

EL USO DE ANTICUERPOS FLUORESCENTES
EN EL ESTUDIO DE ALGUNAS
ENFERMEDADES INFECCIOSAS

II

DIAGNOSTICO RAPIDO DE LA ESPOROTRICOSIS*

DR. ANTONIO GONZÁLEZ OCHOA
DR. W. KAPLAN **

EN DICIEMBRE del año pasado, Kaplan y el que habla presentaron una nota en el Congreso Nacional de Microbiología,*** sobre "Aplicación de la Técnica de Anticuerpos Fluorescentes en el Diagnóstico Rápido de la Esporotricosis. El material presentado en esa comunicación es el que ahora nos sirve de base para ilustrar el alcance que tiene el método de los anticuerpos fluorescentes en el diagnóstico de la esporotricosis.

La esporotricosis es una de las micosis más importantes para el país debido a su frecuencia, y siendo un padecimiento para el que existe un tratamiento específico, económico, carente de toxicidad y de fácil manejo, es imperdonable que multitud de casos pasen sin diagnosticarse. Se trata de una infección crónica, granulomatosa, causada por el *Sporotrichum Schenckii*, hongo que, a excepción de los muy raros casos pulmonares primitivos, siempre penetra por el tegumento. En el sitio de penetración origina una lesión papulosa, y del futuro que tenga el hongo en esa lesión dependen los tres tipos en que es posible incluir todos los casos de esporotricosis tegumentaria.¹ Cuando el hongo, a partir de la lesión inicial, se disemina por vía linfática, origina el *tipo linfangítico*; cuando no existe diseminación, sino que el hongo permanece en el sitio mismo de la entrada, y sólo existe

* Trabajo presentado en la sesión ordinaria del 3 de abril de 1963.

** Mycology Unit, Mycology and Parasitology Section, C. D. C. Atlanta, Ga. U.S.A.

*** IV Congreso Nacional de Microbiología. 3-7 de diciembre, 1962. Monterrey, N. L.

un agrandamiento y un cambio morfológico de la lesión inicial, se produce el *tipo fijo*; y finalmente, cuando la diseminación se hace por vía sanguínea se origina el *tipo hematógeno*. En los tipos de diseminación el elemento patológico es un nódulo que se reblandece y ulcerar; en el tipo fijo se presentan diversas formas clínicas.

El tipo linfangítico produce dos formas clínicas definidas dependientes del sector anatómico donde asienta la infección; en las extremidades, preferentemente en las superiores, es donde se ve con mayor frecuencia la esporotricosis, dando lugar al cuadro clínico más conocido, debido a que los nódulos ascienden de la lesión inicial hacia los ganglios tributarios, y dado que los linfáticos siguen líneas paralelas a la longitud de las extremidades los nódulos también se disponen en esa forma, lo cual se connota como la forma clínica *gomosa ascendente de extremidades*. Cuando los nódulos, de este mismo tipo linfangítico, asientan en otras regiones, su disposición sigue esquemas variables debido al entrecruzamiento anatómico de los linfáticos, por consiguiente se establece una segunda forma clínica denominada *gomosa de otras regiones*.

En el tipo fijo la lesión inicial aumenta de dimensión y cambia de morfología adoptando diversas formas clínicas, siendo las más frecuentes la *ulcerosa* y la *verrucosa*.

Cuando la diseminación se hace por vía sanguínea los nódulos aparecen repartidos en forma desordenada por el tegumento, existiendo a la vez nódulos profundos o viscerales, constituyendo la forma clínica *gomosa diseminada*.

La secuela seguida para el diagnóstico de laboratorio en un padecimiento por hongos en general, consiste en: el examen microscópico del producto patológico, el cultivo del mismo, la histopatología del tejido enfermo, las reacciones serológicas y la prueba cutánea; pero estos distintos pasos tienen diferente utilidad en los diversos padecimientos. En tratándose de esporotricosis el examen microscópico del producto patológico y la histopatología no aportan utilidad debido al pleomorfismo que adopta *S. Schenkii* en las lesiones, el que pasa confundido con restos nucleares; el aislamiento del hongo por cultivo es el procedimiento de elección, pero implica alrededor de una semana para obtener el resultado; los anticuerpos circulantes: precipitinas y fijadores del complemento, no son constantes, y en cuanto a la prueba cutánea, cuyos resultados se obtienen a las 48 horas, es un recurso sencillo y sumamente útil debido a la gran especificidad del antígeno usado.²

Dada la relativa dilación que implica el diagnóstico por cultivo, y las posibilidades, muy raras, de casos anérgicos o de falsas pruebas cutáneas positivas, se justifica la investigación de otros procedimientos diagnósticos. Trabajos previos de uno de nosotros (Kaplan³) demostraron que los anticuerpos de *S. Schenkii* marcados con isotiocianato de fluoresceína tiñeron brillantemente los elementos levaduriforme y micelial de ocho cepas de *S. Schenkii*, y, por el contrario, no reaccionaron con hongos heterólogos, lo que permitió a Kaplan visualizar los ele-

mentos del hongo en los frotis de exudados de lesiones de esporotricosis animal experimental, y en tres casos humanos. Tomando en cuenta estos resultados se emprendió un estudio sistematizado en casos humanos de esporotricosis, comparando los resultados de la microscopía fluorescente, por el método directo, con los del cultivo.

Se prepararon frotis con exudados de 34 casos humanos clínicamente sospechosos o confirmados de esporotricosis. Diecisiete de estos casos fueron enfermos mexicanos, y diecisiete residentes en los Estados Unidos. Una vez practicado el frotis del exudado sobre un área de 1 a 2 cm. se dejó secar al aire, y después se fijó por calor. El número de frotis fue de dos o más, dependiendo de la cantidad del exudado disponible. Las preparaciones se marcaron y observaron con las técnicas convencionales, acusando los siguientes resultados.

En el cuadro siguiente se compara la eficacia de la técnica de anticuerpos fluorescentes con el procedimiento del cultivo, para demostrar la presencia de *S. Schenckii* en el material clínico de los treinta y cuatro casos mencionados. De es-

Resultados del cultivo	Resultados de los anticuerpos fluorescentes		Totales
	AF positivo	AF negativo	
Cultivo positivo	24	3	27
Cultivo negativo	1	6	7
TOTALES	25	9	34

tos treinta y cuatro casos, en veintisiete el cultivo permitió el aislamiento del hongo, correspondiendo uno de estos casos a esporotricosis pulmonar primitiva y el resto a esporotricosis tegumentaria. El procedimiento de los anticuerpos fluorescentes mostró elementos de *S. Schenckii* en veinticuatro casos, o sea el 89% de los veintisiete enfermos positivos al cultivo; en los tres restantes, 11%, el procedimiento fue negativo. Por otra parte, uno de los casos, negativo al cultivo, fue positivo al procedimiento de los anticuerpos fluorescentes. Aunque la mayoría de las células de *S. Schenckii*, que adoptan una morfología arredondada o en bastón fueron escasas, (Figs. 1 y 2), éstas pudieron visualizarse sin dificultad, mostrando una fluorescencia brillante que contrasta marcadamente con el fondo oscuro, y con la autofluorescencia gris azulosa de los otros elementos del frotis. En la mitad de los casos fue necesario examinar dos o más frotis antes de encontrar los microorganismos, pero es de aclarar que tampoco se obtuvo desarrollo de *S. Schenckii* en cada uno de los tubos sembrados con el exudado de casos positivos al cultivo.

El caso negativo al cultivo, pero positivo al procedimiento de los anticuerpos fluorescentes, acusó prueba cutánea positiva a la esporotricina. Seis de los siete casos negativos al cultivo también lo fueron al procedimiento de los anticuerpos

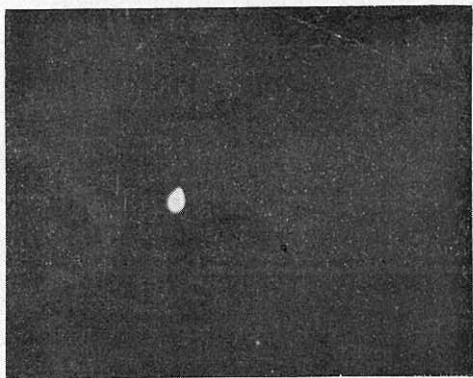


FIGURA 1



FIGURA 2

fluorescentes. Ninguno de los frotis tratados con globulinas normales marcadas acusó elementos fluorescentes de *S. Schenckii*.

RESUMEN Y DISCUSIÓN

La necesidad de establecer el diagnóstico de la esporotricosis, por cualquiera de los procedimientos disponibles, radica en la frecuencia del padecimiento en México, y en el hecho de tener un tratamiento específico. Los AA, después de exponer los tipos y formas clínicas que adopta esta micosis, presentan los resultados de la técnica de anticuerpos fluorescentes en frotis de los exudados de 34 casos de esporotricosis, de los cuales uno correspondió a localización pulmonar, y el resto a esporotricosis tegumentaria. De 27 casos en los que el cultivo desarrolló *S. Schenckii*, la técnica de anticuerpos fluorescentes permitió la visualización de los elementos del hongo en 24 de ellos, o sea el 89%, siendo de particular interés que uno de los casos negativos al cultivo acusó positividad a la técnica de anticuerpos fluorescentes, y en este caso la prueba cutánea con esporotricina también resultó positiva.

La ventaja de esa técnica sobre la de cultivo consistiría en su rapidez, puesto que la operación de teñido y visualización puede llevarse a cabo en menos de dos horas, mientras que el aislamiento del hongo implica una semana, lo cual sería una ventaja, si bien reconocemos que muy relativa. Tal vez en la posibilidad de descubrir elementos no viables radicaría el valor del procedimiento, pero este aspecto necesitaría de más observaciones para poder afirmarse. De cualquier manera la técnica de anticuerpos fluorescentes es un recurso más para el diagnóstico de la esporotricosis.

REFERENCIAS

1. González Ochoa, A. "Sporotrichosis". Handbook of Trop. Dermat. Simmons, Elsevier, Amsterdam, 1953.
2. González Ochoa, A., y E. Soto Figueroa. "Polisacáridos del *Sporotrichum Schenckii*". Datos inmunológicos. Intradermoreacción en el diagnóstico de la esporotricosis. Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop. México, 8:143-153, 1947.
3. Kaplan, W., M. S. Ivens. "Fluorescent Antibody Staining of *Sporotrichum Schenckii* in Cultures and Clinical Materials." J. Invest. Dermatol., 35:151-159. 1960.