

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

ETIOLOGIA DE LAS DERMATOFITOSIS DE
PACIENTES QUE ACUDEN AL INSTITUTO
GUATEMALTECO DE SEGURIDAD SOCIAL



Informe de Tesis

Presentado por

ELEAZAR ANIBAL VENTURA MARTINEZ

Para optar al título de

QUIMICO BIOLOGO

MEMBRADO DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

GUATEMALA, ABRIL DE 1,996

10
101806
17

JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANO	LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR
SECRETARIA	LICDA: ANA LUCRECIA FORTUNY LEMUS DE ARMAS
VOCAL I	LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ
VOCAL II	LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	BR. ANA MARIA RODAS CARDONA
VOCAL V	BR. HAYRO OSWALDO GARCIA GARCIA

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

Gracias Señor por las bendiciones que me has dado, tu amor y tu misericordia.

A LA MEMORIA DE MI PADRE

ANITO VENTURA CISNEROS (Q.E.P.D.)
Por haber sido ejemplo de trabajo, que me enseñó a no apartarme del camino, a usted va dedicado este triunfo.

A MI MADRE

MARIA OLIMPIA MARTINEZ VIUDA DE VENTURA
Madre este triunfo es suyo, muchas gracias por su amor, comprensión y fortaleza.

A MI ESPOSA

OLGA GRISELDA CARDONA DE VENTURA
Con todo el amor que nos une, por su colaboración y apoyo.

A MI HIJA

KARLA LUCIA
Que sirva esto como ejemplo del inmenso amor que le tengo.

A MIS HERMANOS

AMELIA, ALBA, CARMEN, SARA, MARIO,
ADRIAN Y RUDY
Por el cariño que nos une.

A MIS SOBRINOS, CUNADAS (OS), TIAS (OS)

Por el cariño brindado.

AGRADECIMIENTO

A el Lic. Juan Carlos Quevedo Velásquez, por su asesoría, orientación y apoyo brindados para la realización de esta investigación.

A la Licda. Heidi Logemann Lima, por su paciencia y gran colaboración en la revisión de este trabajo.

A el Lic. Federico Nave, por su colaboración y asesoría en el diseño estadístico.

Al personal del Departamento de Microbiología, en especial a César Maas, Olga Escobar y Lucy Santos por su valiosa colaboración.

Y a aquellas personas, que con su participación, hicieron posible la realización de este trabajo.

INDICE

	Página
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCION.....	3
III. ANTECEDENTES.....	5
A. Definición.....	5
B. Caracterización.....	6
C. Descripción de algunos agentes etiológicos de dermatofitosis.....	7
D. Medios de aislamiento rutinarios.....	25
E. Identificación.....	26
F. Características morfológicas.....	27
G. Morfología microscópica.....	27
H. Pruebas fisiológicas.....	27
IV. JUSTIFICACIONES.....	32
V. OBJETIVOS.....	33
VI. HIPOTESIS.....	34
VII. MATERIALES Y METODOS.....	35
VIII. RESULTADOS.....	44
IX. DISCUSION DE RESULTADOS.....	53
X. CONCLUSIONES.....	58
XI. RECOMENDACIONES.....	60
XII. REFERENCIAS.....	61
XIII. ANEXOS.....	66

I. RESUMEN

Las dermatofitosis son infecciones producidas por un grupo de hongos llamados dermatofitos, éstos tienen la característica de afectar el estrato córneo de la piel, pelo y uñas.

Actualmente se reconoce que *T. rubrum* es uno de los principales agentes etiológicos de dermatofitosis en pacientes adultos en todas partes del mundo.

En la presente investigación se estudió un total de 132 cultivos provenientes de muestras obtenidas de pacientes adultos que consultaron por padecer alguna afección en piel, pelo o uñas, a la clínica de Micología de la Policlínica Central, el Hospital Juan José Arévalo Bermejo del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social y el Servicio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, durante los meses de marzo a agosto de 1,995.

Los objetivos del estudio fueron, implementar el uso de una serie (batería) de pruebas micológicas para la identificación exacta de los dermatofitos, establecer un procedimiento para la identificación rutinaria confiable de dermatofitosis, establecer correctamente la etiología de las dermatofitosis en una población guatemalteca y contribuir al estudio de las dermatofitosis, introduciendo una técnica de identificación de los mismos.

Todos los cultivos con crecimiento positivo para algún dermatofito fueron purificadas en agar micosel para luego ser inoculadas en los siguientes medios DTM, BCP-CG, BCP-MG y

UREA en donde se evaluó el tipo de crecimiento y el cambio de pH en los mismos, así también se les efectuó análisis macroscópico y cultivo en lámina para observar la morfología microscópica.

Los resultados obtenidos mostraron que T. rubrum fue el agente etiológico de dermatofitosis más importante en el grupo de adultos estudiado, con una frecuencia del 72 por ciento, seguido por T. mentagrophytes con 21.1 por ciento, M. canis y M. gypseum con 3 por ciento, para ambos y E. floccosum con 0.8 por ciento.

REPOSICION DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

II. INTRODUCCION

Entre los numerosos agentes patógenos, cuya localización en la piel produce cuadros clínicos de morfología bien definida, se encuentran los hongos. La capacidad de éstos para provocar enfermedades en los seres humanos parece ser accidental, produciendo micosis con cuadro clínico, algunas veces bien definido (1).

Se han creado varias clasificaciones para facilitar el estudio y ordenación de las micosis, pero ninguna de ellas se puede considerar como la clasificación ideal; sin embargo, para una mejor comprensión y tomando en cuenta el área del cuerpo afectada, las micosis se dividen en cuatro grupos: micosis superficiales, cutáneas, subcutáneas y profundas o diseminadas.

Las dermatofitosis, incluidas dentro del grupo de las micosis cutáneas, son también conocidas como tiñas y los hongos que las producen, dermatofitos. Una característica muy importante que tienen los dermatofitos es que tienen la peculiaridad de no invadir la piel en todo su espesor sino que se limitan a afectar la capa córnea y a expensas de la queratina (2).

En nuestro medio el diagnóstico de dermatofitosis se realiza casi exclusivamente por morfología macro y microscópica; esto trae como consecuencia que se cometan errores al definir la etiología de éstas.

El presente trabajo estuvo orientado a implementar el uso de varias pruebas de identificación micológicas para establecer la etiología de las dermatofitosis en una población guatemalteca, así como introducir una técnica de identificación de dermatofitos, ya que, hasta la fecha no existen manuales completos y actualizados para la identificación de los mismos.

III. ANTECEDENTES

A. DEFINICION

Las dermatofitosis o tineas son lesiones o infecciones micóticas de los tejidos queratinizados (pelo, piel y uñas), causado en los humanos y animales por un grupo de hongos queratofílicos conocidos como dermatofitos (3).

Este grupo de microorganismos tienen algunas características comunes, pero pueden dividirse en tres géneros principales: Trichophyton, Microsporum y Epidermophyton. Dentro de estos géneros existen varias especies reconociéndose alrededor de 40 a 50, las cuales son similares en su fisiología y composición bioquímica, pero diferentes entre sí por sus características morfológicas macro y microscópicas que se desarrollan en los medios de cultivo y por su habitat usual: geofílicos, predilección por el suelo; zoofílicos, predilección por los animales y antropofílicos, predilección por el hombre (4,5).

En Guatemala se han efectuado varios trabajos de investigación sobre Dermatofitos, relacionados con prevalencia, incidencia, etiología e influencia de factores ecológicos en el aislamiento; en 1986 Logemann, analizó un total de 4862 pacientes que consultaron a los Laboratorios de Micología (IGSS y Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) por presentar diferentes lesiones dermatológicas, encontrando una positividad por medio de KOH y cultivo del 60 por ciento. Según el estudio anterior, la dermatofitosis más frecuente en niños fue tiña capitis, siendo Microsporum canis el agente

más importante; como agentes causantes más frecuentes de ti-
ñas en diferentes partes del cuerpo en orden de frecuencia
decreciente tenemos: T. rubrum, T. mentagrophytes, E. floccosum,
T. tonsurans y M. gypseum (3).

B.- CARACTERIZACION

Fisiológicamente, los dermatofitos tienen en común la
capacidad de digerir la queratina, tolerancia a la ciclohexi-
mida y la habilidad de incrementar el pH hasta rangos alcali-
nos como consecuencia al crecimiento en medios de cultivo que
contienen glucosa y peptona.

Inicialmente los tres géneros de dermatofitos se clasificaron
bajo el phylum Deuteromicota (hongos imperfectos), pero en
años recientes se ha observado en especies de los géneros
Trichophyton y Microsporum su forma perfecta o sexuada, cla-
sificándose entre los ascomicetes en el género Arthroderma.

Los dermatofitos se agrupan en tres categorías (anexo 2)
en base a su afinidad hacia el hospedero y a su habitat natu-
ral (6).

Se ha podido llegar a una clasificación simplificada me-
diante cultivo de los hongos y selección de ciertos caracte-
res morfológicos específicos como criterios para la diferen-
ciación en géneros. Por este método Emmons demostró con cla-
ridad que solo procede considerar tres géneros, Microsporum,
Trichophyton y Epidermophyton, cada uno de los cuales puede
diferenciarse morfológicamente por sus conidios y otras es-
tructuras microscópicas.

C.- DESCRIPCIÓN DE ALGUNOS AGENTES ETIOLÓGICOS DE DERMATOFITOSIS

El diagnóstico rutinario de dermatofitosis se basa en el anamorfismo, es decir, su fase asexual (forma y disposición de las conidias en cultivo) y no en la forma sexual (teleomorfismo).

Los dermatofitos pueden producir dos tipos de conidias hialinas, las macroconidias que son grandes, multicelulares, lisas o rugosas, de pared delgada o gruesa; y las pequeñas o microconidias, unicelulares, de pared lisa.

Los tres géneros se agrupan dependiendo de la presencia o ausencia de estos dos tipos de conidias y la apariencia en la superficie de la macroconidia, rugosa vs lisa. La identificación de especies se basa en la apariencia microscópica y arreglo de las conidias, morfología de las colonias en Ágar Dextrosa Sabouraud (SDA) y pruebas fisiológicas.

1.- Género Epidermophyton

Descrito por Sabouraud en 1950 (7). Este grupo contiene dos especies, Epidermophyton floccosum es el único patógeno para el hombre, es un hongo antropofílico, afecta piel; generalmente áreas interdigitales (8,9) y región inguinal y uñas, no afecta el pelo (10).

Colonia en Sabouraud:

Es de color amarillo verdoso pálido, granulosa con surcos radiales y de centro irregular y escaso micelio aéreo (11,12) con pigmento en el reverso de amarillo a café, puntos blancos

muy comunes en cultivos viejos, su crecimiento es lento (mayor de 6 días).

Morfología microscópica:

Abundantes macroconidias en forma de raqueta (mazo), de pared lisa, ancha y septada de 20 a 60 por 4 a 13 micrómetros, sueltas o en grupos de 2 o 3 (3), presenta hasta 4 septos; clamidosporas comunes en cultivos viejos, no produce microconidias.

2.- Género Microsporium

Descrito por Gruby en 1893 (12). Las especies de este género se caracterizan por afectar: piel, pelo y raramente uñas. Presentan colonias blancas o crema, algunas con abundante micelio aéreo y otras pulverulentas (13).

Producen macro y microconidias las cuales pueden ser pocas o numerosas, dependiendo de la especie y el sustrato que utilicen. Las características utilizadas para diferenciarlos son las macroconidias, las cuales son de pared rugosa (variando de rugosa, granular a verrucosa).

La macroconidia varía de ovalado fusiforme a cilindrofusiforme (forma de huso), con número variado de septos, tamaño 6 a 160 por 6 a 25 micrómetros; paredes gruesas alargadas.

Las microconidias son piriformes u ovaladas y generalmente tienen arreglos únicos o singulares (sólos) a lo largo de la hifa (14).

a. Microsporium audouinii

Colonia en Sabouraud:

Es de color blanco grisácea, crema a café, plana, dispersa y aterciopelada; en el reverso presenta un pigmento rosado salmón a café rojizo, crece en forma moderada.

Presenta crecimiento pobre y decoloración café en granos de arroz.

Morfología microscópica:

Puede presentar hifas pectinadas, la característica más importante es la presencia de clamidosporas terminales, usualmente no presenta macro ni microconidias. Las colonias que esporulan pueden presentar macroconidias fusiformes y elongadas, con pocos septos a intervalos irregulares; las microconidias son raras o en cantidad moderada. No perfora el pelo in-vitro (15).

Comentarios:

Causa tiña capitis y tiña corporis de la prepubertad.

b. Microsporium canis variedad canis

Colonia en Sabouraud:

Es de color blanco a ante pálido, algodonoso; raramente no produce pigmento al reverso; crecimiento rápido.

Presenta buen crecimiento y esporulación en granos de arroz. Perfora el pelo in-vitro (15).

Morfología microscópica:

Se observa gran cantidad de macroconidias fusiformes y con doble pared bastante visible, presenta septos de 1 a

15, las dimensiones son de 18 a 125 por 5 a 25 micrómetros, con apéndices asimétricos; las microconidias son muy escasas.

c. Microsporium cookei

Colonia en Sabouraud:

Presenta un color de amarillo a rojizo, plana, pulverulenta, granular; o en rocío; produce un pigmento en el reverso que va de rojo a púrpura intenso, se reproduce rápidamente.

Morfología microscópica:

Se observan macroconidias numerosas la mayoría semejante a M. gypseum, con paredes de 1 a 5 micrómetros de grosor, microconidias abundantes.

Comentarios:

Especie geofílica, raramente patógena.

d. Microsporium equinum

Colonia en Sabouraud:

Presenta un color blanco o de ante pálido a salmón pálido; sobreelevada, plegada, aterciopeladas a finamente pulverulento. Presenta un pigmento en el reverso de ante a salmón.

REVISTA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

Morfología microscópica:

No produce macroconidias frecuentemente y cuando lo hace son de elípticas a fusiformes; longitud de 18 a 60 por 5 a 15 micrómetros; presenta de 2 a 4 septos, con pared

gruesa semejante a M. canis.

Comentarios:

No perfora el pelo in-vitro, el crecimiento en granos de arroz lo hace semejante a M. audouinii.

e. Microsporium ferrugineum

Colonia en Sabouraud:

Presenta un color de amarillo a rojizo, plegado, ceroso; se ha encontrado variantes blancas en ocasiones, crecimiento muy lento. En el medio de Lowensten y Jensen presenta colonias amarillo pálido, esto lo diferencia de colonias café-rojizas de L. soudanense (16,17).

Morfología microscópica:

Usualmente no presenta conidias, pero sí clamidosporas; hifas irregulares, con septos prominentes, largas y rectas (en forma de bambú).

f. Microsporium gallinae

Colonia en Sabouraud:

Presenta un color blanco a rosado, ligeramente plegada, en forma de rocío; en el reverso produce un pigmento rojo difuso (como de frambuesa) en el reverso. Su crecimiento lo hace en forma rápida a moderada.

Morfología microscópica:

Presenta macroconidias abundantes, con un extremo cortado; cuya longitud es de 15 a 50 por 6 a 8 micrómetros, 2 a 10 septos, la pared celular usualmente es lisa; se ob-

servan también microconidias periformes.

g. Microsporium oxysseum

Colonia en Sabouraud:

Colonia de color ante pálido, ante rosado a ligeramente canela; bordes blancos, plana, pulverulenta, granular y disperso (flocoso); al reverso produce un pigmento de color que va desde el ante a café, es de crecimiento rápido.

Morfología microscópica:

Presenta macroconidias abundantes con una pared delgada, con una longitud de 25 a 60 por 7 a 15 micrómetros; pueden ser elipsoidales a fusiformes, algunas pueden poseer de 1 a 6 septos. Microconidias moderadamente abundantes.

Comentarios:

La identificación definitiva de esta especie se obtiene induciendo la forma teleomórfica de la colonia, con medios apropiados (18,19).

Microscópicamente se pueden observar macroconidias similares a las de M. canis sin la doble pared.

h. Microsporium nanum

Colonia en Sabouraud:

Presenta una colonia de crema a ante; pulverulenta, en el reverso produce un pigmento de rojo a café; presenta un ritmo de crecimiento moderado.

Morfología microscópica:

Se observan macroconidias abundantes, ovaladas con una longitud de 10 a 30 por 6 a 13 micrómetros; usualmente se observan dos septos; presentan regular cantidad de microconidias.

Comentarios:

Su crecimiento es más lento que Fl. gypseum. Debe diferenciarse de Trichothecium roseum.

i. Microsporium persicolor

Colonia en Sabouraud:

Presenta una colonia de color de ante amarillento a rosado; plana, pulverulenta, y en forma de rocío; produce un pigmento en el reverso de color café rojizo y es de crecimiento rápido.

Morfología microscópica:

Presenta microconidias abundantes, esféricas a piriformes (pocas en forma de mazo) unidas a las hifas; generalmente en grumos, como racimos de uvas; pero también solos a lo largo de la hifa. Las macroconidias son de pared delgada generalmente lisa; se asemeja mucho a una hifa en espiral.

Comentarios:

Es muy semejante a Trichophyton mentagrophytes, por lo que hay que diferenciarlo con agar BCP-MSG (20). Presenta macroconidias de pared rugosa, no crece a 37°C.

j. Microsporun praecox

Colonia en Sabouraud:

Presenta una colonia de color crema a amarillo quemado; plegado, pulverulenta, produce un pigmento en el reverso de color amarillo pálido a naranja; presenta un crecimiento moderado.

Morfología microscópica:

Presenta numerosas macroconidias, fusiformes, alargadas; algunas con apéndices apicales, longitud de 40 a 90 por 7 a 17 micrómetros; se pueden encontrar de 2 a 8 septos de pared delgada; se aprecia ausencia de microconidias.

k. Microsporun racemosum

Colonia en sabouraud:

La colonia es de color blanco, crema a ante; plana, finamente granular. Produce un pigmento en el reverso de color rojo púrpura intenso; su crecimiento es rápido.

Morfología microscópica:

Se aprecian macroconidias abundantes, fusiformes, elipsoidales con una longitud de 41 a 77 por 9 micrómetros, se observan de 3 a 8 septos, la pared es moderadamente gruesa y las microconidias abundantes, generalmente en grupos (como racimos de uvas).

Comentarios:

Macroconidias semejantes a Microsporun gypseum.

1. Microsporun vanbreuseghemii

Colonia en Sabouraud:

Presenta una colonia de rosado pálido-rosado intenso a amarillento-ante suave; plana, granular a forma de rocío; produce pigmento en el reverso de crema a amarillo pálido. Crece en forma rápida.

Morfología microscópica:

Las macroconidias son abundantes y su morfología es cilindro fusiformes; presenta una longitud de 43.8 a 87.5 micrómetros, son de pared gruesa con 0 a 12 septos y las microconidias son numerosas, piriformes a abombadas, y se presentan individualmente a los lados de las hifas (3, 12).

3. Género Trichophyton

Descrito por Malmstein en 1945 (13). Presenta colonias con poco o abundante micelio aéreo, algunos con apariencia pulverulenta y al reverso de la colonia puede o no presentar pigmento.

Se observan microconidias aunque en algunos casos pueden encontrarse macroconidias. Las microconidias, pueden ser globosas, piriformes u ovaladas y se presentan solas o en grupos (en forma de racimos de uvas).

Aunque la producción de microconidias es la característica principal de este género, se han descrito algunas especies que no la presentan: Trichophyton longifuseum (Keratinomices) y Trichophyton kanei (21-23), y Trichophyton shoenleinii y

Trichophyton concentricum.

Las macroconidias por lo general son de pared lisa, delgada a gruesa, con forma variable (ovalado, fusiforme o cilíndrico), y con septos, pueden estar solas o en grupos. Las especies de este género pueden afectar piel, pelo y uñas.

a. Trichophyton aielloi

Colonia en Sabouraud:

Es de color crema a anaranjado, plana, pulverulenta; produce un pigmento en el reverso de color púrpura a negro, algunas veces no presenta pigmento.

Morfología microscópica:

Presenta microconidias escasas; macroconidias numerosas, fusiformes a cilíndricas, de pared gruesa, se pueden observar de 5 a 12 septos.

Comentarios:

Esta es una especie geofílica, raramente patógena (17).

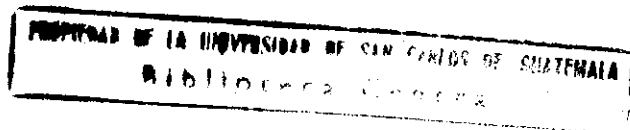
b. Trichophyton concentricum

Colonia en Sabouraud:

Presenta una colonia que puede ser beige, café a rojizo, elevado y apelonado liso a aterciopelado; no produce pigmento en el reverso; su crecimiento es lento.

Morfología microscópica:

Microconidias y macroconidias usualmente ausentes, su característica principal es la presencia de hifas dicotómicas.



Comentarios:

Hongo geográficamente restringido, el 50% de los aislamientos son estimulados con tiamina, otros son autótrofos (21). Causante de tifa imbricada o Todelau.

c. Trichophyton equinum

Colonia en Sabouraud:

Es de color crema; plano, algodonoso, produce un pigmento en el reverso de color amarillo a café rojizo.

Morfología microscópica:

Se observan microconidias piriformes o esféricas; son raras la macroconidias, y cuando hay son similares a las observadas a Trichophyton mentagrophytes.

Comentario:

Para su crecimiento requiere de Ácido nicotínico, se ha descrito una variedad autótrofa (24).

d. Trichophyton fischeri

Colonia en Sabouraud:

Hongo de color blanco, de aterciopelado a algodonoso; produce un pigmento en el reverso de color café rojizo, a vino tinto, muy semejante a Trichophyton rubrum.

Morfología microscópica:

Microconidias piriformes y subglobosas abundantes a lo largo de las hifas sin ramificación. Macroconidias largas, tortuosas, cilíndricas y en forma de mazo.

Comentarios:

Este hongo es un especie geofílica que puede ser patógeno, crece muy bien a 37°C; es ureasa negativo, no perfora el pelo in-vitro. Crecimiento restringido en agar BCP-CDA; no produce cambio de pH durante los primeros 7 días. Debe diferenciarse bien de Trichophyton rubrum y Trichophyton raubischekii (25).

e. Trichophyton gourvilii

Colonia en Sabouraud:

Colonia de color rosado a rojo, montañoso, elevado y apelotonada; tornándose aterciopelado.

Morfología microscópica:

Presenta macroconidias y microconidias típicas del género Trichophyton, en especial de las especies T. megninii, T. rubrum, T. violaceum y T. soudanense (12).

Comentarios: No requiere nutrientes especiales.

f. Trichophyton kanei

Colonia en Sabouraud:

Es de color blanco, aterciopelado a granular; presenta un pigmento en el reverso de color rojo-café a rojo tinto.

Morfología microscópica:

Predominan macroconidias cilíndricas a forma de mazo, generalmente con bases en forma de T; microconidias ausentes, se forman arthroconidias pequeñas, generalmente

cilíndricas, piriformes en el extremo terminal de la hifa.

Comentarios:

Es ureasa positivo, si perfora al pelo invitro, crecimiento restringido en agar BCF-CG, no produce cambio de pH en 7 días.

g. Trichophyton megninii

Colonia en Sabouraud:

Es de color rosado pálido a rosado intenso, radialmente plegados, presenta un pigmento vino tinto en el reverso.

Morfología microscópica:

Microconidias piriformes, en forma de mazo, macroconidias raras similares a las de Trichophyton rubrum.

Comentarios:

Es ureasa positivo, su crecimiento se ve estimulado utilizando L-Histidina como sustrato.

h. Trichophyton mentagrophytes

Colonia en Sabouraud:

Es de color blanco a crema; apariencia plana, pulverulenta, granular o algodonosa; presenta un pigmento en el reverso de color amarillo, rojo o vino tinto, a veces produce un pigmento melanoide difuso.

Morfología microscópica:

Se observan microconidias redondas o piriformes, en grupos o sueltas a lo largo de la hifa; presenta en algunos

cultivos macroconidias en forma de mazo, usualmente se observan hifas en espiral.

Comentarios:

Este hongo hidroliza la urea, perfora el pelo in-vitro, y crece bien a 37°C. Presenta un crecimiento profuso en BCF-CG, cambia de pH a alcalinidad a los 7 días.

i. Trichophyton raubitschekii

Colonia en Sabouraud:

Es de color ante; elevado en el centro, con surcos radiales; aterciopelado a granular, presenta un pigmento vino tinto (rojo sangre) al reverso.

Morfología microscópica:

Se observan microconidias globosas, esféricas, sub-esféricas, sésil o en proyecciones cortas a lo largo de hifas no ramificadas. Presenta macroconidias abundantes en aislamientos primarios, delgadas, elongadas con extremos doblados (cruzados) con 5 a 9 septos.

Comentarios:

Este hongo hidroliza la urea, no perfora el pelo in-vitro, crecimiento restringido en BCF-CG; no produce cambio de pH (alcalinidad) a los 7 días (25).

j. Trichophyton rubrum

Colonia en Sabouraud:

Presenta una colonia de color blanco, aterciopelado, rara vez pulverulenta; se observa un pigmento en el rever-

so de color rojo tinto, algunas veces amarillo, naranja, o color melanoide difusible. Se han descrito variantes en color y crecimiento (26).

Morfología microscópica:

Se observan microconidias piriformes y usualmente a lo largo de la hifa, no ramificado. Macroconidias raras o ausentes, delgadas, cilíndricas y en forma de mazo en cultivos granulares.

Comentarios:

Ureasa negativo, no perfora el pelo in-vitro, algunas veces puede presentar variantes de color hialino o amarillo. Crecimiento restringido en BCP-CG, no produce cambio de pH en 7 días. Debe diferenciarse bien de *T. raubitschekii* (25) y *T. fischeri* (27).

k. *Trichophyton schoenleinii*

Colonia en Sabuocrauds:

Presenta un color blanco a marrón, apilado, enrollado, liso, con apariencia de cera, tornándose aterciopelado en subcultivos, no produce pigmento en el reverso, su crecimiento es lento.

Morfología microscópica:

Microconidias y macroconidias raramente observadas, clamidosporas abundantes; se observan extremos de las hifas en forma de "cabeza de clavo", se ramifica para formar estructuras parecidas a cuernos (como candelabros).

Comentarios:

Autotrófico para las vitaminas que lo diferencian de L. verrucosum.

l. Trichophyton simii

Colonia en Sabouraud:

Es de color blanco a ante pálido; plana o ligeramente enrollado, pulverulento, produce un pigmento en el reverso de color salmón.

Morfología microscópica:

Se observan abundantes macroconidias, algunas se fragmentan o se hinchan semejando clamidosporas; microconidias piriformes, se puede llegar a observar espirales.

m. Trichophyton soudanense:

Colonia en Sabouraud:

Presenta un color amarillo a naranja, es planas con enrollamiento, su textura es semejante a la gamuza; la periferia es en franjas, produce un pigmento en el reverso que va de amarillo a naranja y su crecimiento es lento.

Morfología microscópica:

Se observan microconidias piriformes, las macroconidias con ramificaciones características pueden aparecer muy raramente.

Comentarios:

Crece a 37°C pero hay que estimularlo con aminoácidos como la L-Histidina y Arginina.

n. Trichophyton terrestre

Colonia en Sabouraud:

Presenta una colonia de color blanco, amarillo pálido o rojo, plana, granular o en forma de gotas de rocío; en el reverso produce un pigmento que va de amarillo pálido a café amarillento o rojo. Es de crecimiento rápido.

Morfología microscópica:

Se observan microconidias que pueden ser piriformes a ovaladas, pudiéndose encontrar solas o en grupos, éstos pueden ser cortos o de longitud intermedia; que se extienden hasta adquirir el tamaño de una macroconidia que puede ser ovalada o cilíndrica de pared delgada, conteniendo de 2 a 6 septos.

Comentario:

Este hongo es geofílico, raramente es patógeno, usualmente no crece a 37°C, debe diferenciarse claramente de T. mentagrophytes.

ñ. Trichophyton tonsurans

Colonia en Sabouraud:

Presenta una colonia que puede variar en color (blanco, crema, amarillo, rosado, café, gris, etc). Plana, elevada y enrollada, aterciopelada a pulverulento. Presenta un pigmento de color café intenso en el reverso; su crecimiento es lento.

Morfología microscópica:

Se observan microconidias ovaladas a elongadas (pleomór-

ficas) algunas hinchadas en forma de globo y unidos a conidiáforo, ramificado mediante un tallo corto.

Raramente se observan macroconidias.

Comentarios:

Su crecimiento es estimulado con tiamina.

o. Trichophyton verrucosum

Colonia en Sabouraud:

Presenta una colonia color crema; puede presentar tres variedades, la variedad discoide que es plana, aterciopelada, la variedad album que puede ser elevada o doblada, lisa y con apariencia a cera y la variedad ochraceum que tiene un color amarillo, puede estar enrollado y ser liso; su crecimiento es lento.

Morfología microscópica:

Usualmente no se observan conidias, su característica principal es que presenta abundantes clamidosporas en cadenas.

Comentario:

Todos los cultivos requieren de tiamina, la mayoría requieren de inositol, su crecimiento se ve estimulado a 37°C; crece en forma profusa en medio BCP-CG y presenta hidrólisis a los 6 días de incubación (28), produce macroconidias con forma de cola de ratón, las anteriores características son muy importantes para la diferenciación de T. schoenleinii. Cultivos de muestras sospechosas de T. verrucosum deben incubarse a 37°C ya que esta

temperatura favorece el crecimiento de esta especie.

p. Trichophyton violaceum

Colonia en Sabouraud:

Presenta un color violeta; elevado, enrollado liso o aterciopelado; se observa un pigmento morado al reverso, crecimiento lento.

Morfología microscópica:

Usualmente carece de macro y microconidias y se pueden encontrar clamidosporas.

Comentarios:

La tiamina estimula su crecimiento y la esporulación.

q. Trichophyton yaoundei

Colonia en Sabouraud:

Presenta un color ante al inicio de su crecimiento, tornándose café después; crecimiento lento.

Morfología microscópica:

Se observan rara vez microconidias piriformes; no se encuentran macroconidias; puede presentar clamidosporas.

Comentario:

Geográficamente limitado a Africa.

D. MEDIOS DE AISLAMIENTO RUTINARIOS

El medio más comúnmente utilizado para el aislamiento de dermatofitos es el agar Sabouraud con dextrosa (SDA) (pH 5.6) y la modificación de Emmons con menos dextrosa (2% en lugar

de 4%) y un pH entre 6.0 y 7.0, junto con SDA conteniendo cloranfenicol y cicloheximida para inhibir la contaminación por bacterias y hongos saprófitos.

El SDA conteniendo cloranfenicol se recomienda para el aislamiento de hongos oportunistas en muestras contaminadas con bacterias (29). Se recomienda la adición de Gentamicina para especímenes altamente contaminados con bacterias (30). SDA con cloramfenicol, cicloheximida (Micosel) es usado rutinariamente como medio de aislamiento de Dermatofitos en el laboratorio.

Los medios inoculados se incuban a una temperatura de 27°C y se evaluán diariamente durante 15 días.

E. IDENTIFICACION

La identificación de las diferentes especies de Dermatofitos se basa en las características de colonias puras en SDA y en su morfología microscópica. Sin embargo, estos criterios no siempre son suficientes, ya que la apariencia de las colonias pueden variar o ser similares para diferentes especies; la pigmentación característica puede o no aparecer y algunos aislamientos no esporulan, situación pertinente especialmente en el género Trichophyton. Se requieren medios especiales para estimular la producción de pigmento. Para obtener una estricta identificación de la especie se requiere de pruebas fisiológicas y de esporulación además de la morfología macroscópica.

F. CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS

Las características siguientes son importantes al observar la morfología de las colonias: color de la superficie y reverso de la colonia, textura (pulvurulento, granular, algodonoso, etc), topografía (se refiere a elevación, márgenes, etc), y la velocidad de crecimiento (lento, moderado y rápido o profuso).

G. MORFOLOGIA MICROSCOPICA

La morfología microscópica, debe determinarse con una preparación con azul de lactofenol, especialmente la apariencia y arreglo de las conidias en las hifas (macro y micro) y formas de otras estructuras. Algunas veces se utilizan medios especiales que nos proporcionan características morfológicas específicas por ejemplo: agar Cornmeal o Cornmeal-dextrosa, agar papa dextrosa, agar SDA con 3 a 5% de cloruro de sodio (20,31), y agar lactritmel para estimular la esporulación (23,32).

H. PRUEBAS FISIOLÓGICAS

1. PERFORACION DEL PELO IN VITRO

Implementada por Ajello y Georg para distinguir entre aislamientos atípicos de *T. mentagrophytes* y *T. rubrum* (33), también puede ser utilizado para distinguir entre *M. canis* y *M. equinum*. La exposición de pelo a *T. mentagrophytes* y *M. canis* da lugar a una perforación en forma de cuña perpendicular, mientras que *T. rubrum* y *M. equinum* no demuestra este tipo de perforación. Esta prueba puede ser útil en la

identificación de otras especies (15).

2. REQUERIMIENTOS ESPECIALES DE NUTRICION

La evaluación sobre el requerimiento de nutrientes especiales de crecimiento fue descrito por Georg y Camp, quienes lo utilizaron para la identificación rutinaria de especies del género Trichophyton, ya que esto permite una producción de conidias y otras variantes morfológicas (34).

Existen algunas especies que presentan o tienen requerimientos nutricionales específicos, variables y otras simplemente no lo tienen. Ejemplo de estos métodos son: medio con base de caseína libre de vitaminas; puede adicionársele a medios basales varias vitaminas como, inositol, tiamina e inositol tiamina, ácido nicotínico e histidina (13,17).

3. HIDROLISIS DE UREA

Es útil en la diferenciación de L. mentagrophytes (ureasa positivo) de L. rubrum (ureasa negativo); L. rubrum de L. raubitschekii (ureasa positivo) (25,35) y L. rubrum de L. megninii (ureasa positivo) (36).

Se puede utilizar agar o caldo Urea de Chrystensen. Se considera que el caldo es más sensible que el agar para este propósito (37). El medio después de inoculado, se incuba durante 7 días a una temperatura de 27°C. Se debe evaluar los tubos cada 2 o 3 días para observar el cambio de color, que va de naranja o rosado pálido a color rojo-púrpura que indica la presencia de ureasa. Siempre se deben inocular controles

positivo y negativo.

4.- CRECIMIENTO EN AGAR BCP-GLUCOSA Y LECHE (BCP-M6)

En este tipo de medio de cultivo el crecimiento (profuso versus limitado) y el cambio en un indicador de pH (púrpura de bromocresol) indicando alcalinidad, son especialmente útiles para la diferenciación entre *T. rubrum* de *T. mentagrophytes* y *T. mentagrophytes* de *M. persicolor* (13,20).

T. rubrum muestra un crecimiento restringido y no produce cambio a alcalinidad de este medio; *T. mentagrophytes* presenta un crecimiento profuso y reacción a alcalinidad. Aunque *M. persicolor* demuestra crecimiento profuso, no produce cambio a alcalinidad. Actualmente se han efectuado otros exámenes de diferenciación entre *T. mentagrophytes* y *M. persicolor* (38).

Cultivos a evaluar deben ser inoculados en agar BCP-GM y examinados para observar cambios de pH y características de crecimiento durante 7 a 10 días a 27°C. Un cambio de color de azul pálido o celeste a violeta o púrpura indica una reacción de alcalinidad (tabla 1).

5.- CRECIMIENTO EN AGAR BCP CASEINA Y GLUCOSA (BCP-C6)

El medio BCP-C6 es utilizado frecuentemente para la demostración del crecimiento típico, así como, el cambio de pH que presentan algunos dermatofitos (39).

En este medio *T. mentagrophytes* y *M. persicolor* producen colonias grandes, lisas y planas en 7 días de incubación a

27°C aunque la actividad proteolítica de estos dos dermatofitos es diferente. L. mentagrophytes produce un cambio a alcalinidad, que se hace visible por el cambio de color en el indicador (púrpura después de 7 días). M. persicolor, por el contrario no produce un cambio en el pH, en este caso el medio no cambia de color.

La apariencia del crecimiento profuso está directamente relacionado con los cambios de pH en el medio BCP-CG (tabla 2).

6.- CRECIMIENTO EN AGAR SELECTIVO PARA DERMATOFITOS (DTM)

Este medio de cultivo fue desarrollado, por Taplin y colaboradores en 1969-1970, para el aislamiento y en muchos casos para la diferenciación rápida de Dermatófitos, incluso a partir de muestras contaminadas (40).

De acuerdo a las investigaciones comparativas de Mertz y colaboradores (1970), el Agar selectivo para Dermatófitos (DTM) aventaja en selectividad a otros medios de cultivos para hongos (41). Según Allen y colaboradores (1970), su ventaja reside en el crecimiento rápido de los Dermatófitos y a su valioso cambio de color que puede ocurrir incluso al tercer día después de ser inoculada la muestra (anexo 3).

Sobre el DTM, la mayoría de los Dermatófitos producen metabolitos básicos, que alcalinizan el medio de cultivo originalmente ácido, lo que provoca un viraje del Rojo de fenol, de amarillo a rojo. No obstante, este efecto también puede ser provocado, a veces, por otros microorganismos. Según da-

tos de los autores, es posible conseguir con un alto nivel de probabilidad (aproximadamente 97%), una diferenciación rápida entre Dermatofitos y otros mohos los cuales producen metabolitos ácidos, que no provocan cambio alguno en el medio (42).

7.- TOLERANCIA Y FAVORECIMIENTO DE TEMPERATURA

Esta prueba es útil para diferenciar T. mentagrophytes de T. terrestre, T. mentagrophytes de M. persicolor; T. verrucosum de T. schoenleinii y T. soudanense de M. ferrugineum (13,43).

A 37°C T. mentagrophytes demuestra un buen crecimiento mientras que T. terrestre no lo demuestra; M. persicolor crece pobremente o no crece. Se ve favorecido el crecimiento de T. verrucosum y T. soudanense, pero no la de T. schoenleinii y M. ferrugineum (43).

IV. JUSTIFICACIONES

Las dermatofitosis, tineas o tiñas son lesiones producidas por un grupo de hongos llamados dermatofitos, íntimamente relacionados con la capacidad de utilizar la queratina y establecer cierto tipo de equilibrio, aunque transitorio con el hospedero.

En nuestro medio la identificación de los dermatofitos se realiza casi exclusivamente por morfología macro y microscópica; ésto trae como consecuencia que se cometan errores al definir la etiología de las dermatofitosis. El desarrollo de pruebas micológicas que no tienen complicaciones para su realización, permiten llevar a cabo la identificación de cepas de dermatofitos, de una manera precisa. El presente trabajo pretende establecer una batería de pruebas de identificación que sirva de base para que los laboratorios proporcionen una mejor información a los médicos y de esta manera contribuir al manejo racional de esta patología.

V. OBJETIVOS

- A. Implementar el uso de una serie (batería) de pruebas micológicas para la identificación exacta de los dermatofitos.
- B. Establecer un procedimiento para la identificación rutinaria confiable de dermatofitosis.
- C. Establecer correctamente la etiología de las dermatofitosis en una población guatemalteca.
- D. Contribuir al estudio etiológico de las dermatofitosis, introduciendo una técnica de identificación de los mismos.

VI. HIPOTESIS

- A. Más del 60% de las dermatofitosis son causadas por Trichophyton rubrum.
- B. La funcionalidad en diferenciación e identificación de una batería micológica es del 100%.
- C. La utilización de la batería de pruebas micológica propuesta ayuda a la identificación correcta de el agente etiológico de las dermatofitosis.

VII. MATERIALES Y METODOS

A.- Universo de trabajo

El universo de trabajo lo constituyó los cultivos con crecimiento positivo para hongos, que provinieron de áreas o lesiones de tegumentos cornificados (piel, pelo y uñas) aislados de pacientes en los meses de marzo a agosto de 1995 en el Laboratorio Clínico del Hospital Juan José Arévalo Bermejo, Policlínica Central, del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social; así como del Servicio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

B.- Medios

1.- Recursos humanos

Estudiante de Química Biológica que realizó la investigación: ELEAZAR ANIBAL VENTURA MARTINEZ.

Asesoró el trabajo de tesis: Licenciado Juan Carlos Quevedo Velázquez.

2.- Recursos institucionales

a. Hospital Juan José Arévalo Bermejo, IGSS.

b. Policlínica, IGSS

c. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Servicio de Micología.

3.-Recursos materiales

a. Equipos:

Autoclave

Balanza semianalítica

Esteréoscopio

Incubadora

Microscopio

Refrigeradora

b. Cristalería y materiales varios

Algodón

Asas micrológicas

Balones aferados de 500 ml.

Cubre objetos

Erlenmeyers de 500 ml.

Goteros

Guantes de hule

Gradillas para tubos de ensayo

Marcadores indelebles

Masking tape

Mechero

Papel parafinado

Pinzas de metal

Porta objetos

c. Reactivos (anexo 1)

Agua destilada

Azul de lactofenol

d. Medios de cultivos:

Agar DTM

Agar BCP-CG

Agar BCP-MG

Agar Micosel

Agar Urea de Christensen

C.- Procedimiento

Los dermatofitos aislados fueron mantenidos en agar Micosel.

Para la identificación y diferenciación a los dermatofitos se les efectuó examen microscópico, características coloniales macroscópicas y se inocularon en agar DTM, BCP-MG, BCP-CG, Urea de Christensen.

1. Examen macroscópico

Se anotó el aspecto de la colonia (textura de la superficie, pigmentación anverso y reverso), algodonoso, granular o polvoriento, o vellosa, lisa o cerosa.

2. Examen microscópico (Cultivo en lámina)

a. Se cortó de una placa un fragmento de 1 centímetro cuadrado de medio Micosel, luego se colocó en un portaobjetos estéril, que estaba contenido en una caja de petri con un triángulo de vidrio.

b. Con un asa en "L" se inocularon las 4 superficies

27°C durante 7 a 10 días.

- b. Se observó diariamente el cambio de coloración que produce el crecimiento. Si el medio cambia de azul o celeste a morado o púrpura, será indicativo de una reacción positiva.

Se descartó como negativo después de 10 días que no se observó cambio de color.

Si hubo crecimiento se evaluó el tipo del mismo (restringido, poco y profuso), lo cual significa la capacidad y forma del crecimiento en este medio de cultivo.

5. Prueba en agar BCP-CG

- a. Con un asa en "L" se tomó una pequeña porción de la colonia y se colocó en la superficie del medio inclinado (en tubo), se incubó a 27°C durante 7 a 10 días.

- b. Se observó diariamente el cambio de coloración que produjo el crecimiento. Si el medio cambia de azul o celeste a púrpura o morado, será indicativo de una reacción positiva.

Se descartó como negativo a los 10 días que no hubo cambio de color.

Si hubo crecimiento se evaluó la calidad del mismo (restringido, poco y profuso).

6. Prueba de la Urea

- a. Con un asa en "L" se tomó una pequeña porción de la colonia y se colocó en la superficie del medio inclinado (en tubo), se incubó a 27°C durante 7 días.
- b. Se observó diariamente el cambio de coloración, si el medio cambió a rosado debido al crecimiento, fue indicativo de una reacción positiva.
- c.- Se descartó como negativo a los 7 días que no hubo cambio de color.

D. Diseño de la investigación

I. Muestra

Se determinó el número de muestra para la investigación utilizando la siguiente fórmula:

$$n = \frac{NC^2 \delta^2}{d^2}$$

Donde:

NC = Nivel de confianza

δ = Varianza

d = Límite de error

NC Nivel de confianza

H₀: De las cepas obtenidas I rubrum va a ser \leq a 60% (0.6).

H_a: De las cepas obtenidas I rubrum va a ser $>$ a 60% (0.6).

Con un $\alpha = 0.05$ (probabilidad de cometer un error tipo I)

$\beta = 0.10$ (probabilidad de cometer un error tipo II)

$$NC = Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta}$$

$$NC = 1.645 + 1.282$$

$$NC = 2.927$$

$s^2 =$ Varianza

$$s^2 = pq$$

Donde

p = proporción esperada

q = complemento (1-p)

$$p = 0.6$$

$$q = 0.4$$

$$s^2 = 0.24$$

d = Límite de error

Donde d = la distancia entre el valor real y el valor encontrado, para considerarlos diferentes.

$$d = 0.15 = 15\%$$

$$n = \frac{(2.927)^2(0.24)}{(0.15)^2} \quad n = 92$$

Donde 92 es el mínimo número de cepas de dermatofitos a estudiar, estudiando un total de 132 cepas.

2. Análisis de resultados

A continuación se realizó la prueba de hipótesis Z para proporciones.

$$Z = \frac{p \text{ encontrado} - p \text{ supuesto}}{\sqrt{\frac{p \text{ encontrado} \times q \text{ encontrado}}{n}}}$$

Donde:

p encontrado \geq 60% (0.60)

q encontrado = 1 - p encontrado

Si Z calculado \geq a Z crítico entonces H_0 se rechaza.

Z calculado \geq 1.645 entonces H_0 se rechaza.

Así mismo se realizó una comparación entre el método de referencia, el diagnóstico del micólogo y el diagnóstico presuntivo.

Nivel de comparación

"1" Diagnóstico de laboratorio (Micólogo).

"2" Análisis macroscópico, microscópico y urea.

"3" Batería completa.

Entonces: Concuerdan o no el diagnóstico del Micólogo y el análisis macroscópico, microscópico y urea con el diagnóstico dado utilizando la batería completa?

Para contestar utilizamos una prueba Z para proporción de éxitos vs proporción de fracasos.

Ejemplos:

Metodo de referencia (bateria completa)	Diagnóstico del Micólogo (dado por el laboratorio)	Diagnóstico presuntivo (análisis macroscopico y urea)
Dermatofito X	+	-
Dermatofito Y	-	+
Dermatofito Z	+	+

Donde:

Exito o concordancia (+)

Fracaso o no concordancia (-)

Método:

p= proporción de éxitos

q= proporción de fracasos

Utilizamos un criterio de porcentaje de éxitos para considerar el diagnóstico del micólogo y el diagnóstico presuntivo, buenos, como el de referencia (bateria).

XIII. RESULTADOS

En total se trabajaron 132 cepas de dermatofitos provenientes de laboratorios del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social y cuatro cepas control provenientes del Centro para enfermedades Infecciosas de Atlanta (CDC), proporcionadas por el Servicio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

La identificación preliminar realizada a las cepas en los diferentes laboratorios del IGSS (Policlínica central y Hospital Juan José Arévalo Bermejo), lugares donde se hizo el primo aislamiento, se presenta en la siguiente tabla:

TABLA No. 1
Identificación preliminar

Género	No. de Cepas	%
<u>Trichophyton</u>	123	93.2
<u>Microsporum</u>	8	6.0
<u>Epidermophyton</u>	1	0.8

Todas las cepas fueron inoculadas en medio DTM para confirmar la existencia del dermatofito, obteniendo los siguientes resultados:

TABLA No. 2
Cambio de coloración en el medio de DTM

Género	No. de Cepas	No. positivos	%	No. Negativos	%
Trichophyton	123	116	94.3	7	5.7
Microsporum	8	8	100.0	-	-
Epidermophyton	1	1	100.0	-	-

Siete cepas del género Trichophyton no cambiaron el color del medio aunque hubo crecimiento bien evidente.

Todas las cepas se inocularon en la batería propuesta: medio BCP-CG, BCP-MG y Urea, obteniendo los resultados siguientes:

Tabla No. 3

Resultados de las reacciones en los medios BCP-CG, BCP-MG y Urea

Género	BCP-CG		BCP-MG		UREA	
	+	-	+	-	+	-
Trichophyton	27	96	26	97	27	96
Microsporum	-	8	-	8	-	8
Epidermophyton	1	-	1	-	1	-
Cepas control						
<i>T. rubrum</i>	-	2	-	2	-	2
<i>T. mentagrophytes</i>	2	-	2	-	2	-

BCP-CG, BCP-MG Positivo = Cambio de color y crecimiento profuso.

BCP-CG, BCP-MG Negativo = No hay cambio de color y crecimiento restringido.

UREA Positivo = Cambio de color

UREA Negativo = No hay cambio de color

Con base en los datos anteriores se estableció la identificación preliminar de las especies de dermatofitos, faltando únicamente su correlación con la morfología macro y microscópica, como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla No. 4

RESULTADOS DE LAS REACCIONES DE LOS DERMATOFITOS EN AGAR BCP-CG, BCP-MG Y UREA				
ESPECIE DE DERMATOFITO	No. DE CULTIVOS EVALUADOS	BCP-CG	BCP-MG	UREA
<u>T. rubrum</u>	92	-	-	-
<u>T. mentagrophytes</u>	24	+	+	+
<u>M. gypseum</u>	4	-	-	-
<u>M. canis</u>	4	-	-	-
<u>E. floccosum</u>	1	+	+	+
Cepas dudosas	7	Variable	Variable	Variable

A las 132 cepas se les realizó cultivo en lámina para la observación microscópica, los resultados fueron los siguientes:

Tabla No. 5
Identificación por género con base a la morfología macro y microscópica de la colonia

Género	No.	%
<u>Trichophyton</u>	123	93.2
<u>Microsporium</u>	8	6.0
<u>Epidermophyton</u>	1	0.8
Total	132	100.0

Las cepas identificadas como Trichophyton rubrum con la batería propuesta, presentaron escasas microconidias piriformes a lo largo de la hifa. Hubo tres cepas que no presentaron esta morfología.

T. mentagrophytes presentó abundantes microconidias piriformes y redondas, en grupos y sueltas a lo largo de la hifa y se observaron hifas en espiral. Hubo cuatro cepas que no presentaron esta morfología.

Las cepas de los géneros Microsporium y Epidermophyton

fueron identificadas con base en su morfología microscópica típica.

Se obtuvo una buena correlación entre la morfología microscópica y los resultados obtenidos con la batería de medios con excepción de 7 cepas, ya que la morfología no estaba acorde con los resultados de la batería, por lo que se estudiaron nuevamente y fueron sometidas al examen completo. La identificación final incluyendo las 7 cepas dudosas fue la siguiente:

Tabla No. 6
Porcentaje de cepas identificadas

Especie de Dermatofito	No. Cepas	%
<u>T. rubrum</u>	95	72.0
<u>T. mentagrophytes</u>	28	21.2
<u>M. gypseum</u>	4	3.0
<u>M. canis</u>	4	3.0
<u>E. floccosum</u>	1	0.8

Se evaluó la producción de pigmento (café rosáceo) por T. rubrum y T. mentagrophytes en los medios ECP-CG y BCP-MG, lo que se detalla a continuación:

Tabla No. 7
Producción de pigmento

Especie de Dermatofito	No. de Cultivos Evaluados	BCP-CG		BCP-MG		AMBOS	
		No.	%	No.	%	No.	%
<u>T. rubrum</u>	95	69	72	14	14	14	14
<u>T. mentagrophytes</u>	28	2	8	2	8	2	8

Sobre la superficie de el medio BCP-CG el pigmento producido fue más evidente que en el medio BCP-MG.

Se evaluó también el tipo de crecimiento observado en la superficie de los medios BCP-CG y BCP-MG. Todas las cepas de T. mentagrophytes mostraron crecimiento profuso en ambos medios.

A las 132 cepas se les realizó cultivo en lámina para la observación microscópica; así como la descripción de sus características macroscópicas, los resultados se presentan en la Tabla No. 8:

Tabla No. 8
Características macroscópicas del primo-aislamiento en agar Micosel de los dermatofitos estudiados

Especie de Dermatofito	Color de la colonia	Aspecto					
				Algodonoso		Pulverulento	
		No.	%	No.	%	No.	%
<u>T. rubrum</u>	Amarillo	25	26.3	25	100	0	0
	Blanco	70	73.7	70	100	0	0
<u>T. mentagrophytes</u>	Blanco	28	100	14	50	14	50
<u>M. gypseum</u>	Café claro	4	100	0	0	4	100
<u>M. canis</u>	Blanco	4	100	4	100	0	0
<u>E. floccosum</u>	Amarillo verdoso	1	100	0	0	0	0

En T. rubrum el 92 % de las cepas de color amarillo presentó escaso micelio aéreo.

En T. mentagrophytes el 50 % presentaron un color blanco rosáceo.

E. floccosum presentó escaso micelio aéreo y surcos radiales.

Tabla No. 9
Tipo de pigmento producido en el Medio Micosel

Especie de dermatofito	Número de Cepas	Color					
		Café		Amarillo		Vino tinto	
		#	%	#	%	#	%
<i>T. rubrum</i>	95	49	51.6	32	33.7	14	14.7
<i>T. mentagrophytes</i>	28	22	78.6	3	10.7	3	10.7
<i>M. gypseum</i>	4	4	100	0	0	0	0
<i>E. floccosum</i>	1	0	0	1	100	0	0

M. canis no produjo pigmento.

De las cepas de *T. rubrum* el 51.6 % produjeron un pigmento café, el 33.7 % un pigmento amarillo y un 14.7 % un pigmento vino tinto en el reverso del tubo con medio Micosel.

De las cepas identificadas como *T. mentagrophytes* 50 % fueron de color blanco rosáceo y aspecto pulverulento y el otro 50 % fue de color blanco y aspecto algodonoso; el 64 % produjo un pigmento café y el 35.7 % un pigmento amarillo en el reverso de la colonia.

En la etapa final del estudio se comparó la identificación realizada en la parte investigada y la que fue efectuada en los laboratorios del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social.

El nivel de comparación efectuado fue en el número de aciertos en la identificación de dermatofitos entre los distintos métodos, los resultados se presentan a continuación:

Tabla No. 10
Comparación de la Identificación de Dermatofitos
Estudio - Laboratorio IGSS

Espece de Dermatofito	Identificación Estudio	Identificación IGSS
<u>T. rubrum</u>	95	103
<u>T. mentagrophytes</u>	28	20
<u>M. gypseum</u>	4	4
<u>M. canis</u>	4	4
<u>E. floccosum</u>	1	1

Se realizó una prueba de Z para comparar los métodos tradicionales con la batería propuesta.

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Se estudiaron un total de 132 cepas provenientes del mismo número de cultivos de muestras clínicas tomadas a pacientes adultos.

Según la hipótesis de este trabajo más del 60 % de las dermatofitosis son causadas por T. rubrum, lo cual fue confirmado al encontrar como agente etiológico más frecuente a T. rubrum con un 72 %, seguido de T. mentagrophytes con un 21.2 %, luego M. gypseum y M. canis ambos con un 3 % cada uno y por último E. floccosum con un 0.8 %.

Durante la identificación realizada, utilizando la bacteria propuesta se determinó que ésta es de gran utilidad en la identificación de los dermatofitos del género Trichophyton, aunque para el género Microsporum y Epidermophyton también se utilizó, pero los dermatofitos de estos géneros por su morfología macroscópica y microscópica típica se identificaron mejor y no hubo error en la misma.

Todas las muestras fueron purificadas en agar Micosel para evitar la contaminación por bacterias y hongos levaduriformes.

El medio de cultivo DTM, se utilizó con el propósito de establecer su utilidad ya que la literatura reporta que en este medio crecen únicamente dermatofitos.

Sobre agar DTM todos los dermatofitos secretan metabolitos básicos (iones amonio), derivados de la utilización de la peptona, lo que provoca un cambio de pH en el medio. El indicador es rojo de fenol por lo que ésta variación en el pH se observa con un cambio de color que va de amarillo a rojo. En los resultados obtenidos, el DTM varió en un 94,3 % de las cepas de género Trichophyton, lo que significa que hubo un 5,7 % de cepas que no secretan los iones amonio (metabolitos básicos) o secretan en una cantidad escasa no detectada por el medio. Esto ocurrió principalmente en las cepas de T. rubrum.

Todas las especies identificadas de los otros géneros produjeron cambio en el DTM.

Se observó en los resultados, que se producen reacciones bien definidas al utilizar la batería propuesta, observándose diferencias significativas y fundamentales entre T. rubrum y T. mentagrophytes.

La actividad enzimática de T. rubrum en presencia de caseína produce iones amonio derivados de ésta, dicha actividad es parcial o totalmente suprimida por la presencia de glucosa en los medios de cultivo ECP-MG Y ECP-CG, es por ésto que se obtuvo resultados negativos (no alcalinización de los medios) en la mayoría de las cepas identificadas como dicho dermatofito, falsos resultados se pueden obtener debido a que la supresión enzimática de la actividad amonificante se termina a los de 10 días, tiempo en el cual presumiblemente una alta

proporción de glucosa es consumida, y T. rubrum puede alcalinizar o provocar un cambio de pH en los medios con tres días más de crecimiento.

T. mentagrophytes en todas sus variedades biológicas no sufre supresión enzimática, debido a la presencia de glucosa, o sea en presencia de caseína se producen iones amonio derivados de ésta, por lo que alcalinizaron los medios BCF-CG Y BCF-MG que contiene caseína. Por lo anterior es que este dermatofito produjo reacciones positivas (alcalinizaron) en los medios de cultivo BCF-CG y BCF-MG.

En el presente estudio se utilizó además de la observación macroscópica y microscópica la prueba de Urea reportando una cepa de T. mentagrophytes como T. rubrum.

Como se pudo observar, utilizando el agar Urea se identificó con un 99.2 % de confianza a los dermatofitos del género Trichophyton, por lo que se debería utilizar como medio de identificación rutinario.

Los aislamientos de T. rubrum y T. mentagrophytes produjeron un pigmento rojo en los medios de BCF-CG Y BCF-MG a los 7 días de incubación a 27°C. Se observó mejor en el medio BCF-CG debido a que éste es más claro que el BCF-MG y que en este último la presencia de la leche precipitada oscurece parcialmente el tubo y se dificulta la observación. La producción de este pigmento es de mucha importancia y se puede tomar como una prueba más de diferenciación.

Durante la realización del estudio se encontraron 7 ce-

pas que dieron resultado dudoso en la batería, por lo que se purificaron y se repitieron las pruebas; las que finalmente permitieron la identificación como L. mentagrophytes y L. rubrum.

Comparando los resultados finales de la identificación preliminar y la batería propuesta hubo 7 cepas que no coincidieron (ver tabla 9). Esta variación pudo deberse a lo siguiente: no se utiliza agar urea de rutina, sólo se realiza el análisis de una manera visual, por el exceso de trabajo, no se utiliza agar urea de rutina o al utilizarlo se hace la lectura a los 7 días y lo que recomienda la literatura es hacer una lectura a los 7 días y otra a los 10 días. La variación ocurrió en la identificación de 6 cepas de L. mentagrophytes que fueron reportadas como L. rubrum así como una cepa de L. rubrum que fue reportada como L. mentagrophytes.

Algo importante que se encontró fue que de las 7 cepas que no coincidieron en la comparación de la identificación del Micólogo con la batería propuesta, 4 fueron de las cepas catalogadas como dudosas que dieron problema en la identificación y que fueron controladas. Posiblemente hubo error en lo siguiente: al preparar los medios BCP-CG y BCP-MG la cantidad de indicador púrpura de bromocresol no fue la adecuada, hubo contaminación bacteriana por no haber utilizado un antibacteriano, la cantidad de glucosa no fue la adecuada, la cepa secreta en poca cantidad de metabolitos básicos (derivados de la caseína), o hubo un error en la interpretación.

Otro aspecto importante observado fue el análisis macroscópico realizado, así, hubo cepas de T. rubrum que mostraron un color blanco, otras amarillo de aspecto algodonoso y en la producción de pigmento en agar micosel observamos que 51.6 % produjo un pigmento café, el 33.7 % un pigmento amarillo y el 14.7 % un pigmento vino tinto. Se observó que el color del pigmento no es un patrón específico en T. rubrum ya que pueden haber variantes (genéticas) no estudiadas, que en algún momento pueden dar confusión por ser cepas no comunes de este mismo dermatofito.

En T. mentagrophytes se observó que en agar micosel, el 50 % de las colonias presentaron un color blanco y aspecto algodonoso, el otro 50 % un color blanco rosáceo y aspecto pulverulento.

En M. gypseum se observó que en agar micosel, el 100 % de las colonias presentaron un color café claro y un aspecto pulverulento.

En M. canis se observó que en agar micosel, el 100 % de las colonias presentaron un color blanco y aspecto algodonoso.

E. floccosum en la única cepa identificada su colonia se presentó de color amarillo verdoso, escaso micelio aéreo y surcos radiales.

La comparación efectuada entre los métodos estudiados, fue en el número de aciertos en la identificación obteniendo como resultado un 93.9 % de aciertos, lo que significa que se

está reportando el agente etiológico correcto en los lugares que cuentan con profesionales especializados en el área de la micología.

Resultados de las pruebas de diferenciación estuvieron de acuerdo con los resultados propuestos por la literatura.

En general las pruebas propuestas BCP-MG, BCP-CG, Urea, cultivo en lámina y morfología macrascópica facilitaron la identificación correcta de *T. rubrum* y *T. mentagrophytes*.

La identificación de otras especies de dermatofitos, según lo reporta la literatura, también es facilitada al utilizar la batería propuesta, aunque en el estudio no se identificaron cepas distintas a las tradicionales.

En este estudio se utilizó la Batería propuesta como método de referencia para determinar la etiología de las dermatofitosis.

X. CONCLUSIONES

- A. Utilizando el agar Urea como prueba rutinaria se obtiene una identificación confiable.
- B. Más del 60 por ciento de las dermatofitosis en Guatemala son causadas por I. rubrum.
- C. El 100 por ciento de cepas identificadas como I. rubrum fueron ureasa negativo y no alcalinizaron los medios de BCP-CG y BCP-MG.
- D. El 100 por ciento de cepas identificadas como I. mentagrophytes fueron ureasa positivo y alcalinizaron los medios de BCP-CG y BCP-MG.
- E. El 100 por ciento de cepas identificadas como I. rubrum mostraron un crecimiento restringido en los medios de BCP-CG y BCP-MG.
- F. El 100 por ciento de cepas identificadas como I. mentagrophytes mostraron un crecimiento profuso en los medios de BCP-CG y BCP-MG.
- G. I. rubrum produce en agar micosel un pigmento café, amarillo o vino tinto.
- H. El 72.6 por ciento de cepas identificadas como I. rubrum mostraron la producción de un pigmento café rosáceo en agar BCP-CG, después de 6 días de incubación a 27°C.

- I. La batería propuesta es altamente eficaz y facilita la identificación de T. rubrum y T. mentagrophytes y otras especies.
- J. No todos los dermatofitos dan positivo el agar DTM (secretan metabolitos básicos) ya que hubo cepas de T. rubrum que mostraron crecimiento pero no cambio de color.
- K. La lectura de la prueba de urea debe realizarse a los 10 días.
- L. El principal problema de identificación que hay entre T. rubrum y T. mentagrophytes es la no utilización de agar urea y cuando se utiliza no se lee en el tiempo correcto.
- M. La comparación de los resultados de la identificación realizada en las unidades del IGSS y el estudio fué del 93.9 % de aciertos, lo que significa que se está reportando al agente etiológico correcto, en los lugares que cuentan con profesionales especializados en el área de la micología.

XI. RECOMENDACIONES

- A. Realizar estudios comparativos utilizando un número mayor de cepas y que éstas pertenezcan solamente al género Trichophyton.
- B. Llevar a cabo estudios tendientes a comprobar la eficacia de los actuales tratamientos utilizados, ya que se ha observado cierta resistencia de los mismos.
- C. Efectuar estudios similares a éste, utilizando muestras clínicas directamente en los medios usados (BCF-CG, BCP-MG, DTM).
- D. Estimular para que estudios similares se lleven a cabo, en el diagnóstico de otros hongos.
- E. Utilizar el método propuesto, para poder identificar las cepas con características no comunes.
- F. Implementar el uso de la baterías propuesta para el diagnóstico de la dermatofitosis en instituciones de salud que actualmente atienden pacientes con afecciones en piel, pelo y uñas.

XII. REFERENCIAS

- 1.- Al-Doory Y. Laboratory Medical Mycology. Washington: Lea & Febiger, 1980. x + 4109p.
- 2.- Amos B, Joklid W, Willet H. Microbiología de Zinsser. 18a. ed, Buenos Aires: Panamericana, 1986. 1454p. (p 1325 -1333).
- 3.- Logemann H. Incidencia dermatofítica en Guatemala, revisión de 4,862 pacientes. Guatemala: Memorias del VI Congreso Centroamericano y II Nacional de Microbiología, 1983; C:41
- 4.- Weitzman J, et al. The genus *Arthroderma* and its later synonym *Nannizzia*. Mycotaxon 1986; 25:505-518.
- 5.- Currah RS. Taxonomy of the Onygenales: arthrodermataceae, Gymnoascaceae, Myxotrichaceae and Onygenaceae. Mycotaxon 1985; 24:211-116.
- 6.- Ajello L. Geographic distribution and prevalence of the dermatophytes. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1960; 89:30-38.
- 7.- Morales ZA. Prevalencia de micosis superficiales y cutáneas en niños de 0 a 8 años que asisten a las cinco casas del niño y al hogar temporal Elisa Martínez. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1989. 49p.
- 8.- Lynch MJ, et al. Métodos de Laboratorio. 2a. ed. México: Interamericana, 1988. 1522p.
- 9.- Delacretaz J, Ducel G, Gregorio D. Color Atlas of Medical Mycology. Berna: Ham Publishers, 1976. xii + 208p (36-40, 70-71).
- 10.- Conant NF, Smith RD. Micología Médica. 3a. ed. Cochero F., trad. México: Interamericana, 1972. xi + 592p. (p. 252-278, 426-490).

- 11.- Emmons CW, et al. Medical Mycology. 3th ed. Washington: Lea & Febiger, 1977, 592p. (117-136).
- 12.- Rebell G, Taplin D. Dermatophytes. Their recognition and identification. 2nd ed. Miami. University of Miami Press, Coral Gables, Fla. 1970, 79p. (13-69).
- 13.- Rippon JW. Medical Mycology; The pathogenic Fungi and Pathogenic Actinomycetes. Philadelphia: WB Saunders, 1982. xvii + 842p. (p. 140-248).
- 14.- Conant NF. Studies on the genus *Microsporum*. I. Cultural studies. Arch. Dermatol 1936; 33:665-683.
- 15.- Ajello L. A taxonomic review of the dermatophytes and related species. Sabouraudia 1968; 6:147-159.
- 16.- Florian E, Galgoczy J. *Keratomices longifusus* sp. nov. from Hungary. Mycopathol 1964; 24:73-80.
- 17.- Boreli D. *Medios caceros* para micología. Arch. Venez. Med. Trop. Parasitol. Med 1962; 4:301-310.
- 18.- Padhye AA, Young CN, Ajello L. Hair perforation as a diagnostic criterion in the identification of *Epi-dermophyton*, *Microsporum* and *Trichophyton* species, in superficial cutaneous and subcutaneous infections. Scientific publication. Washington DC: Pan American Health Organization. 1980; 11:109-114.
- 19.- Vanbreuseghem R, Zaman R. Contribution an identification du *Trichophyton soudanense* et du *Trichophyton ferrugineum*. Ann. Soc. Belge Med. Trop 1963; 3 259-270.
- 20.- Weitzman I, et al. Superficial and cutaneous infections caused by molds: dermatomycoses, In BB. Wentworth, Diagnostic procedures for mycotic and parasitic infections, 7th ed, Washington DC: American Public Health Association, 1988; 25:505-578.

- 21.- Padhye AA, et al. Ascocarp production by Arthroderma and Nannizzia species on keratinous and non-keratinous media. Sabouraudia 1973; 11:109-114.
- 22.- Weitzman I, Silva-Hutner M. Non-keratinous agar media as substrates for the ascigerous state in certain members of the gymnoascaceae pathogenic for man and animals. Sabouraudia 1967; 5:335-339.
- 23.- Kane J, Sigler L, Summerbell RC. Improved procedures for differentiating Microsporum persicolor from Trichophyton mentagrophytes. J. Clin. Microbiol 1987; 25:2449-2452.
- 24.- Smith J, et al. Trichophyton equinum var. autrophicum: its characteristics and geographic distribution. Sabouraudia 1968; 6:296-304.
- 25.- Kane, J, et al. Trichophyton raubischekii, sp. nov. Mycotaxon 1981; 13: 259-266.
- 26.- Young CN. Range of variation among isolates of Trichophyton rubrum. Sabouraudia 1972; 10:164-170.
- 27.- Kane J. Trichophyton fischeri sp, nov. a saprophyte resembling Trichophyton rubrum. Sabouraudia 1977; 15:231-241.
- 28.- Kane J, Smitka C. Early detection and identification of Trichophyton verrucosum. J. Clin. Microbiol 1978; 8:740-747.
- 29.- Robinson BE, Padhye AA. Collection, transport and processing of clinical specimens. Diagnostic procedures for mycotic and parasitic infections, 7th ed. Washington DC: American Public Health Association, 1988 2:118-126.
- 30.- Taplin D. The use of gentamicin in mycology. J. Invest Dermatol. 1965; 45:549-550.

- 31.- Kane J, Fischer JB. The effect of sodium chloride on the growth and morphology of dermatophytes and some other keratolytic fungi. *Can. J. Microbiol* 1975; 21:742-749.
- 32.- Kaminski GW. The routine use of modified Borellis lactritmel. *Mycopathol* 1985; 91: 57-59.
- 33.- Ajello L, Georg LK. In vitro cultures for differentiating between atypical isolated of Trichophyton mentagrophytes and Trichophyton rubrum. *Mycopathol Mycol. Appl*, 1957; 8:3-7.
- 34.- Georg LK, Camp LB. Routine nutritional tests for the identification of dermatophytes. *J. Bacteriol* 1957; 74:113-121.
- 35.- Summerbell RC, Rosenthal SA, Kane J. Rapid method for differentiation of Trichophyton rubrum, Trichophyton mentagrophytes, and related dermatophyte species. *J. Clin. Microbiol* 1988; 26:2279-2282.
- 36.-Rosenthal SA, Sokolsky H. Enzymatic studies with pathogenic fungi. *Dermatol Int* 1965; 4:72-79.
- 37.- Kane J, Fischer JB. The differentiation of Trichophyton rubrum from T. mentagrophytes by use of Christensen urea broth. *Can. J. Microbiol* 1976; 17:911-913.
- 38.- Ajello L, et al. Microsporum persicolor infection in the United States. *Arch. Dermatol* 1973; 108:561-562.
- 39.- Alsop J, Prior AP. Ringworm infection in a cucumber greenhouse. *Br. Med. J* 1961; 1:1081-1083.
- 40.- Taplin D, et al. Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM). *Arch. Derm* 1969; 99:203-209.
- 41.- Mertz WG, et al. Media with pH indicator for the isolation of dermatophytes. *Arch. Derm* 1970; 102:545-547.

- 42.- Allen AM. et al. Evaluation of two new color indicator media for diagnosis of dermatophytosis. Arch. Derm. 1970; 102:68-70.
- 43.- Weitzman I, Rosenthal SA. Studies in the differentiation between Microsporum ferrugineum and Trichophyton soudanense. Mycopathol 1983; 64:95-101.

XIII. ANEXOS

X. 1 PREPARACION DE REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

AZUL DE LACTOFENOL

Cristales de fenol	20 grs
Acido láctico	20 grs
Azul de algodón (Foirrier's blue)	0.05 grs
Agua destilada	20 ml

Medios de cultivo:

Agar selectivo para Dermatofitos (DTM):

Composición (g/litro)

Peptona de harina de soya	10.0
D(+)-Glucosa	10.0
Cicloheximida	0.5
Sulfato de Gentamicina	0.1
Clorotetraciclina	0.1
Rojo de fenol	0.2
Agar-agar	17.0

Disolver 38 g/litro, esterilizar en autoclave (15 minutos a 121°C), verter en placas o tubos inclinados, pH final 5.5 +/- 0.1.

Las placas con medio de cultivo son claras y de color amarillento.

Agar Sabouraud:

Glucosa	40 grs
Peptona	10 mgs
Agar	20 grs

Disolver por calentamiento y autoclavar a 121°C por 15 minutos.

Colocar en placas o tubos inclinados.

Agar Micosel o Micobiotic:

Además de los componentes de agar Sabouraud, adicionar:

Cicloheximida	0.4 grs
Cloranfenicol	0.05 grs

autoclavear a 121°C por 15 minutos y colocar en placas o tubos inclinados.

Agar Urea de Christensen:

Composición en g/litro

Peptona de Gelatina	1.000
Dextrosa	5.000
Cloruro de Sodio	2.000
Urea	20.000
Rojo de fenol	0.012

Esterilizar: tubos pequeños con rosca, agua destilada (un litro). Pesar en papel parafinado 38 grs del medio, agregar 1000 ml de agua.

Esterilizar por filtración y servir en los tubos estériles 4 ml del medio con una pipeta o succionador estéril.

Agar BCP-MG (glucosa y leche)

Composición en g/litro de agua destilada

Leche en polvo libre de grasas	80.00
D-Glucosa	40.00
Agar-agar	30.00
Solución alcohólica al 1.6% de Púrpura de Bromocresol	2.00 ml
pH final 6.8	

Disolver por calentamiento y esterilizar a 121°C por 15 minutos. Colocar en placa o en tubo inclinado.

Agar BCP-CG (caseína y glucosa)

Composición en g/litro de agua destilada

D-Glucosa	40.00
Caseína cristalina (higroscópica)	2.50
Agar-agar	30.00
Solución alcohólica al 1.6% de Púrpura de Bromocresol	2.00 ml
pH final 6.8	

Disolver por calentamiento y esterilizar a 121°C por 15 minutos. Colocar en placa o tubo inclinado.

X. 2 AGRUPACION DE DERMATOFITOS BASADO EN SU HABITAT
NATURAL

ANTROPOFILICOS

<u>E. floccosum</u>	<u>T. raubitschekii</u>	<u>T. gourvilli</u>
<u>M. audouinii</u>	<u>T. rubrum</u>	<u>T. megninii</u>
<u>M. ferruginium</u>	<u>T. schoenleinii</u>	<u>T. violaceum</u>
<u>T. concentricum</u>	<u>T. eoudanense</u>	<u>T. yaoundei</u>
<u>T. tonsurans</u>		
<u>T. mentagrophytes var. interdigitale</u>		

GEOFILICOS

<u>M. falvum</u>	<u>M. gypseum</u>	<u>M. nanum</u>
<u>M. persicolor</u>	<u>M. praecox</u>	<u>M. racemosum</u>
<u>M. vanbreuseghemii</u>		

ZOOFILICOS

<u>M. equinum</u>	<u>M. gallinae</u>	<u>M. equinum</u>
<u>T. simii</u>	<u>T. verrucosum</u>	
<u>M. canis var. canis</u>		
<u>M. canis var. distortum</u>		
<u>T. mentagrophytes var. erinacei</u>		
<u>T. mentagrophytes var. mentagrophytes</u>		

Rippon JW. Medical Mycology; The pathogenic Fungi and Pathogenic Actinomycetes. Filadelfia: WB Saunders, 1982. xvii + 842p. (p. 140-248).

X. 3 CRECIMIENTO Y VIRAJE (ALCALINIDAD) EN DTM

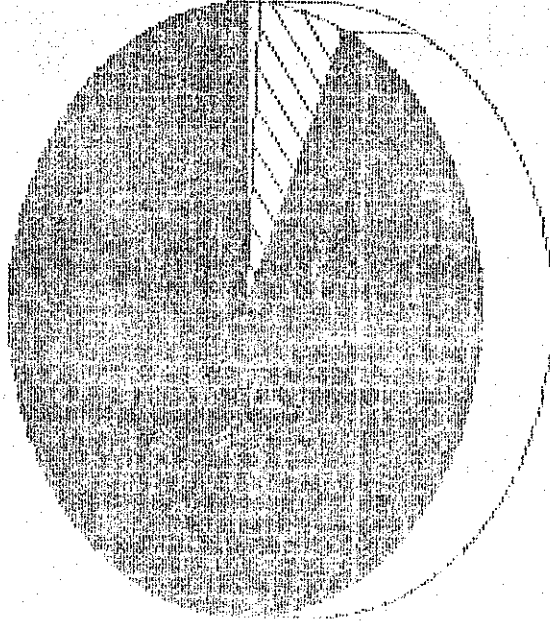
Especie de Dermatofito	CreCIMIENTO	Viraje a rojo
<u>T. mentagrophytes</u>	Buena	Positivo
<u>T. rubrum</u>	Buena	Positivo
<u>T. gallinae</u>	Buena	Positivo
<u>T. raubitschekii</u>	Buena	Positivo
<u>M. canis</u>	Buena	Positivo
<u>Aspergillus niger</u>	Nulo	Negativo
<u>Penicillium spp</u>	Nulo	Negativo

Taplin D, et al. Isolation and recognition of dermatophytes on a new medium (DTM). Arch. Derm 1969; 99:203-209.

1950

1951

1952



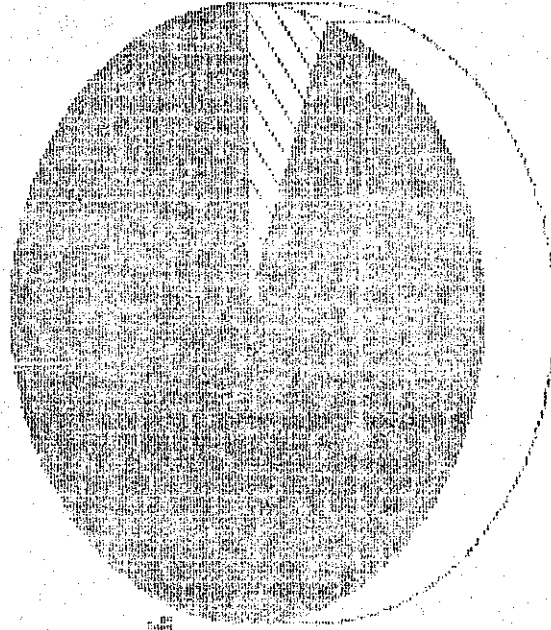
1953

1954

1955

GRAFICA No. 2

CAMBIO EN LA COLOCACION EN EL MERCADO DE TRABAJO POR EL GOBIERNO TRABAJADOR

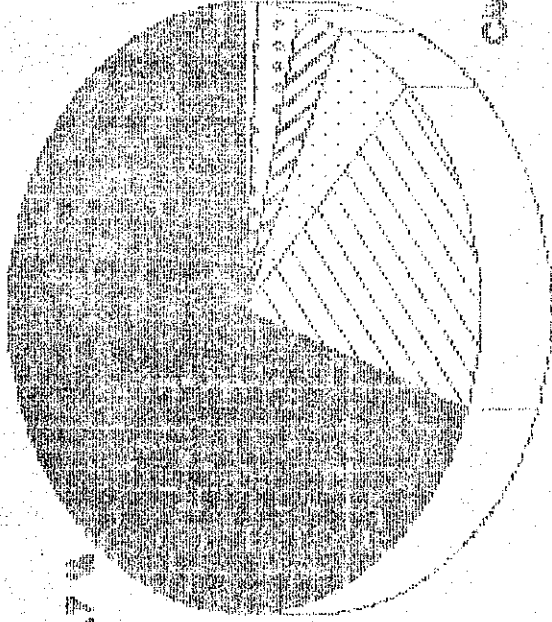


1970

1975

OFICINA No. 3
MUNICIPIO DE LA ESPERANZA
LA ESPERANZA PROYECTO

Y. ESPERANZA No. 7.4



Y. ESPERANZA No. 7.4

Y. ESPERANZA No. 7.4

Y. ESPERANZA No. 7.4

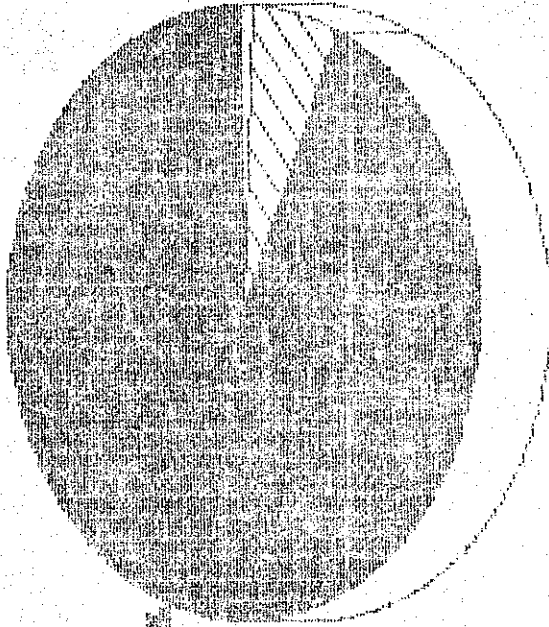
Y. ESPERANZA No. 7.4

Y. ESPERANZA No. 7.4

CARGA No. 4

COMANDO EN JEFE FUERZA ARMADA NACIONAL

MAIPO Y MACAO 300000

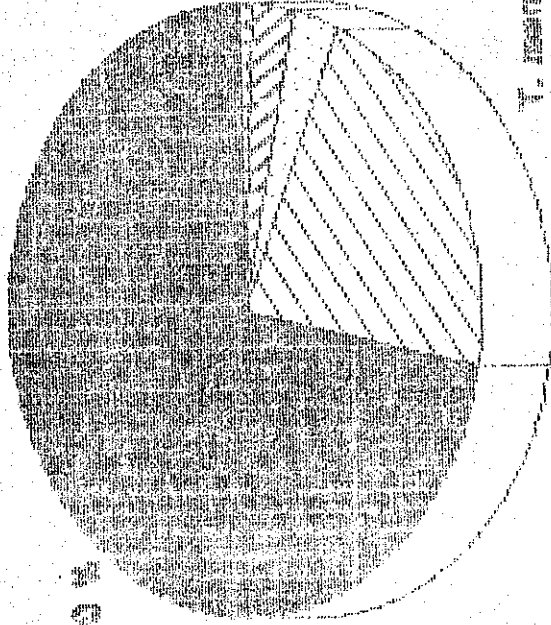


MAIPO Y MACAO 300000

COMANDO EN JEFE FUERZA ARMADA NACIONAL

MAIPO Y MACAO 300000

GRAND
BANK OF THE
LAKES AND RIVERS



ESTABLISHED 1858

1000000000

1000000000

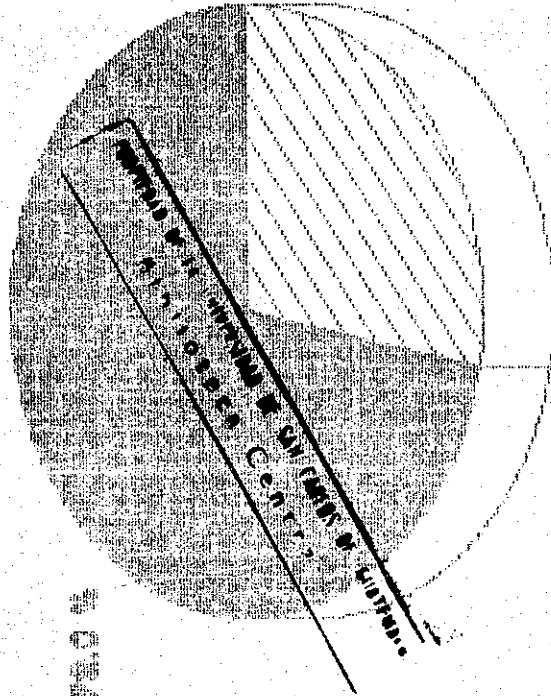
1000000000

1000000000

LIBRARY No. 6

UNIVERSITY OF CHAGUAYTO C.A. P.O. BOX 100

P.O. BOX 100, CHAGUAYTO, CHAGUAYTO



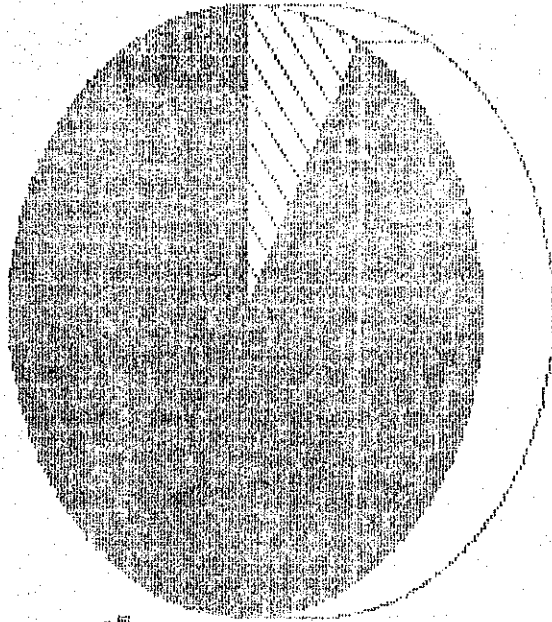
LIBRARY No. 6

LIBRARY No. 6

UNIVERSITY OF CHAGUAYTO C.A. CHAGUAYTO
BIBLIOTECA Cen.

GRAPH No. 7

PRODUCTION OF FERTILIZER IN AGRICULTURE
FOR FERTILIZERS IN AGRICULTURE

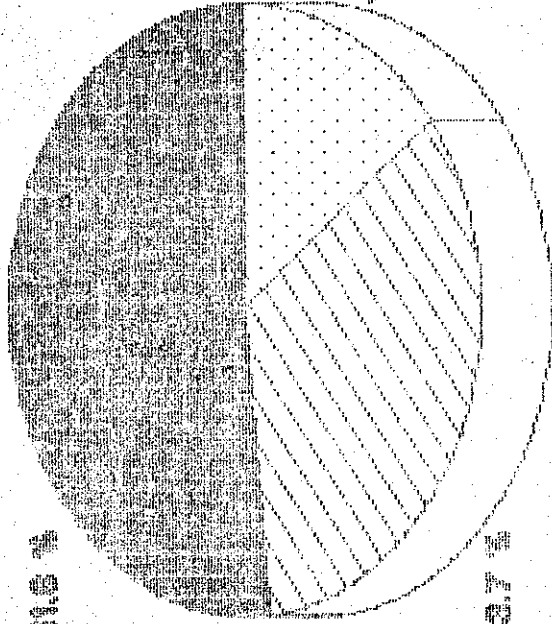


1950-1951

1950-1951

GRAPH No. 9

THE PLANTING PRODUCTION MODEL



1975-76

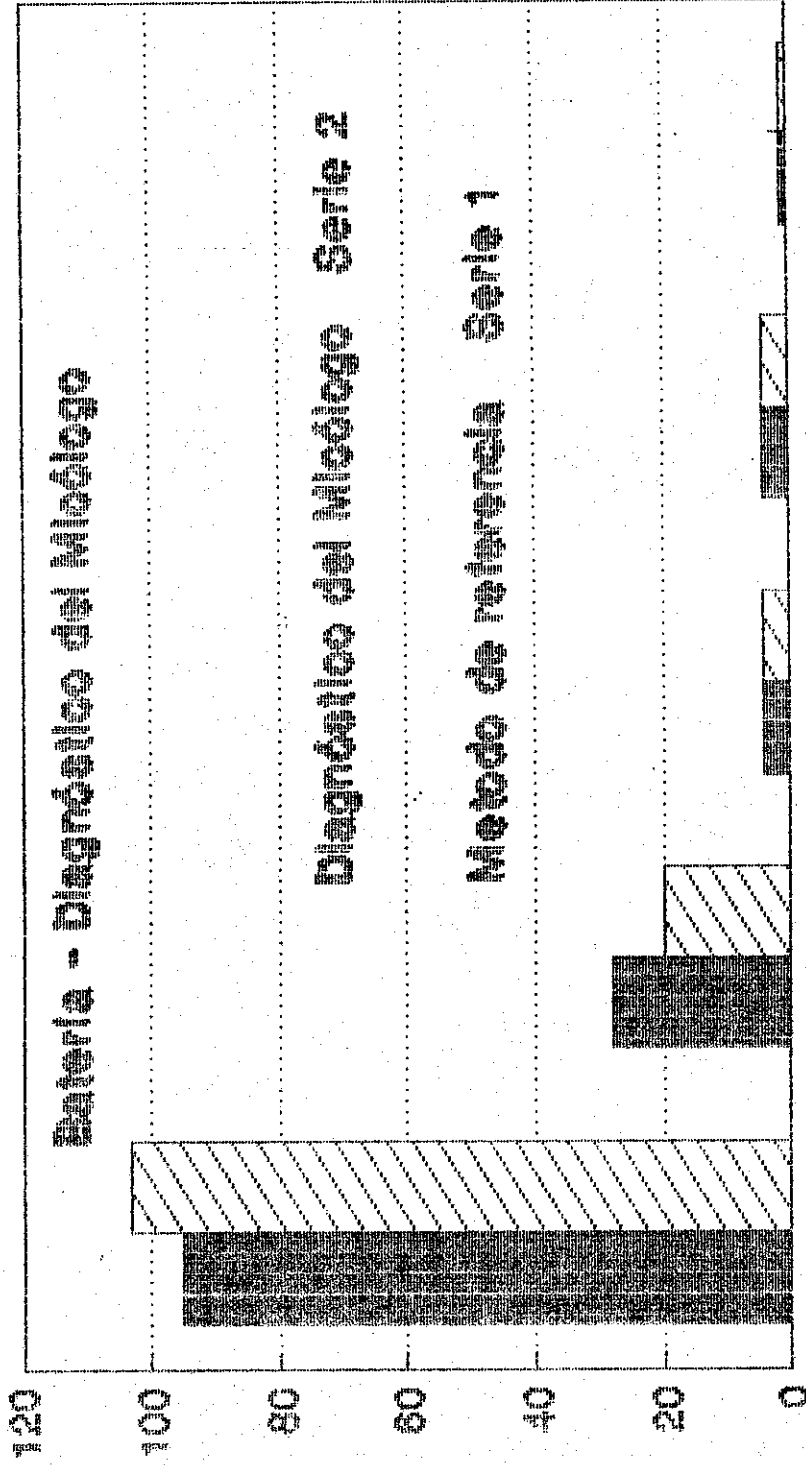
1976-77

1977-78

Gráfica No. 9

Nivel de contaminación

No. de copias



T. rubrum T. montagrophytes M. gypsum M. canis E. floccosum

Series 1 Series 2