intra e interespecífica, modos de

recombinación y reproducción, especiación, entre muchas otras preguntas biológicas (Lopes *et al*; 2018a).

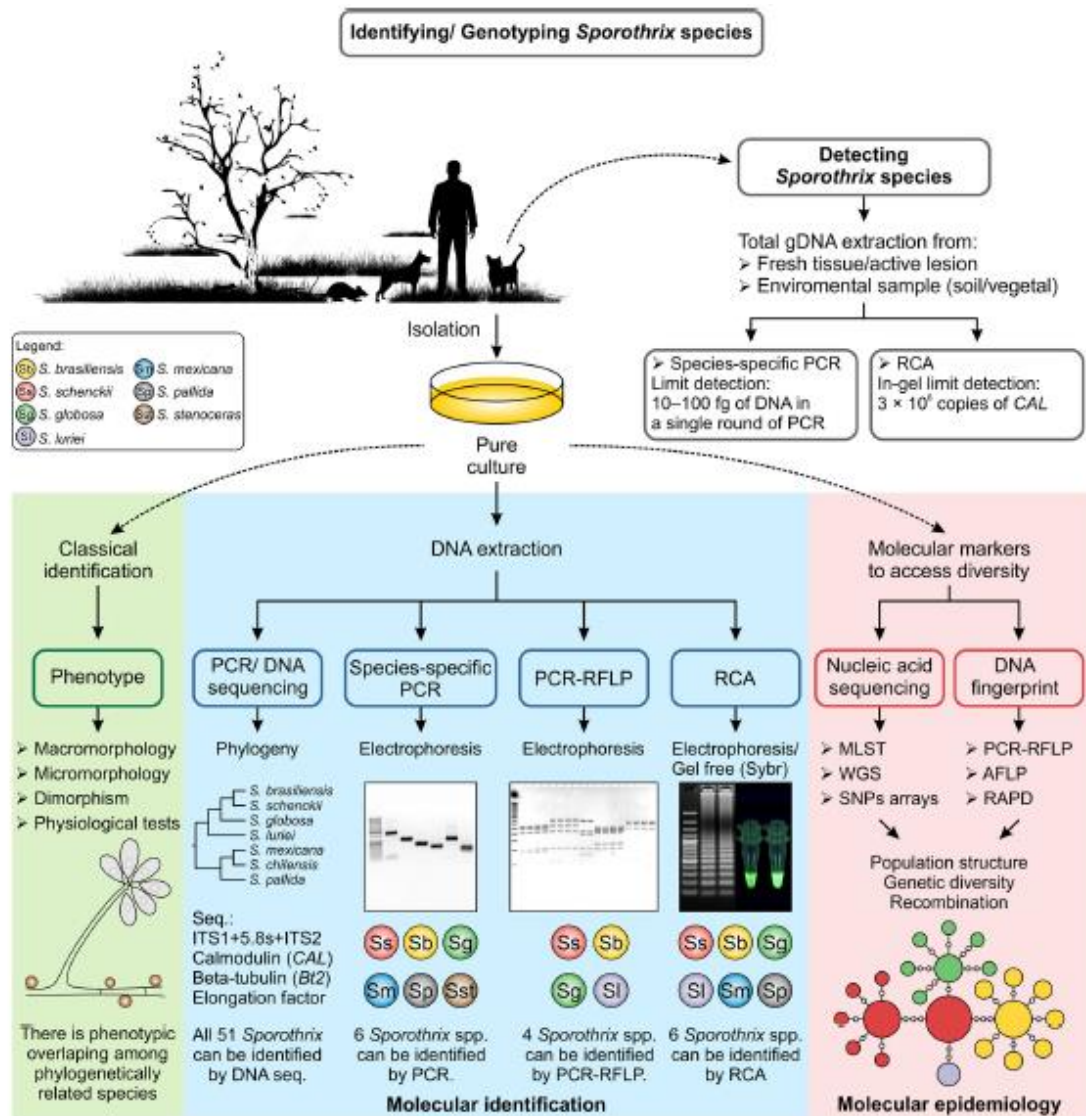


Figura 23: Métodos moleculares para identificación y epidemiología molecular (Lopes *et al*; 2018a) Sybr: SYBR verde; PCR: reacción en cadena de la polimerasa; PCR-RFLP, PCR de polimorfismo de longitud de fragmento de restricción; RCA: amplificación de PCR basada en replicación en círculo rodante; MLST: tipo de secuencia multilocus; WGS: secuenciación del genoma completo; SNP: polimorfismos de un solo nucleótido; AFLP: polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados; RAPD, amplificación aleatoria de ADN polimórfico

10.3.3 Inmunofluorescencia indirecta

Las técnicas de anticuerpos fluorescentes son altamente específicas en comparación con las tinciones tradicionales. Estudios han reportado hasta un 88 % de positividad en el exudado de las lesiones, con un 100 % de especificidad, no encontrándose diferencia entre anticuerpos contra las levaduras o contra las esporas (Palma *et al*; 2016).

10.3.4 Espectrometría de masas

Más recientemente, los perfiles proteómicos generados por la ionización MALDI (desorción/ionización mediante laser asistida por matriz) acoplada a un analizador TOF (tiempo de vuelo) se ha utilizado para la identificación de hongos como un método fiable, rápido y rentable. Sin embargo, una base de datos precisa es esencial y no se encuentra disponible para todas las especies de hongos de importancia médica, como *Sporothrix* spp., Sin embargo, MALDI-TOF, tiene la potencialidad a futuro, de ser utilizada en la rutina de los laboratorios clínicos de microbiología, asociando a una base de datos local enriquecida con espectros complejos de *Sporothrix* spp. de referencia para ser utilizada en la identificación de especies de importancia médica de este complejo (Etchepozas *et al.* 2021).

10.3.5 Esporotricina

Estas son poco utilizadas en micología médica, estas pruebas intentan evidenciar la respuesta inmune celular (respuesta de hipersensibilidad de tipo IV) del paciente ante el contacto con antígenos fúngicos, por lo que no es diagnóstica (Borelli, 1964).

El principio de la prueba se puede explicar, por la observación reportada por algunos estudios que demuestran que las células T de memoria residente en los tejidos, una subpoblación de células T de memoria efectora, tienen una función respuesta inmediata en el sitio de acceso del antígeno y son los mediadores esenciales de las reacciones hipersensibilidad tipo IV (García, Toriello, Herrera, y Bonifaz, 2018).

Las esporotricinas se pueden preparar de tres formas:

- Clásica o metabólica: extracto peptidopolisacárido (poliósido) producto del metabolismo del hongo obtenido a 37°C de la fase levaduriforme, también conocida como esporotricina L (más sensible y valor epidemiológico) o a 28°C de la fase

micelial, conocida como esporotricina M (más específica, superior en valor diagnóstico) (Saúl y Bonifaz, 2011; Arenas, 2014 y Gross y Salas, 2015).

- Celular: Suspensión de levaduras o conidios (valor epidemiológico) (Arenas, 2014).
- Somática: Se extrae de las células fúngicas (fines investigativos) (Arenas, 2014).

Al igual que otras intradermoreacciones, se inocula intradérmicamente 0.1 ml de la suspensión antigénica y se mide el halo induración luego de 48 horas, donde un halo mayor de 5 mm se considera positivo (Gross y Salas, 2015).

La esporotricina tiene un alto porcentaje de positividad, cuando la lesión se encuentra presente. En zonas endémicas, sin embargo, su utilidad diagnóstica puede verse reducida, ya que muchos de los habitantes de la región pueden presentar pruebas de esporotricina positiva, pero deberse al contacto con el hongo, por aspiración del material fúngico. Por otro lado, los pacientes anérgicos presentaran falsos negativos (Arenas, 2014).

Otro inconveniente de estas pruebas es que sus preparaciones pueden presentar variaciones antigénicas, además, de posibles reacciones cruzadas con antígenos de otros microorganismos como *Ceratocystis (Ophiostoma)* sp. (Arenas, 2014).

11 TRATAMIENTO

El tratamiento clásico y todavía recomendado especialmente en países en vías de desarrollo por su efectividad y bajo costo es el yoduro de potasio. En Costa Rica, la Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS) tiene el medicamento como gotas de yoduro de potasio a 1 g/mL en frascos de 30 mL con gotero y puede ser administrado desde el primer nivel de atención, EBAIS (Equipos Básicos de Atención Integral de Salud) por médicos generales (CCSS, 2021).

Además, en caso de intolerancia al yoduro de potasio, la CCSS, como principal proveedor de servicios de salud del país, posee itraconazol en cápsulas de 100mg, el cual se puede utilizar para esta micosis previa interconsulta con infectología, debido a que la institución lo tiene indicado para pacientes con histoplasmosis, aspergilosis (intolerancia o refractarios a anfotericina), cromomycosis, blastomycosis, coccidioidomycosis y onicomicosis con cultivo positivo. Este medicamento está restringido al segundo nivel de atención o superior (hospitales regionales, nacionales y especializados) y para uso exclusivo por especialistas en infectología, dermatología, inmunología y reumatología (CCSS, 2021).

En casos, de esporotricosis diseminada, la CCSS posee en su lista oficial de medicamentos del año 2021, anfotericina B 50 mg en polvo liofilizado. Este medicamento queda restringido a segundo y tercer nivel de atención en salud y sólo puede ser administrado intrahospitalariamente. Solamente algunas especialidades médicas, puede prescribirlo, como pediatría, infectología y medicina interna (CCSS, 2021).

A continuación, se ampliará estos medicamentos, sus recomendaciones particulares, y otras opciones terapéuticas.

11.1 Yoduro de Potasio (KI)

El yoduro de potasio (KI) vía oral ha sido utilizado, en forma empírica desde 1912, como el tratamiento de elección de la esporotricosis, pero hay casos en los que no responde al tratamiento o los efectos secundarios hacen que no sea tolerado por el paciente (Torres, Vásquez, y González, 1997 y Saúl y Bonifaz, 2011).

En adulto se observa buena respuesta al KI vía oral, 3 a 6 gramos/día, en tres tomas divididas. En los niños se administra del 33% al 50% de la dosis. En todos los grupos de

edad se administra durante 3 a 4 meses o durante un mes más después de la curación clínica y micológica (Arenas, 2019).

Entre los efectos secundarios del uso de KI están gastritis, náusea, vómito, diarrea, sabor metálico, exantema cutáneo, alteraciones tiroideas y fiebre y en caso de embarazo, parasitosis o hipertiroidismo no puede administrarse (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007 y Pavón, Bonifaz y Ponce, 2007). También puede presentar confusión, arritmia, adormecimiento de manos, debilidad en general (Arenas, 2019).

Debe usarse con precaución en pacientes con insuficiencia renal o con tratamientos con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA). Puede causar hipotiroidismo por suspensión de la síntesis de hormonas tiroideas (efecto de Wolff-Chaikoff) y el exceso de yodo puede producir tirotoxicosis (efecto de Jod-Basedow) (Arenas, 2019).

La acción del KI en la esporotricosis hasta la fecha no ha sido esclarecida, a pesar de las diversas investigaciones que existen al respecto. Aunque si se ha demostrado que tiene efecto directo *in vitro* sobre las blastosporas en altas concentraciones, aparentemente no tiene una acción directa *in vivo* sobre *Sporothrix* spp; esto por las bajas concentraciones séricas. Si la acción del KI no es directa, y no se ha mostrado en forma contundente que participe en el mejoramiento de los procesos microbicidas donde se involucran la mieloperoxidasa (MPO) o radicales libres que se encuentran alterados, es posible que estén implicados otros procesos como las respuestas inmunes humoral y celular (Torres, Vásquez, y González, 1997)

Las tasas de resolución con el uso de solución saturada de yoduro de potasio son de hasta el 100 %, no así en esporotricosis pulmonar-cavitada, donde la efectividad es baja (Carrada, 2006 y Hernández, Cortés, y Rodríguez, 2015).

Se ha propuesto la aplicación tópica de yoduro de potasio crema al 10 % en pacientes con intolerancia gástrica o embarazadas (Arenas, 2019).

11.2 Termoterapia

Por lo que respecta a la termoterapia, se ha utilizado desde hace años. Los primeros reportes fueron hechos en las décadas de 1950 y 1960 por Thomas y Mackinnon, posteriormente hubo una serie de publicaciones, que mencionan mayor control de la temperatura y mejor respuesta. El fundamento de la termoterapia o del uso de calor local

radica en que *Sporothrix* spp. es un hongo termosensible: reduce su crecimiento a partir de los 40 °C y prácticamente muere a los 45 °C. También, tiene influencia directa sobre la respuesta inmunitaria, específicamente sobre la fagocitosis por leucocitos polimorfonucleares, los cuales son activados a 42 °C (Pavón, Bonifaz y Ponce, 2007; Timaná *et al.*; 2014 y Conti, 2011).

Se recomienda en forma de baños calientes, controlando la temperatura (entre 42 y 45 °C), se puede hacer una sola vez durante 30 minutos a una hora, dos o tres veces al día durante 15 minutos en cada sesión. Este procedimiento terapéutico es una alternativa efectiva de tratamiento de la esporotricosis cutánea fija o linfática en pacientes intolerantes a los fármacos prescritos comúnmente, o en mujeres embarazadas en quienes se contraindica el yoduro de potasio por complicaciones como hipotiroidismo neonatal, crecimiento tiroideo e insuficiencia respiratoria neonatal (Pavón, Bonifaz y Ponce, 2007).

Por otro lado, la crioterapia también parece ser prometedora. Tres casos de esporotricosis cutánea fija, reportados en Canadá obtuvieron la curación clínica con la aplicación de nitrógeno líquido (Padilla, Novales, Zuloeta y Collado, 2012).

11.3 Antimicóticos

En general, la mayor parte de los antimicóticos son útiles para tratar la esporotricosis: hay comunicaciones de la administración de trimetoprim sulfá, griseofulvina, ketoconazol, itraconazol, fluconazol, terbinafina y anfotericina B, además, se encuentran en investigación nuevos triazólicos posaconazol y ravuconazol. Las técnicas para determinar los patrones de susceptibilidad a los antifúngicos para las formas filamentosas y levaduriforme de *Sporothrix* sp. contra diferentes fármacos antifúngicos, son descritas en las normas del CLSI (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio) en los documentos M38-A2 y M27-A3, respectivamente. Algunos valores reportados en la literatura para varias especies del Complejo *S. schenckii* se observan en el cuadro 12 (Pavón, Bonifaz y Ponce, 2007; Arenas, 2019 y Etchepozas *et al.* 2021).

Cuadro 12: Patrones de susceptibilidad *in vitro* de *Sporothrix* spp. ante diferentes antifúngicos de uso frecuente en el tratamiento de la esporotricosis

Especie	Mínima concentración Inhibitoria (ug/mL)					
	AMB	Azoles				TRB
		FLC	ITC	VRC	KTC	
<i>S. brasiliensis</i>	1-4	128	0.5-2	0.5-16	0.06-0.5	0.06-2.5
<i>S. schenckii</i>	0.5-4	128	1-32	2-32	0.125-4	0.06-0.5
<i>S. globosa</i>	2-8	128	1-32	16-32	0.25-2	0.06-1
<i>S. mexicana</i>	16-32	128	32	16-32	4	0.5
<i>S. albicans</i>	2-8	128	32	4-32	2-8	0.2-4

(Tomado y modificado de Marimon *et al*; 2008).

Estudios recientes evaluaron el perfil de susceptibilidad *in vitro* a los agentes antifúngicos para determinar la mejor opción terapéutica para cada caso de esporotricosis, y concluyeron que terbinafina fue el fármaco más activo contra *S. schenckii*, seguido de ketoconazol, itraconazol y anfotericina B, mientras que fluconazol y caspofungina fueron menos activos (Ramírez y Lizárraga, 2013).

Se reporta poco sobre el tema de resistencia antimicóticos por parte de *Sporothrix* spp; pero se han realizado informes sobre algunas cepas de *S. globosa* pueden manifestar resistencia al itraconazol (Conceição y Nazaré, 2018).

En caso de intolerancia y/o contraindicación para el uso del yoduro de potasio usualmente se administra itraconazol de 100 a 200 mg por día o terbinafina 500 mg/día (Padilla, Novales, Zuloeta y Collado, 2012)

El itraconazol parece ser una excelente alternativa, esto comprobado por medio de los perfiles de susceptibilidad de 57 aislamientos clínicos de *Sporothrix* spp. de la Universidad de Costa Rica, los cuales fueron todos sensibles a este antimicótico (Lozada, 2018 y Lozada *et al.*, 2020).

Las pautas para el tratamiento de pacientes con esporotricosis fueron preparadas por un panel de expertos de la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de América y reemplazan las pautas publicadas en el año 2000. Incluyen pruebas basadas en recomendaciones para el manejo de pacientes con esporotricosis linfocutánea, cutánea, pulmonar, osteoarticular, meníngea y diseminada y se resumen a continuación. (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007).

11.3.1. Tratamiento de la esporotricosis cutáneo fija y linfocutánea

Como primera línea de tratamiento se recomienda itraconazol (200 mg por vía oral al día) durante 2 a 4 semanas, el cual debe mantenerse hasta que hayan resuelto todas las lesiones (usualmente 3–6 meses) (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007).

Si no hay respuesta, se debe dar una dosis más alta de itraconazol (200 mg dos veces al día) o terbinafina en una dosis de 500 mg vía oral dos veces al día, o yoduro de potasio iniciado una dosis de cinco gotas, tres veces al día, aumentando según la tolerancia hasta 40-50 gotas tres veces al día (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007).

Si no hay tolerancia a los anteriores, dar fluconazol a una dosis de 400–800 mg diarios (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007).

11.3.2. Tratamiento para esporotricosis pulmonar

Se recomienda administrar anfotericina B, preparada como una formulación lipídica de 3–5 mg /kg diario. Alternativamente, se puede usar anfotericina B desoxicolato administrado a una dosis de 0.7–1.0 mg / kg diariamente. Después de que el paciente ha mostrado una respuesta favorable a tratamiento con anfotericina B, la terapia puede cambiarse a itraconazol administrado a una dosis de 200 mg por vía oral dos veces al día para completar un total de al menos 12 meses de terapia (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007).

Para la enfermedad menos grave, se administra itraconazol a dosis de 200 mg vía oral dos veces al día durante al menos 12 meses (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007). Se recomienda, también, la cirugía combinada con terapia de anfotericina B para enfermedad pulmonar localizada (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007).

11.3.3. Tratamiento de la esporotricosis osteoarticular

Se recomienda itraconazol administrado a una dosis de 200 mg vía oral dos veces al día durante al menos 12 meses o se puede usar anfotericina B, administrada como una formulación lipídica a 3-5 mg / kg al día, o anfotericina B desoxicolato, administrado a una dosis de 0.7–1.0 mg / kg al día para la terapia inicial. Después de que el paciente ha mostrado una respuesta favorable, la terapia puede cambiarse a itraconazol administrado a una dosis de 200 mg vía oral dos veces al día para completar un total de al menos 12 meses de terapia (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007).

11.3.4. Tratamiento de la esporotricosis meníngea

Se administra anfotericina B como formulación lipídica en una dosis de 5 mg / kg al día durante 4–6 semanas, se recomienda para el inicio tratamiento de la esporotricosis meníngea o alternativamente anfotericina B desoxicolato, administrado a una dosis de 0.7–1.0 mg / kg diariamente. Se recomienda itraconazol administrado a una dosis de 200 mg dos veces diariamente como terapia de reducción después de que el paciente responde al tratamiento inicial con anfotericina B y debe administrarse para completar un total de al menos 12 meses de terapia (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007).

Para pacientes con SIDA y otros inmunosuprimidos se recomienda la terapia de mantenimiento con itraconazol una dosis de 200 mg diarios para prevenir la recaída (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007).

11.3.5. Tratamiento de esporotricosis en embarazadas y niños

El itraconazol, administrado a una dosis de 6-10 mg / kg hasta un máximo de 400 mg por vía oral al día, se recomienda para niños con esporotricosis cutánea o linfocutánea. Una alternativa para los niños es la terapia yodo potásico, que se debe iniciarse con una dosis de 1 gota (usando un cuentagotas estándar) tres veces al día y aumentado según lo tolerado hasta un máximo de 1 gota / kg o 40–50 gotas tres veces al día (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007).

Para niños con esporotricosis diseminada, anfotericina B, administrado a una dosis de 0.7 mg / kg al día, debe ser la terapia inicial, seguida de itraconazol, administrado una dosis de 6-10 mg / kg hasta un máximo de 400 mg diarios, como terapia de reducción (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007).

La hipertermia local puede usarse para el tratamiento de esporotricosis cutánea en mujeres embarazadas y lactantes (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007). En embarazadas con casos severos se puede administrar anfotericina B como formulación lipídica en una dosis de 3-5 mg / kg al día, o anfotericina B desoxicolato, administrado a una dosis de 0.7–1 mg / kg al día. Los azoles deben ser evitados (Kauffman, Bustamante, Chapman, y Pappas, 2007).

12 MODELOS DE INFECCIÓN

La mayoría de las cepas de ratas, ratones, y conejillos de Indias (cobayos o cricetos) son sensibles a la enfermedad, se inoculan por vía intraperitoneal o intratesticular, y presentan peritonitis u orquitis con gran cantidad de levaduras, independientemente de las formas inoculadas (Arenas, 2014).

Otro organismo que destaca es la larva de la polilla de cera (*Galleria mellonella*), por ser un organismo barato, muy fácil de mantener y de criar, que no requiere instalaciones especializadas para su cuidado y además, porque pueden llevarse a cabo experimentos en masa, lo cual impacta de forma positiva en la reproducibilidad de los datos. Otra ventaja significativa es que el sistema inmune de estas larvas es funcionalmente similar a la rama innata del nuestro sistema inmune. Estas larvas se estudian como un modelo alternativo para evaluar la virulencia de dos miembros del complejo de *S. schenckii* (*S. brasiliensis* y *S. schenckii sensu stricto*) (Clavijo y Mora, 2015).

Por ejemplo, este modelo animal, permite evaluar la virulencia *in vivo* de *Sporothrix* spp. para esto se inoculan las larvas de este lepidóptero con jeringas que contengan diferentes suspensiones de los aislamientos de *Sporothrix* spp. a evaluar, diluidos con PBS y se analiza la tasa de supervivencia larvaria con respecto a un grupo de larvas control sin inocular. Cada grupo de larvas se mantiene en placas de Petri de 90 mm incubadas a 37°C, y se evalúa diariamente (las larvas muertas se reconocen por la ausencia de movimiento activo o inducido por el tacto y generalmente de color oscuro). Tres larvas de cada grupo se sacrifican después de 3 o 6 días de inoculación. El contenido interno se macera y homogeneiza en 2 mL de PBS y luego se filtra y se siembra una alícuota de 100 µl de este homogeneizado en agar infusión cerebro corazón con 0,4 g/L de cicloheximida y penicilina/estreptomicina al 1% para evitar la contaminación y se incuba a 37°C. Después de cinco días, se determinan las unidades formadoras de colonia, para comprobar la infección (Freitas *et al*; 2015b)

13. CONCLUSIONES

1. El complejo *Sporothrix schenckii* es un conjunto de especies de hongos dimórficos muy cosmopolita y con alto potencial patogénico para el ser humano y otros mamíferos.
2. En Costa Rica, desde inicios del siglo XX, se describe esta enfermedad, particularmente es importante las formas cutáneas y linfocutáneas, y se han realizado estudios de caracterización molecular de las especies implicadas
3. En Costa Rica, la principal forma de transmisión de la enfermedad es vía traumática con material contaminado (sapronosis) con predominio en varones que realizan actividad agrícola
4. En nuestro país, las especies que circulan son: *S. schenckii sensu stricto* y *S. globosa*. Sin embargo, el país posee las condiciones adecuadas para el establecimiento de la especie *S. brasiliensis*, por lo que no se descarta que pueda ocurrir casos de zoonosis por la introducción de esta especie a nuestro medio.
5. El cambio climático y la manipulación del ambiente por parte del ser humano y los casos de zoonosis con gatos y perros, contribuyen al aumento de reportes de casos de esporotricosis en zonas urbanas
6. La sapronosis por especies del complejo *S. schenckii* se relacionan a la inoculación de material contaminado con hifas y conidias del hongo, sin embargo, en el caso de la zoonosis por *S. brasiliensis*, se debe al contacto con el exudado de las lesiones de los animales infectados, o mordeduras y arañazos, en cuyo caso, el morfotipo infectivo son las blastosporas.
7. Al estudiar los casos que involucran animales, se debe diferenciar entre las zoonosis verdaderas, particularmente por *S. brasiliensis* con los casos en los que el animal actúa como vector indirecto.
8. El estado inmunológico del paciente, es el factor más determinante en la evolución de la enfermedad, observándose las formas cutáneas y linfocutáneas en paciente hiperérgicos y normérgicos y formas diseminadas en pacientes anérgicos e hipoérgicos.
9. Las formas diseminadas de la enfermedad se presentan en pacientes con inmunosupresión, sin embargo, en los gatos se presenta esporotricosis diseminada, sin requerirse la presencia concomitante con alguna enfermedad debilitante del sistema inmune.

10. Las especies parasitarias del complejo *S. schenckii* poseen una alta diversidad de factores de patogenicidad que le permiten evadir el sistema inmune y adaptarse a su nuevo medio. Entre las más importantes se pueden citar: termotolerancia, dimorfismo, fenómeno de Shedding, producción de melanina, producción de enzimas para adquisición de nutrientes y evasión del sistema inmune y formación de biopelículas
11. La respuesta inmune celular es la que controla la enfermedad. La respuesta primaria es mediada por la detección de PAMs fúngicos por medio de los RRP, este reconocimiento del hongo es requerido para que posteriormente se presente una repuesta inmune protectora la cual es una combinación de TH1 con TH17.
12. Varios componentes de la pared de *S. schenckii* son altamente inmunogénicos y potencialmente dianas terapéuticas para la producción de vacunas, como lo son las glucanas peptidomannanas y las glicoproteínas (Gp60 y Gp70).
13. Las más frecuentes manifestaciones de esta enfermedad son las formas cutáneas y linfocutáneas, sin embargo, pueden presentarse formas diseminadas y extracutáneas en pacientes inmunodeficientes, así como manifestaciones de hipersensibilidad y Síndrome inflamatorio de Reconstitución Inmune
14. El estándar de oro para el diagnóstico de esta micosis continúa siendo el aislamiento del microorganismo en las muestras cultivadas. Sin embargo, se puede hacer apoyo diagnóstico por medio de otras técnicas como la observación de las blastosporas por medio de tinciones en biopsias, pruebas serológicas, intradermoreacciones y moleculares
15. En las formas cutáneas se recomienda el uso de itraconazol, sin embargo, si no es bien tolerado el tratamiento puede prescribirse el yoduro de potasio y/o termoterapia, por otro lado, para las formas diseminadas y extracutáneas el tratamiento de elección es la anfotericina B.
16. La polilla de cera (*Galleria mellonella*) es un potencial organismo modelo de infección para esta micosis, que podría desplazar a los roedores que actualmente son utilizados en las investigaciones.

14. REFERENCIAS

1. Acaz, C; Porto, E; Martins, J; Heins, E. y Melo, N. (2002). Tratado de Micología Médica. Editorial Sarvier São Paulo, 1104
2. Ackermann, C; Vomero, A; Fernández, N. y Pérez, C. (2017). Esporotricosis linfocutánea: A propósito de un caso pediátrico. *Archivos de Pediatría del Uruguay*, 88 (2): 85-90.
3. Alba, C; Pérez, A; López, E; Cuéllar, M. y Ruiz, E. (2014). Cell wall proteins of *S. schenckii* as immunoprotective agents. *Revista Iberoamericana de Micología*, 31 (1): 86–89
4. Alba, C; Pérez, A; Toriello, C; Pulido, E; López, E; Romo, Y; Gutiérrez, G. y Ruiz, E. (2016). Immune Response Induced by an Immunodominant 60 kDa Glycoprotein of the Cell Wall of *S. schenckii* in Two Mice Strains with Experimental Sporotrichosis. *Journal of Immunology Research*: Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6525831>
5. Almada, A; Correa, J; Rivelli, V; Aparicio, R. y Mendoza, G. (2000). Esporotricosis: Comunicación de tres casos con localización. *Revista Pediatría Paraguay*, 27 (2): 32-46
6. Arenas, R. (2014). Micología médica ilustrada. Ciudad de México, México. Editorial Mc Graw Hill, (5): 160-171
7. Arenas, R. (2019). Dermatología: Atlas, diagnóstico y tratamiento. Ciudad de México, México. Editorial Mc Graw Hill, (7): 505-575
8. Arrillaga, I; Capilla, J; Fernández, A; Fariñas, F. y Mayayo, E. (2010). Diferencias en la patogenicidad del complejo de especies *Sporothrix* en un modelo animal. *Patología*, 48 (2): 82-87
9. Arvizu, F; Valencia, A; Toledo, M; Altamirano, A; Mena, C. y Bonifaz, A. (2010). Esporotricosis cutánea fija en un adolescente causada por *S. schenckii* (sensu stricto) y revisión comparativa de la bibliografía. *Dermatología Revista Mexicana*, 54 (5): 295-299
10. Asz, D. *et al.* (2006). Eritema multiforme. *Dermatología*, 4 (4): 268-277
11. Azevedo, A. (2016). Melanina fúngica atua na sinalização de adaptações pré-simbióticas para a interação planta-fungo ectomicorrízico. *Tese Doutor em*

Produção Vegetal Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 6-8

12. Bada, M; Arenas, R. y Ruiz, J. (2007). Esporotricosis en Veracruz. Estudio de cinco casos. *Dermatología Revista Mexicana*, 51: 9-13
13. Bao, F; Fu, X; Yu, G; Wang, Z; Liu, H. y Zhang, F. (2019). Mannose-Binding Lectin and Mannose-Binding Lectin-Associated Serine Protease-2 Genotypes and Serum Levels in Patients with Sporotrichosis. *The American Journal of Tropical Medicine Hygiene*, 101 (6): 1322-1324.
14. Barros, M; de Almeida, R. y Schubach A. (2011) S. schenckii and sporotrichosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 24 (4): 633-54.
15. Barros, M; Schubach, T; Coll, J; Gremião, I; Wanke, B. y Schubach, A. (2010). Sporotrichosis: development and challenges of an epidemic. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 27 (6): 455-460
16. Bastos de Lima, M; de Almeida, R; Oliveira, A. (2011). S. schenckii and Sporotrichosis. *Clinical microbiology reviews*, 24 (4): 633-654
17. Bastos de Lima, M; Pacheco, T; Gutierrez, M; de Oliveira, A; Fialho, P; Santos, R; Zancopé, R; dos Santos, M; Cuzzi, T; Moita, T; Feldman, K; Wanke, B. y Francesconi, A. (2001). Sporotrichosis: an Emergent Zoonosis in Rio de Janeiro. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96 (6): 776-779
18. Bonifaz, A. (2015). Micología medica básica. Ciudad de México, México. Editorial Mc Graw Hill, (5): 214-230
19. Bonifaz, A; Saúl, A; Montes de Oca, G. y Mercadillo, P. (2002). Superficial cutaneous sporotrichosis in specific anergic patient. *International Journal of Dermatology*, 38 (9): 700-703
20. Borelli, D. (1964). Divulgaciones micológicas. Esporotricosis. *Revista de Dermatología Venezolana*, 4 (1 y 2): 89-104
21. Bove, P; Mayorga, J. y Hernández, O. (2008). Esporotricosis transmitida por gato doméstico: Reporte de un caso. *Medicina Cutánea Ibero Latino Americana*, 36 (1): 33-35
22. Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS). (2021) Lista oficial de medicamentos. Recuperado de <https://www.ccss.sa.cr/lom>
23. Camargo, L; Jaramillo, V; Morantes, L; Serna, P. y Vásquez, E. (2012). Esporotricosis: una enfermedad ocupacional poco conocida. *Revista CES Salud Pública*, 3 (2): 273-279

24. Campos, P; Arenas, R; Vega, E; Collazo, E. y Sangrador, M. (2016). Esporotricosis adquirida en el Laboratorio. *Dermatología Revista Mexicana*, 60 (6): 514-519.
25. Carbone, I. y Kohn, L. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, (91): 553-556.
26. Carlos, I; Sgarbi, D; Santos, G. y Placeres, M. (2002). S. schenckii lipids inhibits Macrophage Phagocytosis; Involvement of Nitrogen Oxide and Tumor Necrosis Tumoral alfa. *Scandinavian Journal of Immunology*, 57 (3): 214-220
27. Carrada, T. (2005). Esporotricosis facial en los niños: diagnóstico clínico y de laboratorio, tratamiento y revisión. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 62 (3): 207-213
28. Carrada, T. (2006). Esporotricosis pulmonar cavitada: diagnóstico y tratamiento. *Medicina Interna de México*, 22 (5): 457-461
29. Carrada, T. (2012a). Esporotricosis: Avances recientes en el diagnóstico de laboratorio, histopatología y la epidemiología en México. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*, 59 (3): 147-171
30. Carrada, T. (2012b). New observations on the epidemiology of sporotrichosis and S. schenckii complex. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*, 59 (2): 88-100
31. Chakrabarti, A; Bonifaz, A; Gutierrez, M; Mochizuki, T. y Li, S. (2015). Global epidemiology of sporotrichosis. *Medical Mycology*, 53 (1): 3–14
32. Chávez, I; de la Cabada, J; Uribe, E; Gómez, H; Velasco, F. y Arias, J. (2007). Esporotricosis sistémica: comunicación de un caso y revisión bibliográfica. *Medicina Interna de México*, 23 (1):87-90
33. Clavijo, D. y Mora, H. (2015). Análisis de la virulencia de S. schenckii y S. brasiliensis en el organismo modelo Galleria mellonella. *Revista Jovenes Investigadores*, 1 (3): 50-52
34. Coates, M; Blanchard, S. y MacLeod, A. (2018). Innate antimicrobial immunity in the skin: A protective barrier against bacteria, viruses, and fungi. Recuperado de: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007353>
35. Conceição, F. y Nazaré, F. (2018). Immunopathogenesis of Human Sporotrichosis: What We Already Know. *Journal of fungi*, 4 (89): 1-16
36. Conti, I. (2011). La termoterapia local como tratamiento de la esporotricosis cutánea. Actualización de la experiencia acumulada a nivel internacional. *Revista Médica de Uruguay*, 27 (1): 50-55

37. Correa, R; Milutinovic, S. y Reed, J. (2012). Roles of NOD1 (NLRC1) and NOD2 (NLRC2) in innate immunity and inflammatory diseases. *Bioscience Reports*, 32 (6): 597–608
38. Costa, A; Souza, L; Manente, F; Quinello, C; Campos, M; Roberto, C; Simoes, D. y Zeppone, I. (2017). The NLRP3 inflammasome contributes to host protection during *S. schenckii*. *Immunology*, 151 (2): 154–166
39. Criseo, G; Malara, G; Romeo, O. y Puglisi, A. (2008). Lymphocutaneous sporotrichosis in an immunocompetent patient: a case report from extreme southern Italy. *Mycopathologia*, 166 (3): 159-162
40. Cruz, R; Vieille, P; Opazo, D. y Soto, I. (2013). Isolation of *S. pallida* and *Trichophyton rubrum* in hand onychomycosis. *Boletín Micológico*, 28 (1): 26-30
41. Cruz, R; Vieille, P; Oschilewski, D. (2012). Aislamiento ambiental de *S. globosa* en relación a un caso de esporotricosis linfo-cutánea. *Revista Chilena de Infectología*, 29 (4): 401-405
42. Da Rosa, D; Gezuele, E; Calegari, L. y Goñi, F. (2008). Asteroid body in sporotrichosis. Yeast viability and biological significance within the host immune response. *Medical Mycology*, 46 (5): 443-448
43. Da Rosa, D; Gezuele, E; Calegari, L. y Goñi, F. (2009). Excretion-secretion products and proteases from live *S. schenckii* yeast phase: immunological detection and cleavage of human IgG. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 51 (1): 1-7
44. de Jong, M; Vriend, L; Theelen, B; Taylor, M; Fluitsma, D; Boekhout, T. y Geijtenbeek, T. (2010). C-type lectin Langerin is a beta-glucan receptor on human Langerhans cells that recognizes opportunistic and pathogenic fungi. *Molecular immunology*, 47 (6): 1216–1225
45. de Lima, F; Nascimento, R; Ferreira, K. y Almeida, S. (2011). Antibodies Against *S. schenckii* Enhance TNF alfa Production and Killing by Macrophages. *Scandinavian Journal of Immunology*, 75 (2): 142-146
46. Domínguez, A. (2008). Regulación de la expresión y función de las lectinas mieloides DC-SIGN y LSECtin (Tesis doctoral). Universidad Complutense de Madrid, España: 1-144

47. Escafii, M. Benedetto, A; Podlipnik, S; Díaz, C. y Misad, C. (2010). Esporotricosis Cutánea: Revisión a Propósito de un Caso Contraído en Chile. *Revista Chilena de Dermatología*, 26 (2):154-158
48. Etchepozas, A. *et al.* (2021). *S. brasiliensis*: A review of an emerging south american fungal pathogen, its related disease, presentation and spread in Argentina. *Journal of Fungi*, 7 (170): 1-33
49. Falabela, R; Chaparro, J. y Barona, M. (2017). Dermatología Fundamentos de medicina. Editorial CIB, 8: 535
50. Fernández, G; Reyes, C; González, R. *et al.* (2016). Esporotricosis: A propósito de un caso. *Revista Cubana Medica Tropical*, 68 (2): 171-178
51. Fernandes, K; Mathews, H. y Lopes, L. (1999). Differences in virulence of *S. schenckii* conidia related to culture conditions and cell-wall components. *Journal of Medical Microbiology*, 48 (2): 195-203
52. Fernandes, K; Neto, E; Brito, M; Silva, J; Cunha, F. y Barja, C. (2008). Detrimental role of endogenous nitric oxide in host defence against *S. schenckii*. *Immunology*, 123 (4): 469–479
53. Figueiredo, R; Fernández, P; Dutra, F; Gonzalez, Y; Lopes, C; Bittencourt, V; Sasaki, G; Barreto, E. y Bozza, M. (2010). TLR-4 recognizes *Pseudoallescheria boydii* conidia and purified rhamnomannans. *Journal of Biological Chemistry*, 285 (52): 40714–40723
54. Flores, A; Sánchez, R; Velasco, R; Zambrano, A; Ruiz, S. y Paredes, C. (2014). Exogenous interleukin-12 prevents the decrease in myeloperoxidase activity of macrophages in gerbils with sporotrichosis. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 33 (1): 52-60
55. Fogaça, J; Pereira, G; Hideo, G; Dantas, L; Spadari, K. y de Almeida, S. (2018). An immunoproteomic approach revealing peptides from *S. brasiliensis* that induce a celular immune response in subcutaneous sporotrichosis. *Scientific Reports*, 8 (1): 4192
56. Freitas, D; Lima, M; Paes, R; Lamas, C; Valle, A; Oliveira, M; Zancoppe, R. y Galhardo, M. (2015a). Sporotrichosis in the Central Nervous System Caused by *S. brasiliensis*. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 61 (1): 663-664
57. Freitas *et al.* (2015b) Increase in virulence of *S. brasiliensis* over five years in a patient with chronic disseminated sporotrichosis. *Virulence*, 6 (2): 112--120

58. García, A; Toriello, C; Herrera, L. y Bonifaz, L. (2018). S. schenckii Immunization, but Not Infection, Induces Protective Th17 Responses Mediated by Circulating Memory CD4C T Cells. *Frontiers in Microbiology*, 9 (1275): 1-14
59. García, L; Lozoya, N; González, S. y Martínez, J. (2018). Immunity and Treatment of Sporotrichosis. *Journal fungi*, 4 (3): 100.
60. Galhardo, M; Barros, M; Schubach, A; Cuzzi, T; Schubach, T; Lazéra, M. y Valle, A. (2005). Erythema multiforme associated with sporotrichosis. *The Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 19 (4): 507-509.
61. Galhardo, M; Silva, M; Lima, M. et al. (2010). S. schenckii meningitis in AIDS during immune reconstitution síndrome. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 81: 696-699
62. Garrison, R. y Mirikitani, F. 1983. Electron cytochemical demonstration of the capsule of yeast-like S. schenckii. *Sabouraudia*, 21 (2): 167-170
63. Gezuele, E. y Da Rosa, D. (2005). Relevancia del cuerpo asteroide esporotricósico en el diagnóstico rápido de la esporotricosis. *Revista Iberoamericana de Micología*, 22 (3) 147-150
64. González, A. y Soto, F. (1947). Polisacáridos del Sporotrichum schenckii. *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales*, 8 (1): 143-146.
65. Goyal, S; Castrillón, J; Klaile, E. y Slevogt, H. (2018). The interaccion of Human Pathogenic Fungi with C-Type lectin receptors. *Frontiers in Immunology*, (9): 1-25
66. Gross, N. y Salas, I. (2015). Métodos diagnósticos en Micología Médica. Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica, 23
67. Haddad, V; Miot, H; Bartoli, L; Cardoso, C; de Camargo, R. (2002). Localized lymphatic sporotrichosis after fish-induced injury (Tilapia sp.). *Medical Mycology*, 40 (4): 425-427
68. Hernández, Z; Cortés, S. y Rodríguez, G. (2015). Esporotricosis osteoarticular. Informe de caso. *Revista del Colegio de Microbiólogos y Químicos. Clínicos de Costa Rica*, 21 (3): 80-84
69. Hessler, C; Kauffman, C; Chow, F. (2017). The Upside of Bias: A Case of Chronic Meningitis Due to S. Schenckii in an Immunocompetent Host. *The Neurohospitalist*, 7 (1): 30-34.
70. Hogan, L; Klein, B; Levitz, S. (1996). Virulence Factors of Medically Important Fungi. *Clinical Microbiology Reviews*, 9 (4): 469-488.

71. Ikeda, M; de Almeida, J; Jannuzzi, G; Cronemberger, A; Torrecilhas, A; Moretti, S; da Cunha, J; de Almeida, S. y Ferreira, K. (2018). Extracellular vesicles from *S. brasiliensis* are an important virulence factor that induce an increase in fungal burden in experimental sporotrichosis. *Frontiers in Microbiology*, 9: 2286
72. Jiao, Q; Luo, Y; Scheffel, J; Geng, P; Wang, Y; Frischbutter, S; Li, R; Maurer, M. y Zhao, Z. (2020). Skin Mast Cells Contribute to *S. schenckii* Infection. *Frontiers in Immunology*, 11 (469): 1-12
73. Kauffman, C. (2019). Central Nervous System Infection with Other Endemic Mycoses: Rare Manifestation of Blastomycosis, Paracoccidioidomycosis, Talaromycosis, and Sporotrichosis. *Journal of Fungi*, 5 (64): 1-15
74. Kauffman, C; Bustamante, B; Chapman, S. y Pappas, P. (2007). Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 update by Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Disease*, 45 (10): 1255-1265
75. Kajiwarra, H; Saito, M; Ohga, S; Uenotsuchi, T. y Yoshida, S. (2004). Impaired Host Defense against *S. schenckii* in Mice with Chronic Granulomatous Disease. *Infection and Immunity*, 72 (9): 5073–5079
76. Kasper, D; Hauser, S; Jameson, J; Fauci, A; Longo, D. y Loscalzo, J. (2016). Harrison, principios de medicina interna. Estados Unidos. Editorial McGraw Hill, 19 (2): 803-813, 1102-1122, 1334-1337
77. Klibbler, C; Barton, R; Gow, N; Howell, S; McCallun, D. y Manuel, R. (2018). Oxford Textbook of Medical Mycology. Reino Unido. *Oxford University Press*. 62-70
78. Kingsbury, J; Goldstein, A; y McCusker, J. (2006). Role of nitrogen and carbon transport, regulation, and metabolism genes for *Saccharomyces cerevisiae* survival in vivo. *Eukaryotic cell*, 5 (5): 816–824.
79. Kusuhara, M; Qian, H; Li, X; Tsuruta, D; Tsuchisaka, A; Ishii, N; Ohata, C; Furumura, M. y Hashimoto, T. (2014). Mouse bone marrow-derived dendritic cells can phagocytize the *S. schenckii*, and mature and activate the immune response by secreting interleukin-12 and presenting antigens to T lymphocytes. *The journal of dermatology*, 41 (5): 386-92
80. Larone, D. (1995). Medical important fungi. A guide to identification. Washington, DC. Editorial ASM Press, 3: 92
81. Leandro *et al.* (2016). A cell wall protein-based vaccine candidate induce protective immune response against *S. schenckii* infection. *Inmunobiología*, 221: 300-309

82. Legarraga, P. 2016. *S. schenckii*: retrato microbiológico. *Revista Chilena de Infectología*, 33 (5): 563-564
83. Lopes, L. (2007) TGF- β 1 induces transendothelial migration of pathogenic fungus *S. schenckii* by a paracellular route involving extracellular matrix proteins. *Microbiology Research*, 153 (9): 2910-2921
84. Lopes *et al.* (2018a). Sporotrichosis between 1898 and 2017: The evolution of knowledge on a changeable disease and on emerging etiological agents. *Medical Mycology*, 56 (1): 126–143
85. Lopes *et al.* (2018b). Cell walls of the dimorphic fungal pathogens *S. schenckii* and *S. brasiliensis* exhibit bilaminar structures and sloughing of extensive and intact layers. *PLoS neglected tropical diseases*, 12 (3). Recuperado de: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006169>
86. Lopes, L; Schubach, A. y Costa, R. (2005). *S. schenckii* and Sporotrichosis. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 78 (2): 293-308
87. Lozada, S. (2018). Identificación bioquímica, molecular y susceptibilidad al itraconazol de aislamientos clínicos costarricenses del complejo *S. schenckii* (tesis de maestría). Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica, 1-96
88. Lozada, S. Salas, I; Uribe, L. y Gross, N. (2020). Molecular and Biochemical Identification and *In Vitro* Susceptibility to Itraconazole of Costa Rican Clinical Isolates of the *Sporothrix schenckii* Complex. *Acta scientific microbiology*, 3 (12): 116-123
89. Lyra, M; Nascimento, M; Varon, A; Pimentel, M; de Antonio, L; Saheki, M; Bedoya, S. y Valle, A. (2014). Immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV and sporotrichosis coinfection: Report of two cases and review of the literature. *Revista de la Sociedad Brasileña de Medicina Tropical*, 47 (6): 806–809.
90. Madrid *et al.* (2010). Role of melanin in the pathogenesis of cutaneous sporotrichosis. *Microbes Infectology*, 12 (2): 162-165
91. Magand, F; Perrot, J; Cambazard, F; Raberin, M. y Labeille, B. (2009). Autochthonous cutaneous sporotrichosis in France. *Annales de Dermatologie et de Venereologie*, 136 (3): 273-275
92. Marimon, R; Gené, J; Cano, J; Trilles, L; Dos Santos, M. y Guarro, J. (2006). Molecular Phylogeny of *Sporothrix schenckii*. *Journal of Clinical Microbiology*, 44 (9): 3251

93. Marimon, R; Serena, C; Gene, J; Cano, J. y Guarro, J. (2008). In vitro antifungal susceptibilities of five species of *Sporothrix*. *Antimicrobial Agents Chemotherapia*, 52 (2): 732-734
94. Martínez, G. (2016). Esporotricosis en caninos y felinos: hallazgos clínicos, métodos de diagnóstico y tratamiento. *Analecta Veterinaria*, 36 (1): 30-39
95. Martínez, C; Enríquez, M; Arce, R; Vallejos, C; Sánchez, J; Martínez, J; Valdez, J. y Bonifaz, A. (2013). Esporotricosis cutánea linfangítica por mordedura de murciélago vampiro (*Desmodus rotundus*). *Revista Mexicana de Dermatología*, 57 (6): 468-472
96. Martínez, J; Pérez, L; Mellado, E; López, M; Martínez, I; López, L. y Mora, H. (2017). *S. schenckii sensu stricto* and *S. brasiliensis* Are Differentially Recognized by Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Frontiers in microbiology*, 8 (843). Recuperado de: <https://www.readcube.com/articles/10.3389/fmicb.2017.00843>
97. Martino, O; Negroni, R; Orduna, T; Payaslian, M. y Calcagno, J. (1986). Esporotricosis humana producida por la mordedura de iguana: a propósito de un caso *Revista. Argentina de Micología*; 9 (2): 23-25
98. Mayayo, E; Capilla, J. y Arrillaga, I. (2009). Esporotricosis: Nuevos aspectos para una vieja enfermedad. *Décimo Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica*. 1-30 de noviembre 2009. Recuperado de: http://www.conganat.org/10congreso/vistaImpresion.asp?id_trabajo=1908
99. Mayorga, R; Cáceres, A; Toriello, C; Gutiérrez, G; Álvarez, O; Ramírez, M. y Mariat, F. (1979). Investigación de una zona endémica de esporotricosis en la región de la laguna de Ayarza, Guatemala. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 87 (1): 20-34
100. Mayorga, J; Mayorga, J; Muñoz, V. *et al.* (2019). Esporotricosis: serie de 1134 casos en una zona endémica de México. *Medicina Cutánea Ibero Latino Americana*, 47 (1): 24-28.
101. Mendoza, M; Brito, A; Schaper, D; Spooner, V; Alvarado, P; Castro, A. y Fernández, A. (2012). Evaluación de la técnica PCR anidada para el diagnóstico de la esporotricosis experimental. *Revista Iberoamericana de Micología*, 29 (3): 120–125
102. Mesa, A; Pérez, A; Navarro, H; Souza, V; Zuñiga, G. y Toriello, C. (2002). Phenotyping and genotyping of *S. schenckii* isolates according to geographic origin and clinical form of sporotrichosis. *Journal of Clinical. Microbiology*, 40 (8): 3004–3011

103. Messias, A. (2010). Taxonomia polifásica e características proteômicas do complexo *Sporothrix schenckii*. (Tesis de Maestría). Universidade Federal de São Paulo. São Paulo, Brasil, 6-12
104. Messias, A; Ferreira, G; Mendes, L; Portella, P; Oliveira, P; Pereira, S; Pacheco, T; Burger, E; Lopes, L. y Pires, Z. (2015). Proteomics-Based Characterization of the Humoral Immune Response in Sporotrichosis: Toward Discovery of Potential Diagnostic and Vaccine Antigens. *PLOS Neglected Tropical Diseases*: 9 (8): 1-18
105. Mialski, R; João, J; Honorato, L. *et al.* (2018). Chronic Meningitis and Hydrocephalus due to *S. brasiliensis* in Immunocompetent Adults: A Challenging Entity. *Open Forum Infectious Diseases*, 1-4
106. Miró, M; Vigezzi, C; Rodríguez, E; Icely, P; Caeiro, J; Riera, F; Masih, D. y Sotomayor, C. (2016). Innate receptors and IL-17 in the immune response against human pathogenic fungi. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas*. 73 (3): 188-196
107. Mitra, A; Das, S; Sinha, R; Aggarwal, N. y Chakravorty, S. (2016). Sporotrichosis of Maxillary Sinuses in a Middle Aged Female Patient from Rural Area of Eastern India. *Journal of clinical and diagnostic research*, 10 (3): 1-2
108. Moalli, F; Doni, A; Deban, L; Zelante, T; Zagarella, S; Bottazzi, B. y *et al.* (2010). Role of complement and Fc gamma receptors in the protective activity of the long pentraxin-3 against *Aspergillus fumigatus*. *Blood, ASH publications*, 116 (24): 5170-5180
109. Montano, E; Fortoul, T. y Rendón, E. (2017). ¿Qué son los inflamomas? El NLR-P3 como por ejemplo. *Revista de la Facultad de Medicina México*. 60 (1): 42-49
110. Mungía, R; Velásquez, M; Rosas, R; Guerrero, L. y Espinoza, A. (s.f). Factores ambientales que influyen en el desarrollo de *Sporothrix sp.* *Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias y Posgrado en Ciencias Ambientales*. Recuperado de:
www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/ Extenso/TA/EC/TAC-34.pdf
111. Nascimento, R. y Almeida, S. (2006). Humoral immune response against soluble and fractionate antigens in experimental sporotrichosis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 43 (2): 241-247

112. Nascimento, R; Espíndola, N; Castro, R; Teixeira, P; Loureiro, C; Lopes, L. y Almeida, S. (2008). Passive immunization with monoclonal antibody against a 70-kDa putative adhesin of *S. schenckii* induces protection in murine sporotrichosis. *European Journal Immunology*, 38 (11): 3080–3089
113. Nessler, A. et al. (2019). *Sporothrix humicola* (Ascomycota: Ophiostomatales). A soil-borne fungus with pathogenic potential in the eastern quoll (*Dasyurus viverrinus*). *Medical mycology*, 25: 39-44
114. Ochoa, J; Ramos, E; Treviño, R; González, G. y Bonifaz, A. (2018). Esporotricosis del pabellón auricular. Comunicación de un caso atípico simulando una celulitis bacteriana. *Revista chilena de infectología*, 35 (1): 83-87
115. Orellana, A; Moreno, G; Poletti, E; Vega, M. y Arenas, R. (2009). Esporotricosis fija con cuerpo asteroide junto al fragmento vegetal. *Revista Iberoamericana de Micología*, 26 (4): 250-251
116. Orofino, R; Boia, N; Magalhaes, G; Damasco, P; Bernardes, A. y Benvenuto, F. (2010). Arthritis as a hypersensitivity reaction in a sick cat: Clinical and serological follow-up of 13 months. *Mycoses*, 53 (1): 81-83.
117. Orofino, R; Marques, P; Messias, A. y Bernardes, A. (2017). Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 92 (5): 606-620.
118. Ortiz, G. (2006). Actividad antifúngica de los extractos etanólicos de la flor de *Bourreria huanita* y la hoja de *Lippia graveolens* y sus particiones hexanica, cloroformica, acetato de etilo y acuosa contra los hongos *S. schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*. (Tesis de grado) Universidad de San Carlos, Ciudad de Guatemala, Guatemala, 17
119. Pacheco, T; dos Santos, M. y do Valle, A. (2002). Erythema nodosum associated with sporotrichosis. *International Journal of Dermatology*, 41 (2): 114–116.
120. Padilla, M; Novales, J; Zuloeta, E. y Collado, K. (2012). Esporotricosis cutánea fija. Presentación de un caso. *Revista del Centro Dermatológico Pascua*, 11 (3): 122-126
121. Padilla, M. y Saucedo, A. (2001). Esporotricosis de doble inoculación. Comunicación de un caso. *Revista del Centro Dermatológico Pascua*, 10 (1): 25-30

122. Padilla, M; Siordia, S. y Novales, J. (2007). Esporotricosis con involución espontánea. *Dermatología Revista Mexicana*, 51 (1):14-19
123. Padhye, A; Kaufman, L; Durry, E; Banerjee, C; Jindal, S; Talwar, P. y Chakrabarti, A. (1992). Fatal pulmonary sporotrichosis caused by *S. schenckii* var. *luriei* in India. *Journal of Clinical Microbiology*, 30 (9): 2492- 2494
124. Palma, A; Castrillón, L; Paredes, A; Vega, M; Arenas, R. y Castañeda, J. (2016). Aplicación de la técnica de inmunofluorescencia indirecta para la observación de levaduras en biopsias de pacientes con esporotricosis cutánea con el uso de anticuerpos anti levaduras y anti esporas. *Dermatología Revista Mexicana*, 60 (5): 373-380.
125. Papaioordanou, F; da Silveira, B. y Abulafia, L. (2015). Hypersensitivity reaction to *S. schenckii*: Erythema nodosum associated with sporotrichosis. *Revista de la Sociedad Brasileira de Medicina Tropical*, 48 (4): 504.
126. Pavón, N; Bonifaz, A; y Ponce, R. (2007). Termoterapia en esporotricosis cutánea infantil. Comunicación de dos casos *Dermatología Revista Mexicana*, 51 (2): 68-72
127. Penn, C; Goldstein, E. y Bartholomew, W. (1992). *S. schenckii* Meningitis in a Patient with AIDS. *Clinical Infectious Diseases*, 15 (4): 741-743
128. Peres, R; Puccia, R; Rodrigues, M; Oliveira, D; Joffe, L; Cesar, G; Nimrichter, L; Goldenberg, S. y Alves, L. (2015). Extracellular vesicle-mediated export of fungal RNA. *Scientific Reports*, 5 (7763): 1-12
129. Pérez, L; González, E; Colón, E; González, W; González, R. y Rodríguez-del Valle, N. (2010). Interaction of the heterotrimeric G protein alpha subunit SSG-1 of *S. schenckii* with proteins related to stress response and fungal pathogenicity using a yeast two-hybrid assay. *BMC Microbiology*, 19 (1): 262
130. Portuondo, D; Dores, P; Souza, L; de Oliveira, C; Téllez, D; Marcos, C; de Aguiar, M; Guzmán, F; Gava, L; Borges, J; Pereira, S; Batista, A. y Zeppone, I. (2019). Immunization with recombinant enolase of *Sporothrix* spp. (rSsEno) confers effective protection against sporotrichosis in mice. *Scientific Reports*, 9 (1): 17179 Quijandria, J. y Ruiz, R. (2018). Identificación molecular del complejo *S. schenckii* en aislamientos clínicos procedentes del área hiperendémica de Abancay-Apurímac (Tesis de pregrado). Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú, 4-5

131. Ramírez, M. (2018). Differences in clinical ocular outcomes between exogenous and endogenous endophthalmitis caused by S.: A systematic review of published literature. *The British Journal of Ophthalmology*, 102 (7), 977–982.
132. Ramírez, M. y Lizárraga, J. (2013). Esporotricosis granulomatosa: presentación de dos casos inusuales. *Revista Chilena de Infectología*, 30 (5): 548-553
133. Reyes, H; Mata, S; Magaldi, S; Hartung, C; Colella, M; Pérez, C; Calatroni, M; Silva, S; Rosselló, A; Olaizola, C. y Rojas, E. (2003). Utilidad del método LA-S. Antibody System en el diagnóstico de la esporotricosis cutánea. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 23 (2): 163-165
134. Ríos, J; Sendagorta, E. y Gonzalez, M. (2009). Eritema nudoso. *Medicina Clínica*, 132 (2): 75–79
135. Roberts, G. y Larsh, H. (1971). The serologic diagnosis of extracutaneous sporotrichosis. *American Journal de Clinical Pathology*, 56 (5): 597-600.
136. Rodrigues, A; de Hoog, G. y de Camargo, Z. (2015). Molecular Diagnosis of Pathogenic Sporothrix Species. *PLoS neglected tropical diseases*, 9 (12): 1-22
137. Rodríguez, G. (1985). El cuerpo asteroide de la esporotricosis especificidad y diferenciación de otras formas asteroides. *Revista Biomédica*, 5 (1-2): 11-23
138. Rodríguez, H; Magaña, M; Juárez, L. y Arenas, R. (2008). Esporotricosis cutánea diseminada: comunicación de un caso. *Dermatología Revista Mexicana*, 52 (5): 228-30
139. Rodríguez, J. (1992). Aspectos clínicos, epidemiológicos y ecológicos sobre 100 casos de esporotricosis en Costa Rica. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 13 (3, 4): 29-36).
140. Rodríguez, N; Rosario, M. y Torres, G. (1983). Effects of pH, temperature, aeration and carbon source on the development of the mycelial or yeast forms of S. schenckii from conidia. *Mycopathologia*, 82 (2): 83–88
141. Rojas, R; Pastrana, R; Toledo, M; Valencia, A; Mena, C. y Bonifaz, A. (2013). Esporotricosis cutánea linfangítica por mordedura de araña. *Revista Mexicana de Dermatología*, 57 (6): 479-484
142. Rojas, O; Bonifaz, A; Campos, C; Treviño, R; González, R. y González, G. (2018). Molecular Identification, Antifungal Susceptibility, and Geographic Origin of Clinical Strains of S. schenckii Complex in México. *Journal Fungi*, 4 (3): 86

143. Romero, A. (s.f.). La esporotricosis en Costa Rica. *Revista médica de Costa Rica*. 68-77
144. Romo, Y; Hernández, F. y Salinas, E. (2012). Mast Cell Activation by Conidia of *S. schenckii*: Role in the Severity of Infection. *Scandinavian Journal of Immunology*, 76 (1): 11–20
145. Rossato, L; Ferreira, L; Jamalian, A; Stielow, B; de Almeida, S; de Hoog, S. y Freeke, J. (2018). Proteins Potentially Involved in Immune Evasion Strategies in *S. brasiliensis* Elucidated by Ultra-High-Resolution Mass Spectrometry. *American Society for Microbiology*, 3 (3): 1-10
146. R&D Systems Tools for Cell Biology Research. (2020). Pattern Recognition Receptors. Recuperado el 28 marzo 2020.de R&D Systems website: <https://www.rndsystems.com/research-area/pattern-recognition-receptors>
147. Sabanero, M; Flores, L; Soto, K; Barbosa, G; Villagómez, J; Cruz, G; Sandoval, G; Torres, H. (2018). Proteases of *S. schenckii*: Cytopathological effects on a host-cell model. *Revista Iberoamericana de Micología*, 35 (1): 32-38
148. Sabanero, M; Galindo, G; Barbosa, G; Sabanero, G; Torres, H. (2000). Un nuevo enfoque en el estudio de la esporotricosis: Mutantes de *S. schenckii*. *Acta Universitaria*, 10 (1): 3-9
149. Sabanero, M; Tsutsumi, V; Barbosa, G; López, E. y Sandoval, G. (2006). Interacción de levaduras de *S. schenckii* con levaduras. *Revista de investigación y ciencia de la Universidad Autónoma de Aguas Calientes*, 14 (36): 10-14
150. Sánchez, R; Flores, L; Padilla, I; Barbosa, G. y Sabanero, M. (2014). Biofilm formation in the pathogenic fungus *S. schenckii*: development, architecture and biochemical characteristics. *Acta Universitaria, Ciencias Médicas*, 24 (2): 11-15
151. Sandoval, G; Barbosa, G. y Sabanero, M. (2009). Biología del proceso de adhesión de *S. schenckii* y otros micopatógenos de humanos hacia los tejidos hospederos. *Revista de investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguas Calientes*, 43 (21): 21-25
152. Sassá, M; Satri, A; Souza, L; Ribeiro, L; Sgarbi; & Carlos, I. (2009). Response of macrophage Toll-like receptor 4 to a *S. schenckii* lipid extract during experimental sporotrichosis. *Immunology*, 128 (2): 301–309

153. Sascha, B; Mogavero, S; Kasper, L. y Hube, B. (2016). Virulence factors in fungal pathogens of man. *Current Opinion in Microbiology*, 32 (1): 89-95
154. Saúl, A. y Bonifaz, A. (2011). Clasificación de la esporotricosis. Una propuesta con base en el comportamiento inmunológico. *Dermatología Revista Mexicana*, 55 (4): 200-208
155. Schubach, A; Barros, M. y Wanke, B: (2008). Epidemic sporotrichosis. *Current Opinion Infectious Disease*, 21 (2):129-133.
156. Skoneczny, M. (2018). Stress response mechanisms in fungi. Theoretical and practical aspects. *Editorial Springer*, 1-278
157. Silva, M; de Camargo, Z; Silva, P; Abdalla, M; Sgarbieri, R; Rodrigues, A; dos Santos, K; Barata, C; Ferreira, K. (2012). Disseminated *S. brasiliensis* infection with endocardial and ocular involvement in an HIV-infected patient. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 86 (3): 477–480
158. Song, Y; Li S; Zhong, S; Liu, Y; Yao, L. y Huo, S. (2013). Report of 457 sporotrichosis cases from Jilin province northeast China, a serious endemic region. *Journal of European Academy Dermatology and Venereology*, 27 (3): 313-318.
159. Souza, L; Leandro, D; Campos, M. y Zeppone, I. (2018). Natural killer cells are pivotal for in vivo protection following systemic infection by *S. schenckii*. *Immunology*, 155: 467–476
160. Tachibana, T; Matsuyama, T. y Mitsuyama, M. (1999). Involvement of CD4⁺ T cells and macrophages in acquired protection against infection with *S. schenckii* in mice. *Medical Mycology*, 37 (6): 397–404
161. Tamez, A; Romero, O; García, L; Lozoya, N. y Mora, H. (2020). Virulence Factors in *S. schenckii*, One of the Causative Agents of Sporotrichosis. *Current Protein and Peptide Science*, 21 (3): 295-312
162. Téllez, M; Batista, A; Portuondo, D; Quinello, C; Bonne, R. y Carlos, I. (2014). *S. schenckii* complex biology: environment and fungal pathogenicity. *Microbiology*, 160 (11): 2352–2365
163. Timaná, D; Valverde, J; Rojas, P; Vicuña, D; Ramírez, A. y Vásquez, M. (2014). Esporotricosis facial en niños: un desafío diagnóstico. *Dematología Perú*, 24 (2): 123-127
164. Torres, B; Vásquez, E. y González, A. (1997). Efecto del yoduro de potasio sobre la respuesta inmune en la esporotricosis. *Revista Iberoamericana de Micología*, 14 (1): 98-100

165. Tsuboi, R; Sanada, T; Takamori, K. y Ogawa, H. (1987). Isolation and Properties of Extracellular Proteinases from *S. schenckii*. *Journal of bacteriology*, 169 (9): 4104-4109
166. Uenotsuchi, T; Takeuchi, S; Matsuda, T; Urabe, K; Koga, T; Uchi, H; Nakahara, T; Fukagawa, S; Kawasaki, M; Kajiwara, H; Yoshida, S; Moroi, Y. y Furue, M. (2006). Differential induction of Th1-prone immunity by Human dendritic cells activated with *S. schenckii* of cutaneous and visceral origins to determine their different virulence. *International Immunology*, 18 (12): 1637–1646
167. Uran, M. y Cano. (2011). Melanina: implicaciones en la patogénesis de algunas enfermedades y su capacidad de evadir la respuesta inmune del hospedero. *ResearchGate*, 12 (2): 357-377
168. Uribe, F; Zuluaga, A; León, W. y Restrepo, A. (1985). Aspectos histológicos de la esporotricosis y búsqueda del agente etiológico por métodos inmunoenzimáticos. *Acta Médica Colombiana*, 10 (2): 65-74
169. Vega, O; Bonifaz, A; Blancas, F. y Mercadillo, P. (2002). Esporotricosis cutáneo-hematógena. *Revista Médica del Hospital General México*, 65 (2): 98-101.
170. Vélez, H; Santamaría, L; Guzmán, G. y Escobar, M. (1984). Esporotricosis aspectos clínicos en 78 pacientes. *Acta Médica Colombia*, 9 (4): 146-149
171. Vilela, R; Souza, G; Fernandes, G. y Mendoza, L. (2007). Cutaneous and meningeal sporotrichosis in a HIV patient. *Revista Iberoamericana de Micología*, 24 (2): 161-163
172. Villamarin, R; Porteiro, C; Dolinsky, D; Ramagli, A; Naviliat, M; Gezuele, E. et al. (2000). Esporotricosis articular. *23 Congreso Uruguayo de Reumatología. 12-15 de octubre de 2000, Montevideo*. Recuperado de: <http://www.reumauruguay.org/articulo2.htm>.
173. Virmond, M; Robert, A; Brito, P. y Massuda, T. (2016). Fenotipagem forense pelo DNA a través de SNPs. *Revista Brasileira de Criminología*, 5 (2): 37-47
174. Xavier, M; Bittencourt, L; da Silva, C; Vieira, R. y Pereira, H. (2013). Atypical presentation of sporotrichosis: Report of three cases. *Revista de la Sociedad Brasileña de Medicina Tropical*, 46 (1): 116–118.
175. Yegneswaran, P; Sripathi, H; Bairy, I; Lonikar, V; Rao, R. y Prabhu, S. (2009). Zoonotic sporotrichosis of lymphocutaneous type in a man acquired from a domesticated feline source: report of a first case in southern Karnataka, India. *International Journal of Dermatology*, 48 (11): 1198-1200

176. Zeppone, I; Fernanda, M; Bridon, D; Campos, M. y Cardoso, D. (2009). Current Research on the Immune Response to Experimental Sporotrichosis. *Mycopathologia*, 168 (1): 1-10
177. Zhang, Y. *et al.* (2015). Phylogeography and evolutionary patterns in *S.* spanning more than 14 000 human and animal case reports. *Persoonia*, 35: 1-20.
178. Zhang, Z; Xiaoming, L; Xuelian, L. y Jingrong, L. (2011). Variation in Genotype and Higher Virulence of a Strain of *S. schenckii* Causing Disseminated Cutaneous Sporotrichosis. *Mycopathologia*, (172): 439–446