

ESPOROTRICOSIS

ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS ANTIGENOS MICELIAR Y LEVADURA DE *S. SCHENCKII* MEDIANTE PRUEBAS CUTANEAS

H. VELEZ, L. SANTAMARIA, G. GUZMAN, M. ESCOBAR, R. GIRALDO, J. GOMEZ

Se estudian 952 individuos mediante pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada para esporotricosis.

Se incluyen 78 pacientes con dicha entidad, 82 con micosis distintas de esporotricosis, 100 con dermatosis no micóticas, 23 con sospecha de leishmaniasis, 150 estudiantes sanos de la Facultad de Medicina y 519 individuos asintomáticos de diferentes zonas geográficas de los departamentos de Antioquia y Bolívar; se hace una comparación entre 2 antígenos metabólicos de *U. schenckii*, a saber: miceliar y levadura: los resultados demuestran el valor diagnóstico de las pruebas cutáneas en esporotricosis. su sensibilidad que supera la del cultivo y su alta especificidad.

INTRODUCCION

La utilización de extractos antigénicos del hongo *Sporotrix schenckii* en pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada (esporotriquina), como ayuda diagnóstica en esporotricosis, ha sido investigada desde principios del siglo.

En 1909, Bloch, citado por González (1) ensayó una suspensión de conidias de *S. Schenckii* como extracto antigénico para pruebas cutáneas (antígeno miceliar); sin embargo, en 1954, Padilla y colaboradores (2) con un antígeno celular miceliar, demostraron reacciones cruzadas en 58% de pacientes con otras micosis y en 37% de los que tenían diferentes dermatosis. Este método, como otros ensaya-

dqs por la misma época, fue abandonado por su escasa especificidad.

En 1947, González y Soto (1) obtuvieron de cultivos del hongo en fase miceliar una fracción antigénica de naturaleza polisacárida, de alta especificidad y sensibilidad. En 1950, Neves (3) investigó un preparado antigénico de la fase levadura. Con este antígeno celular levaduriforme, Pereira (4, 5), Da Silva (6) y Wensdorfer (7) en 1962 y 1963 detectaron la presencia de reactores cutáneos en un 6% a 40% de personas que no habían sufrido la enfermedad; no encontraron reactores entre individuos asintomáticos en Alemania y Portugal, países en los cuales nunca, o sólo ocasionalmente (Portugal), se habían diagnosticado casos autóctonos; por lo anterior plantearon la posibilidad de infecciones asintomáticas.

Nielsen (8) en 1968 concluyó que el potencial antigénico para pruebas cutáneas, de preparados de la fase levadura del *S. Schenckii* era similar independientemente de si se los obtenía de la levadura completa, o sólo de su pared. Las características estructurales e inmunológicas del antígeno de levadura fueron descritas por Kenneth (9) en 1971. Se trata de un complejo péptido-ramnosa-manosa, altamente sensible y específico.

González y colaboradores (10) realizaron, mediante pruebas cutáneas, un estudio comparativo de los antígenos miceliar (metabólico) y levadura (células íntegras) en diferentes grupos humanos; encontraron que todos los pacientes con esporotricosis activa eran positivos con ambos antígenos y que era más apreciable la respuesta inflamatoria con el miceliar. El 11 % de los pacientes con enfermedad comprobada, tratada y curada, habían negativizado sus pruebas con el antígeno levadura a los dos años; en cambio con el miceliar la tasa de negativización ascendió al 50% en el mismo

Dra. Herta Vélez A., Dra. Lucía Santamaría, Dra. Gisela Guzmán y Dra. Martha L. Escobar: Profesoras, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín; Dr. Roberto Giraldo: Médico Internista, Magangué, Bolívar; Dr. Jorge M. Gómez: Médico General, Servicio Seccional de Salud de Antioquia.

Solicitud de separatas a la Dra. Vélez.

período. Por lo anterior, el antígeno levadura resultaría ventajoso en la detección de zonas endémicas y reconocimiento de casos asintomáticos y el miceliar sería más adecuado para el seguimiento y pronóstico de la enfermedad. Por último, demostraron mayor frecuencia de reacciones cruzadas (25.8%) al utilizar antígeno levadura en pacientes con dermatosis no micóticas, sin antecedentes de exposición al microorganismo, frente a un 5% con el miceliar.

En 1964 Schneidau (11), en Louisiana (EUA) utilizando un antígeno metabólico de la fase levadura, demostró un 11.2% de reactores en pacientes de salas hospitalarias y en presidiarios, así como un 32% de positividad en empleados de viveros.

Es importante anotar que en la literatura médica colombiana sólo se encontró el informe de Rocha sobre evaluación de pruebas cutáneas en esporotricosis (12); este autor halló un 91.4% de positividad y un 100% de especificidad en pacientes con enfermedad comprobada por cultivos.

Los hallazgos anteriores permiten concluir que la prueba cutánea se puede comportar en forma diferente dependiendo de los grupos humanos, del lugar de residencia, de la fase del hongo con que se prepare el antígeno y de las cepas utilizadas para ello.

En este trabajo se ensayaron dos antígenos metabólicos preparados con cepas autóctonas de *S. Schenckii* en fases diferentes, a saber: miceliar (polisacárido de González Ochoa) y levadura (según Schneidau); el ensayo se hizo con miras a definir la utilidad de cada uno de los preparados como criterio único para el diagnóstico de laboratorio de esporotricosis y determinar la prevalencia de reactividad en zonas consideradas endémicas.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 952 personas divididas en 6 grupos a saber:

- a) 78 individuos con esporotricosis comprobada cuyos aspectos clínicos son objeto de publicación separada (13).
- b) 519 individuos asintomáticos de diferentes zonas del Departamento de Antioquia y

una del de Bolívar; este grupo estuvo conformado por cuatro subgrupos, así: dos procedentes de zonas rurales del oriente antioqueño del cual, con frecuencia, son remitidos a este laboratorio individuos con esporotricosis; el tercero constituido por trabajadores de un vivero ubicado también en el oriente antioqueño y que fueron incluidos con base en su ocupación; el último lo formaron personas de la zona rural de Magangué en el Departamento de Bolívar, donde la esporotricosis se observa muy infrecuentemente.

- c) 82 pacientes con enfermedades micóticas diferentes de esporotricosis. De ellos 65 tenían micosis superficiales (dermatofitosis, candidiasis, pitiriasis), catorce presentaban micosis intermedias (cromomicosis, rinosporidiosis, phaeomicosis y ficomicosis) y tres sufrían micosis profundas (criptococosis, paracoccidioidomicosis y ficomicosis pulmonar).
- d) 100 pacientes con dermatosis no micóticas.
- e) 23 individuos con diagnóstico clínico de leishmaniasis.
- f) 150 estudiantes de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia, aparentemente sanos, como controles presumiblemente no expuestos al microorganismo.

A los 952 individuos se les aplicó prueba cutánea con dos antígenos, a saber: uno preparado a partir de la fase miceliar del hongo según la técnica de González y Soto (1) y otro obtenido de la fase levadura según el método de Schneidau (11). Al igual que en el trabajo de González, la solución madre de los antígenos tuvo una concentración del 1% (peso/volumen). Los antígenos fueron extractos metabólicos de mezclas de los caldos de cultivo en los cuales habían crecido las cuatro cepas autóctonas de *S. Schenckii*. Su actividad biológica se comparó y estandarizó frente a los antígenos de González y Schneidau por medio de pruebas cutáneas en pacientes conocidos. Se halló que la dilución 1:10.000 era adecuada para los propósitos de este trabajo.

Las pruebas se aplicaron intradérmicamente con jeringas de tuberculina, en la cara anterior del antebrazo izquierdo. La dosis fue de 0.1 ml. El antígeno miceliar se colocó en la unión del tercio superior con el medio y el levadura en la del tercio medio con el inferior.

La lectura se hizo a las 24 y 48 horas; se aceptó como positividad la induración de cinco o más milímetros de diámetro; no se tuvo en cuenta el eritema.

Con el objeto de evaluar la tasa de negativización de la reactividad frente a los dos antígenos se hicieron pruebas de control a los 6, 12 y 24 meses, esto en 17 pacientes ya que los demás no acudieron durante ese lapso de seguimiento.

RESULTADOS

Pacientes con esporotricosis

El análisis de la Tabla 1 muestra que el 88.5% de los pacientes tuvieron positivo el cultivo (categorías I y II) y el 92.3% la prueba cutánea (categorías I y III); también se observa que hubo casos con cultivo positivo y prueba cutánea negativa o viceversa; ningún paciente fue negativo en ambos exámenes; para propósitos de esta tabulación se aceptó como prueba positiva la obtenida con cualquiera de los dos antígenos y en cualquiera de los dos momentos de lectura.

Tabla 1. Resultados del cultivo y las pruebas cutáneas en 78 pacientes con esporotricosis.

Categorías	Cultivo	Pruebas cutáneas	No.	%
I	+	+	63	80.8
II	+	-	6	7.7
III	-	+	9	11.5
Total			78	100.0

En las Tablas 2 y 3 se pueden apreciar los porcentajes de pacientes positivos frente a cada uno de los antígenos y en cada uno de los momentos de lectura. La máxima tasa de positividad (78.2%) se obtuvo con el antígeno levadura leído a las 48 horas. No hubo dife-

Tabla 2. Reactividad cutánea según el momento de la lectura, frente al antígeno levadura de *S. Schenckii* en 78 pacientes de esporotricosis.

Momento en que se detectó la reactividad	No. de pacientes	%
A las 24 horas solamente	4	5.1
A las 48 horas solamente	9	11.5
A las 24 y 48 horas	52	66.7
Subtotal positivos a las 48 horas	61	78.2
Negativos en ambas lecturas	13	16.7
TOTAL	78	100.0

Tabla 3. Reactividad cutánea según el momento de la lectura, frente al antígeno miceliar de *S. Schenckii* en 78 pacientes de esporotricosis.

Positividad	No. de pacientes	%
A las 24 horas solamente	5	6.4
A las 48 horas solamente	17	21.8
A las 24 y 48 horas	38	48.7
Subtotal positivos a las 48 horas	55	70.5
Negativos en ambas lecturas	18	23.1
TOTAL	78	100.0

rencias significativas entre los dos antígenos ni entre los dos momentos de lectura.

En la Tabla 4 se aprecia que el 100% de las mujeres y sólo 75% de los hombres reaccionaron al antígeno levadura y tal diferencia fue significativa ($p: 0.005$); con el antígeno miceliar se obtuvo un porcentaje menor de positividad y no hubo diferencia significativa según el sexo. Tampoco la hubo entre uno y otro antígeno en ninguno de los sexos.

De los 78 pacientes de esporotricosis, 17 regresaron a controles de pruebas cutáneas hasta 2 años después de su estudio inicial. Se notó que la negativización de la reactividad frente al antígeno miceliar alcanzaba un 35% a los seis meses y sólo se incrementaba ligeramente en el semestre siguiente (Tabla 5); en el segundo año no se produjo incremento adicio-

Tabla 4. Reactividad cutánea según el sexo frente a antígenos de *S. Schenckii* en 78 pacientes de esporotricosis.

Sexo	ANTIGENO			
	Levadura		Micelio	
	Positivos / Total	% positivos	Positivos / Total	% positivos
Masculino	39 / 52	75.0	35 / 52	67.3
Femenino	26 / 26	100.0*	16 / 26	61.5
TOTAL	65 / 78	83.3	51 / 78	65.4

* p = 0.005.

Tabla 5. Negativización de la reactividad cutánea frente a antígeno de *S. Schenckii* en 17 casos curados de esporotricosis de acuerdo con el lapso postratamiento.

Tiempo después de la curación	Pacientes negativizados			
	Miceliar	%	Levadura	%
6 meses	6	35.3	—	
1 año	8	47.1	—	
2 años	8	47.1	3	17.6

nal; frente al antígeno levadura no hubo negativización en el primer año y sólo alcanzó un 17.6% al final del segundo.

Individuos asintomáticos

La reactividad en los grupos de personas asintomáticas del oriente antioqueño y del municipio de Magangué estuvo alrededor del 6%; la única excepción fue el grupo del Carmen de Viboral en el cual hubo 10% de reactivos pero tal diferencia no fue significativa.

Del total de 39 reactivos, 20 lo fueron sólo al antígeno levadura y 12 también al miceliar. Aunque el número de personas es bajo cabe destacar que en el grupo de Magangué sólo hubo reactivos frente al antígeno levadura.

La reactividad frente a los dos antígenos estudiados se pudo detectar a las 24 horas en 33 de los 39 reactivos (84.6%) persistiendo a las 48 horas en 19 (48.7%). 6 reacciones sólo se pudieron detectar a las 48 horas (15.4%).

No se encontró diferencia significativa.

En el grupo total de 519 individuos asintomáticos la proporción de hombres fue de 59.5% y en la subpoblación de los 39 reactivos fue de 79.5 % siendo la diferencia significativa (p = 0.01).

Otros grupos

En 5 de los 23 individuos con sospecha de leishmaniasis se comprobó el diagnóstico por exámenes directos, cultivos o pruebas cutáneas; estas personas, así como las 18 restantes, fueron negativas en las pruebas cutáneas con antígenos de *S. Schenckii*.

No hubo reacciones positivas en los controles sanos ni en pacientes con otras micosis o con dermatosis no micóticas.

Diámetro de la induración

En la Tabla 7 se aprecian los promedios de induración de las pruebas cutáneas (en mm de

Tabla 7. Diámetro promedio de la induración frente a antígenos de *S. Schenckii* en 72 pacientes de esporotricosis y 39 reactivos asintomáticos.

Antígenos	Milímetros de induración			
	24 horas		48 horas	
	Pacientes	Asintomáticos	Pacientes	Asintomáticos
Miceliar	16.5	11.3	16.7	16.5
Levadura	16.3	11.6	20.2	15.5

diámetro), de 69 pacientes y 39 reactores asintomáticos; ninguna de las diferencias observadas (entre pacientes y reactores asintomáticos; entre antígenos miceliar y levadura; entre las lecturas a las 24 y 48 horas) fue significativa.

DISCUSION

Sólo en México y Colombia se han informado estudios con el antígeno polisacárido de *S. Schenckii*; González y Soto en 1947 (1), utilizando antígeno diluido al 1:1.000 y lectura a las 24 horas, detectaron 94.4% de positividad en 18 pacientes. El único negativo tenía una esporotricosis diseminada. En 1970, González y colaboradores (10), en 20 casos de esporotricosis cutánea, encontraron un 100% de positividad; no es clara, en esta publicación, la dilución del antígeno utilizado.

Rocha (12), en Colombia, en 1970 estudió 25 pacientes con esporotricosis cutánea confirmada por cultivo; informó 20 positivos (80' + con el antígeno polisacárido a una dilución del 1:4.000 haciendo lectura única a las 48 horas. Velásquez y colaboradores (15) con un antígeno similar al de Schneidau, hallaron una tasa de reactores del 90% en 103 pacientes con cultivo positivo para *S. Schenckii*.

En el presente trabajo la positividad global de las pruebas cutáneas fue de 92.3%, que concuerda con la hallada por los autores men-

cionados pese al empleo de diluciones diferentes de los antígenos.

De nuestros resultados puede concluirse que es conveniente hacer la lectura de las pruebas cutáneas tanto a las 24 como a las 48 horas porque ello permite detectar la mayor proporción de casos positivos.

A la luz de los estudios aludidos y del actual la sensibilidad de las pruebas cutáneas en esporotricosis supera."en general, el 90%; desde este punto de vista son muy útiles para confirmar la presunción clínica de la enfermedad; tal afirmación tiene más asidero si se tiene en cuenta que la especificidad, demostrada en el presente trabajo, fue del 100%.

Estudios epidemiológicos con antígenos polisacáridos de *S. Schenckii* sólo han sido publicados por autores mexicanos (10, 16); Alvarado (16) en 552 escolares y campesinos de Valle Hermosos (México), área endémica para esporotricosis, encontró 0.7% de reactores cutáneos asintomáticos. Bravo, citado por González (10), en 1.718 individuos del Estado de Colima (México) encontró sólo 0.05% reactores. Nuestro estudio, con un antígeno polisacárido, está en armonía con los anteriores hallazgos ya que se obtuvo el 1.7% de reactores en el Carmen de Viboral, el 2.2% en Piedras Blancas y el 0.9% en el Peñol. Sin embargo, la frecuencia de reactores al antígeno levadura es mayor; por ello proponemos la utilización de

Tabla 6. Reactividad cutánea frente a dos antígenos de *S. Schenckii* en 4 grupos de individuos asintomáticos.

Procedencia	Reactividad frente a antígenos						Total	
	Miceliar solamente		Levadura solamente		Miceliar y levadura			
	No.	%	No.	%	No.	%	Positivos/ total	%
Peñol	1	0.9	5	4.5	1	0.9	7/112	6.3
Carmen de Viboral	3	1.7	6	3.3	9	5.0	18/181	10.0
Vivero Piedras Blancas	3	2.2	3	2.2	2	1.5	8/134	6.0
Magangué	0	0	6	6.5	0	0	6/92	6.5
TOTAL	7	1.3	20	3.9	12	2.3	39/519	7.5

ambos antígenos cuando se trate de hacer encuestas epidemiológicas.

Esperábamos una positividad más alta en los trabajadores del vivero Piedras Blancas ya que González y colaboradores (10) usando el antígeno polisacárido obtuvieron reactividades desde 58.9% hasta 90% en trabajadores que tienen contacto con la maleza denominada zacate, así como el 10% en cultivadores de forrajes; nuestro hallazgo sólo ascendió al 2.2% con el antígeno polisacárido; la diferencia podría residir en el tipo de vegetal que es manipulado; en el caso de Piedras Blancas se trata esencialmente de coníferas.

El hecho de que la proporción de hombres entre los reactores asintomáticos (79.5%) sea significativamente superior a la de los mismos en el grupo total (59.5%) es explicable a la luz de la mayor exposición del sexo masculino al ambiente, que es el habitat natural del hongo.

Hay experiencias en Estados Unidos (11, 17) y Perú (18) sobre el empleo del antígeno levadura del *S. Schenckii*; Schneidau (11) lo aplicó diluido al 1:250 a dos grupos de personas en el Estado de Louisiana (prisioneros y pacientes con otras enfermedades); la tasa de positividad fue del 11.2%; Geldres en el Perú (18) usando ese mismo antígeno diluido al 1:1.000, halló un 11.7% de reactividad en un área endémica y ninguna persona reactiva en una zona no endémica. En nuestro estudio la proporción de reactores frente al antígeno levadura en habitantes asintomáticos de diversas zonas fue del 4.5%, o menos, en las del oriente antioqueño que son fuente frecuente de pacientes y del 6.5% en Magangué donde la enfermedad es rara (Tabla 6); no tenemos explicación para estos resultados pero puede plantearse la conveniencia de hacer futuros estudios de las mismas zonas utilizando concentraciones más altas del antígeno.

La negativización de la reactividad frente al antígeno miceliar concordó en nuestro estudio y en el de González (10), a saber: 43% y 50%, respectivamente, al final de los dos años de seguimiento. Por tanto este antígeno no parece apropiado para estudiar la prevalencia de la enfermedad; sería preferible para ello el antígeno levadura frente al cual sólo se ha negativizado el 17.6% de los reactores al cabo

de los dos años; el presente parece ser el primer informe de un seguimiento hecho con el antígeno metabólico levadura ya que Mayorga y colaboradores (19) emplearon un antígeno celular de levadura frente al cual la reactividad permanece de por vida.

La diferencia significativa entre hombres y mujeres en cuanto a la tasa de reactividad, puede explicarse por factores inmunológicos hormono dependientes (20-23).

Dada la baja frecuencia en nuestro medio de infecciones asintomáticas por *S. Schenckii*, puede concluirse la necesidad de clasificar y tratar como esporotricosis a las personas con cuadro clínico compatible y prueba cutánea positiva si no hay facilidades para realizar un cultivo o éste es negativo. Parece recomendable que en las Unidades de Salud se disponga de los antígenos metabólicos para aclarar los casos sospechosos sin necesidad de remitirlos a centros especializados; la lectura a las 24 y 48 horas garantiza una mayor sensibilidad diagnóstica; en este sentido la esporotricosis difiere de otras micosis porque las pruebas cutáneas no son sólo de utilidad epidemiológica sino que aportan también información valiosa para el manejo del individuo enfermo. Hay que hacer, sin embargo, consideraciones de índole práctica sobre el uso de 2 antígenos y dos momentos de lectura, porque ello implica dificultades tanto para el paciente como para la Unidad de Salud; de ahí que parezca importante estudiar la sensibilidad y especificidad de un solo antígeno a concentraciones más altas y leído únicamente a las 48 horas.

SUMMARY

Delayed type hypersensitivity against two metabolic antigens from *S. Schenckii* was studied in 952 individuals belonging to several groups, namely: 78 sporotrichosis patients; 82 suffering from non-mycotic dermatosis; 23 with possible leishmaniasis; 150 healthy medical students; 519 asymptomatic individuals from 4 different areas three of which are considered edemic for sporotrichosis. Results prove the diagnostic value of skin test in this disease, its sensitivity higher than that of the culture and its total specificity..

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen sinceramente a los doctores Fernando Montoya Maya y Federico Díaz González, por su valiosa ayuda en la revisión del manuscrito y a los doctores Félix Orlando Giraldo G. y Jorge Luis Sánchez Mupera por la consecución de las personas en áreas endémicas del Peñol y el Carmen de Viboral.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- GONZALEZ A, SOTO E. Polisacáridos del *S. Schenckii*. Rev Inst Sal Enf Trop 1947; 8: 143-153.
- 2.- PADILHA A, CARVALHO LP. Apreciacao do teste intradérmico com a esporotriquina. An Brasil Dermatol Sif 1954; 29: 103-112.
- 3.- NEVES N. Estudos com a fase bacilar de *S. Schenckii*. An Brasil Dermatol Sif 1950; 25: 131-144.
- 4.- PEREIRA AM, GONCALVES AP, LACAZ C da S, et al. Imunologia da esporotricose. I. A prova da esporotriquina após a cura da esporotricose. Rev Inst Med Trop S Paulo 1962; 4: 383-385.
- 5.- PEREIRA AM, GONCALVES AP, LACAZ C da S, et al. Imunologia da esporotricose. II. A prova da esporotriquina em crianças sem esporotricose. Rev Inst Med Trop S-Paulo 1962; 4: 386-388.
- 6.- SILVA MF, NEVES H, PEREIRA AM, et al. Imunologia da esporotricose. III. A prova da esporotriquina em Portugal, em pessoas sem esporotricose. Rev Inst Med Trop S Paulo 1963; 5: 12-14.
- 7.- WENSDORFER R, MAGALHAES A, PADILHA A, et al. Imunologia da esporotricose. IV. A prova da esporotriquina na Alemanha e no Brasil, em pessoas sem esporotricose. Rev Inst Med Trop S Paulo 1963; 5: 217-219.
- 8.- NIELSEN HS Jr. Biological properties of skin test antigen of yeast form of *S. Schenckii*. J Infect Dis 1968; 118: 173-180.
- 9.- KENNETH LL, BITTOON MA. Isolation and purification of a peptid ramnomannan from the yeast form of *S. Schenckii*. Structural and immunochemical study. J Immunol 1971; 107: 663-671.
- 10.- GONZALEZ A, RICOY E, VELASCO O, et al. Valoración comparativa de los antígenos polisacárido y celular de *S. Schenckii*. Rev Invest Sal Pub (Mex) 1970; 30: 303-315.
- 11.- SCHNEIDAU J, LAMAR LM, HAIRSTON MA. Cutaneous hypersensitivity to sporotrichin in Louisiana. JAMA 1964; 188: 371-373.
- 12.- ROCHA H. Prueba cutánea con esporotricina. Su sensibilidad y especificidad. Mycopath Mycol Appl 1968; 36: 42-54.
- 13.- VELEZ H, SANTAMARIA L, GUZMAN G, et al. Esporotricosis. Aspectos clínicos en 78 pacientes. Acta Med Col 1984; 9: 146-149.
- 14.- MARIAT F, LAVALLE P. Recherches sur la Sporotricose. Sabouradia 1962; 2: 56-64.
- 15.- VELASQUEZ JP, RESTREPO A, CALLE G. Experiencia de 12 años con la esporotricosis. Polimorfismo clínico de la entidad. Antioq Med 1976; 26: 153-169.
- 16.- ALVARADO J. Reactividad cutánea a PPD, esporotricina e histoplasmina en Valle Hermosos (Tesis). Tampus, México: Universidad Autónoma de México, 1959.
- 17.- INGRISH FM, SCHNEIDAU J. Cutaneous hypersensitivity to sporotrichin in Maricopa county. Arizona. J Invest Dermatol 1967; 49: 146-149.
- 18.- GELDRES J, MIRANDA H, GARCIA J, et al. Esporotricosis: determinación de un área endémica en el norte del Perú (Otuzco-LaLibertad). Mycopath Mycol Appl 1973; 51: 33-51.
- 19.- MAYORGA R, CACERES A, TORIELLO C, et al. Etude d'une zone d'endémie sporotrichosique au Guatemala. Sabouradia 1978; 16: 185-198.
- 20.- MONTOYA F, GARCIA LF. Effect of sex on delayed hypersensitivity responses in experimental mouse paracoccidioidomycosis. J Reticuloendothelial Soc 1979; 26: 467-478.
- 21.- GOBLE K, KONOPKA E. Sex as a factor in infectious disease. Trans NY Acad Sci 1973; 5: 325-328.
- 22.- KENNY F, PANGBURN PC, TRAIL G. Effect of estradiol on immune competence. *In vivo* and *in vitro* studies. Infect Immun 1976; 13: 448-452.
- 23.- NICOL F, BILBEY DL, CHARLES LM, et al. Oestrogen: The natural stimulant of body defense. J. Endocrinol 1964; 30: 277-280.