

La Esporotricina

(La actividad de la Esporotricina con relación al tiempo de incubación del cultivo.)

Carlos Cuadra Ramírez*

Patricia Barrantes Molina**

Se obtienen tres cepas diferentes de *Sporotrichum schenckii* de origen humano, luego a partir de la fase micelial se inoculan seis botellas con medio de asparagina y se mantienen a temperatura de laboratorio, 25 más o menos 3°C durante seis meses. Con el objeto de estudiar la influencia del tiempo de incubación en la actividad del antígeno para poner de manifiesto la hipersensibilidad cutánea en esta micosis, se obtienen filtrados de los cultivos con intervalos de cuatro semanas cada uno. Se sensibilizan conejos, usando como inóculo la fase micelial sin inactivar de este hongo por vía intraperitoneal. La actividad de los filtrados se determinó inoculando 0.1 cc por vía intradérmica y el estudio químico de los mismos mostró un aumento en la concentración de proteínas y una disminución en la de los carbohidratos en relación con el tiempo de incubación del cultivo. Las reacciones intradérmicas que produjeron los mayores diámetros de eritema (18-24 mm) con lectura a las 48 horas, fueron en las que se usó como antígeno los filtrados de dos meses. A partir de este tiempo de incubación la reacción fue cada vez menos pronunciada hasta llegar a ser inaparente en cultivos con seis meses de edad. Se destaca el hecho de la correlación entre el tiempo de incubación y la desaparición de los carbohidratos del medio de cultivo y el diámetro del eritema.

MATERIAL Y METODOS:

A partir de tres cepas de *Sporotrichum schenckii* obtenida de casos humanos y cultivados en medio de Sabourand, se preparó la esporotricina. Del medio de Sabourand, se cultivaron en Asparagina. El medio de Asparagina se distribuyó en botellas de 16 onzas,

* Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Hospital San Juan de Dios.

** Laboratorio Clínico, Hospital San Vicente de Paul, Heredia, C.C.S.S.

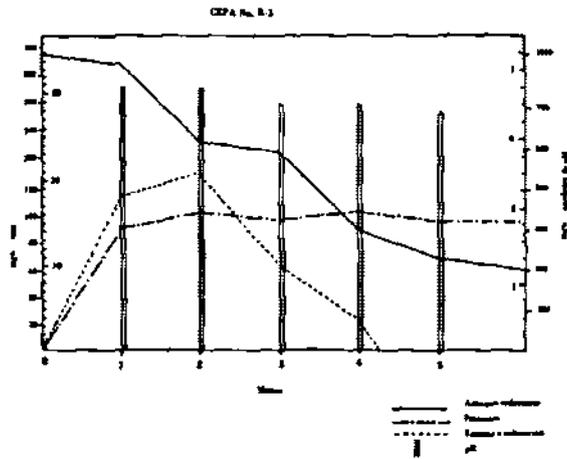
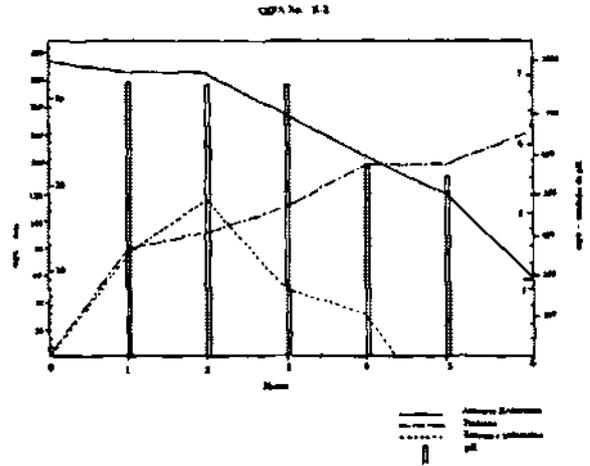
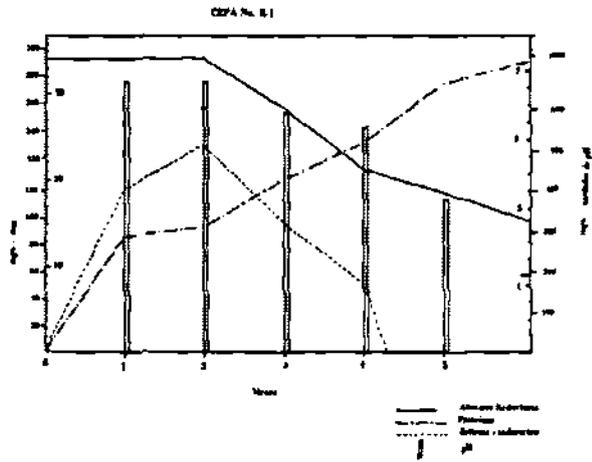
autoclavándose a 121°C por 30 minutos y manteniéndose a temperatura ambiente por una semana para probar la esterilidad del mismo. Se inocularon las cepas de *Sporotrichum*, el cual previamente se pasó del Sabourand a un tubo con solución salina estéril, lavándose tres veces. Se trató que el inóculo tuviera cantidades semejantes de partículas viables; por recuento aproximado de ellas. Se conservaron tres botellas sin inóculo, como control negativo para la prueba. Los frascos inoculados se incubaron a 25°C más o menos 3°C, manteniéndose en condiciones tales, para evitar la evaporación del medio en el período de incubación. A intervalos de cuatro semanas y durante seis meses, uno de los frascos fue seleccionado para preparación de la muestra de trabajo. Para destruir el hongo se adicionó una solución de merthiolate a una concentración de 1:10.000 por 48 horas a 4°C. Luego, se eliminó el micelio por medio de un filtro Seitz. El líquido obtenido se guardó a 4°C, procediéndose al día siguiente a refiltrar y luego se puso el antígeno en un erlenmeyer estéril, en alícuotas de 100 ml y se congeló hasta el momento de su uso.

SENSIBILIZACION DE ANIMALES:

Se utilizaron once conejos de 500 a 900 gramos, realizándose previamente una prueba de sensibilidad a la esporotricina. Para la sensibilización de los animales, se inoculó el hongo en su fase micelial en cantidades crecientes desde 0.5 cc a 4 cc por vía intraperitoneal y durante cuatro semanas, utilizándose tres conejos por cepa de hongo y dejando dos como control.

PROCEDIMIENTO PARA LA PRUEBA INTRADERMICA:

La potencia de la esporotricina preparada y diluida 1:100, se probó por medio de inyeccio-



RELACIONES ANTIGENICAS DE 3 CEPAS DE SPOROTRICHUM SCHENCKII

Antisero	ANTIGENO			
	Cepa 1	Cepa 2	Cepa 3	Cepa 1 Mic.
Cepa No. 1	1280	80	80	360
Cepa No. 2	80	1280	80	
Cepa No. 3	160	160	640	
Cepa No. 1 Micelial	560			620

Se llevó a cabo pruebas de aglutinación con cepas de *Blastomyces dermatitidis*, *Candida albicans* y tres tipos de *Dermatofitos* dando negativos los resultados.

Antisero	Adsorbido con:	ANTIGENOS		
		No. 1	No. 2	No. 3
anti 1	Ag 1	-	-	-
anti 1	Ag 2	10	-	-
anti 2	Ag 2	-	-	-
anti 2	Ag 1	-	20	-
anti 3	Ag 3	-	-	-
anti 3	Ag 2	-	-	10
anti 3	Ag 1	-	-	10

Todas las cepas en fase Levaduriforme.

nes intradérmicas de 0.1 cc de cada cepa y en un sitio previamente establecido tanto en los animales de prueba como en los de control. Para cada diferente edad de la cepa, se utilizó un sitio en el lugar de la inoculación, hasta completar las seis diferentes etapas de tiempo del hongo. A su vez, en la parte inmediatamente inferior se estudiaron las reacciones de las otras dos cepas en su diferente tiempo de incubación obteniéndose así, que cada cepa se probara en nueve diferentes animales. El eritema e induración que se produjo fue medido 48 horas después de la inoculación, esta lectura fue hecha en línea perpendicular a la línea de inoculación de las cepas. Todas las lecturas fueron realizadas por una misma persona por tres veces consecutivas.

DETERMINACION QUIMICA:

Se determinó la concentración de proteínas y azúcares reductores de la esporotricina preparada. En el primer caso se usó el método de Lowry (1951) y en el segundo el método de Somogyi (1945). En ambos casos se usó la esporotricina concentrada. Como última determinación en el antígeno preparado se realizó una medida en la variación de pH del mismo por el método potenciométrico, empleando un peachimetro Coleman.

RESUMEN:

Se estudia la actividad de la Esporotricina con relación al tiempo de incubación de *Sporotrichum schenckii*, que se obtuvo de cepas provenientes de casos humanos. Cultivados en medio de Sabourand y luego en Asparagina, se incubaron durante seis meses y a intervalos de cuatro semanas, se seleccionó un frasco para muestra de trabajo. Se destruyó el hongo, se filtró y obtenido el antígeno, se congeló. Se sensibilizaron conejos con *Sporotrichum schenckii* y luego se inoculó el antígeno en sus diferentes etapas por vía intradérmica. Se realizaron estudios químicos, en relación a la concentración proteica y azúcares. También se

determinó la variación del pH. Se produjeron mayores reacciones intradérmicas con el antígeno obtenido de filtrados, incubados por dos meses. Se destacó el hecho de la relación en el tiempo de incubación y la desaparición de carbohidratos y el diámetro del eritema.

BIBLIOGRAFIA

1. Bartnicki-García: Cell Wall Chemistry, Morphogenesis, and Taxonomy of Fungi. Annual Review of Microbiology. Vol. 22, 1968, pág. 87.106.
2. Bierre, Claude de: Sur la composition protéique des phases levaduriformes et filamenteuses de *Sporotrichum schenckii* etudice par electrophorese on gel d'acrylamide. C.R. Acad. Sc Paris, T. 265, p. 537-539 (Agosto, 1967).
3. H.S., Nielsen, Jr.: Biologic properties of skin test Antigens of yeast from *Sporotrichum schenckii*. Journal of infection diseases. April 1968, Vol. 118, pág. 173-180.
4. Maekelt, G.A.: Estudios sobre la relación de Antígenos de *Histoplasma capsulatum* y de *Paracoccidioides brasiliensis* para el diagnóstico de esta micosis. Archivos venezolanos de Medicina Tropical y Parasitología Médica, Vol. III, Dic. 1960, No. 2, pp. 149-160.
5. Sprouse, Ronald F.: Purification of Histoplasma, purified derivative. American Review of Respiratory Disease, Vol. 100, 1969, pp. 685-690.
6. Walker, Jinks E. and Gerald P. Price Jr. Chemical, Venerological, and Dermal Hypersensitivity activities of two Fractions of Histoplasma. American Review of Respiratory Disease, Vol. 98, 1968, pp. 474-479.