

F. Javier Cabañes Saenz

12.1. Introducción

Los dermatofitos son un grupo de hongos relacionados entre sí que presentan la capacidad de invadir los tejidos queratinizados (piel, pelo, uñas) del hombre y de los animales, produciendo una enfermedad que se denomina dermatofitosis o, más comúnmente, tiña.

Si bien no se conoce la fase sexual (perfecta o teleomorfo) de la mayoría de estos hongos, se ha demostrado que son ascomicetos por distintas técnicas. Taxonómicamente se engloban en la división Ascomycota y pertenecen a la clase Plectomycetes, orden Onygenales y familia Arthrodermataceae [1]. Actualmente, un único género denominado *Arthroderma* incluye todas las especies de teleomorfos.

La taxonomía de los dermatofitos y su identificación rutinaria en el laboratorio de Micología clínica se basa fundamentalmente en criterios morfológicos, macro y microscópicos, relacionados con la fase de reproducción asexual (fase imperfecta, anamorfo, mitospórico) de estos hongos. Los géneros que agrupan a las especies productoras de dermatofitosis son: *Epidermophyton*, *Microsporium* y *Trichophyton*.

fitosis (verdaderos dermatofitos). Estas especies no se suelen aislar con la misma frecuencia en todos los laboratorios, ya que existe una clara variabilidad climática, geográfica, socioeconómica etc., que origina cambios en los patrones de distribución de los agentes etiológicos de las dermatofitosis. Algunas especies son de distribución geográfica limitada: *T. concentricum* se encuentra fundamentalmente en Oceanía o *T. soudanense* en África. No obstante, los flujos de emigración pueden hacer ocasionalmente frecuentes los aislamientos de algunas especies en países en los que no se aíslan habitualmente [2].

Otras especies se distribuyen de forma más o menos regular por todo el mundo. En efecto, tan sólo 10 especies (Tabla 12.1) se aíslan con una frecuencia elevada en la mayoría de los laboratorios de Micología clínica humana, representando el 99% de los cultivos positivos. De estas, únicamente seis especies: *E. floccosum*, *M. canis*, *M. gypseum*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *T. tonsurans*, pueden llegar a ser las responsables de más del 90% de los casos. Algunos de estos dermatofitos (ej. *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*) son en realidad complejos de especies ("species complex") que incluyen distintas variedades o incluso grupos de especies.

12.2. Especies más habituales

En la actualidad, aproximadamente unas 40 especies se encuentran incluidas en estos géneros. El número de especies se reduce a unas 30 cuando se considera únicamente a las productoras de dermatofitosis (verdaderos dermatofitos).

Tabla 12.1. Dermatofitos aislados más frecuentemente del hombre.

<i>Epidermophyton</i>	<i>E. floccosum</i>
<i>Microsporium</i>	<i>M. canis</i> <i>M. gypseum</i> <i>M. audouinii</i>
<i>Trichophyton</i>	<i>T. rubrum</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>T. tonsurans</i> <i>T. verrucosum</i> <i>T. violaceum</i> <i>T. schoenleinii</i>

¿Todas las especies incluidas en estos géneros son dermatofitos?

Existen especies que presentan una morfología y situación taxonómica común con los dermatofitos, pero sin embargo no se han descrito como agentes etiológicos de dermatofitosis o sus descripciones como tales son dudosas. En este caso no son consideradas como verdaderos dermatofitos y se les reservan denominaciones como "tipo dermatofito", ("*dermatophyte-like fungi*"), dermatofitoides o congéneres de los dermatofitos según distintos autores. Ejemplos de estas especies son: *Epidermophyton stockdaleae*, *Microsporium cookei* y *Trichophyton (Keratinomyces) ajelloi*.

12.3. Distribución en el hombre y en los animales

No todos los dermatofitos se aíslan con la misma frecuencia en las distintas localizaciones que pueden presentar las dermatofitosis en el hombre. En la [Tabla 12.2](#) se incluyen las principales especies según la localización o tipo, indicando su denominación. Aunque otras especies no incluidas en esta tabla pueden participar en estos procesos, conocer la distribución de las más frecuentes puede ser de utilidad a la hora de realizar la identificación.

Algunas de estas especies se han especializado en producir dermatofitosis en el hombre y se aíslan exclusivamente de muestras humanas (*T. rubrum*, *E. floccosum*, *T. tonsurans*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, ...), denominándose especies antropófilas. Estas en muy raras ocasiones se aíslan como causantes de dermatofitosis en los animales. No obstante, el hombre puede presentar infección por especies zoófilas que, característicamente, producen dermatofitosis en los animales (*M. canis*, *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*, *T. verrucosum*). En la [Tabla 12.3](#) se relacionan los dermatofitos que más frecuentemente se aíslan de los animales domésticos [3]. Otras especies que presentan su hábitat normal en los suelos (denominadas geófilas, ej. *M. gypseum*) también pueden producir procesos patológicos, tanto en el hombre como en los

animales.

Tabla 12.3. Principales dermatofitos en diferentes especies animales.

Animal	Dermatofitos
Gatos y perros	<i>M. canis</i> Otras: <i>T. mentagrophytes</i> <i>M. gypseum</i> <i>M. persicolor</i>
Caballos	<i>T. equinum</i> Otras: <i>M. canis</i> <i>M. equinum</i> <i>M. gypseum</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>T. verrucosum</i>
Vacas, cabras y ovejas	<i>T. verrucosum</i> Otras: <i>M. canis</i> <i>M. gypseum</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>T. equinum</i>
Conejos	<i>T. mentagrophytes</i> Otras: <i>M. canis</i>
Cerdos	<i>M. nanum</i> Otras: <i>M. canis</i> <i>M. gypseum</i> <i>T. mentagrophytes</i> <i>T. verrucosum</i>
Aves de corral	<i>M. gallinae</i> Otras: <i>T. simii</i>

©2001 Revista Iberoamericana de Micrología - ISBN: 84-607-3050-6

Tabla 12.2. Dermatofitosis humanas. Principales agentes etiológicos según tipo y/o localización.

Tinea capitis: cuero cabelludo, cejas, pestañas.

- *T. tonsurans*, *M. canis*, *T. violaceum*, *M. audouinii*

Tinea corporis: piel lampiña del tronco, cuello, brazos, piernas y dorso de las manos y los pies.

- *T. rubrum*, *E. floccosum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *T. verrucosum*

Tinea cruris: ingles, perineo, región perianal.

- *T. rubrum*, *E. floccosum*, *T. mentagrophytes*

Tinea unguium: uñas.

- *T. rubrum*, *E. floccosum*, *T. mentagrophytes*

Tinea faciei: piel glabra de la cara.

- *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*.

Tinea barbae: barba y bigote.

- *T. mentagrophytes*, *T. violaceum*, *T. verrucosum*, *T. rubrum*

***Tinea pedis* (pie de atleta)**: planta del pie, dedos y región interdigital.

- *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *E. floccosum*

Tinea manuum: región interdigital y palmas de las manos.

- *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *E. floccosum*

***Tinea favosa* (favus)^a**: cuero cabelludo y piel glabra.

- *T. schoenleinii*, *T. mentagrophytes* var. *quinckeanum*

Tinea imbricata: (Tokelau, circinada tropical)^b

- *T. concentricum*.

a: Delimitada geográficamente fundamentalmente a Europa, Asia y África.

b: Delimitada geográficamente a determinadas islas del Pacífico en Oceanía, Sudeste asiático y determinadas zonas de México, América Central y Sudamérica.

12.4. Identificación mediante su morfología

12.4.1. Características macroscópicas

A partir de los cultivos realizados en medios selectivos para el aislamiento de dermatofitos (medios tipo SDA+ antibiótico+ cicloheximida, o DTM) (Capítulo 3) se pueden identificar las especies más frecuentes. Los dermatofitos son hongos hialinos que forman colonias que presentan en general colores claros, con gamas de color restringidas a tonos blanquecinos, amarillentos y marronáceos (Figura 12.1). En pocas ocasiones se observan colonias con colores oscuros u otras tonalidades (azules, verdosas, negras, etc.) (Figura 12.2). Si bien la coloración de las colonias y su textura puede ayudar a identificar estas especies, las características microscópicas son las que determinan su identificación en la mayoría de los casos.

12.4.2. Características microscópicas

Existen diferentes estructuras microscópicas a tener en cuenta para la identificación de estos hongos (clamidosporas, distintos tipos de hifas, etc.). No obstante, la forma y distribución de macroconidios y microconidios es fundamental a la hora de definir los géneros y especies (Figura 12.3). Por este motivo, para utilizar la clave de identificación que se adjunta (pág. 12-5), es preciso la caracterización de estas estructuras en la cepa que se pretende identificar.

Para determinar la presencia de estas estructuras a partir del cultivo, se realiza una preparación entre porta y cubre con un pequeño fragmento de una de las colonias con el fin de observarla al microscopio. Se aconsejan líquidos de montaje tipo lactofenol de Amman, lactofenol azul de algodón o lactofucsina (Capítulo 14). En algunos casos, especialmente en el primocultivo y en caso de utilizar medios de cultivo con actidiona (incorporada en la mayoría de medios selectivos para dermatofitos), es difícil observar la formación de estos conidios. O bien no presentan la forma característica, o simplemente no se han formado. En este caso se deberá realizar paralelamente un subcultivo en un medio carente de inhibidores (tipo SDA, PDA) y/o un microcultivo con el fin de observar más adecuadamente la conidiogénesis (Capítulo 13).

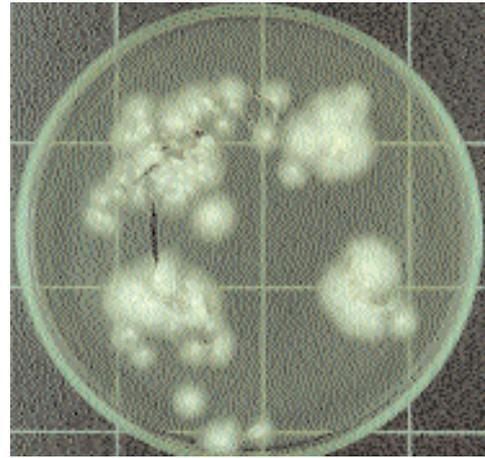


Figura 12.1. Primocultivo de una muestra de dermatofitosis. Se observan colonias de *T. mentagrophytes* en cultivo puro desarrollándose sobre los pelos inoculados.

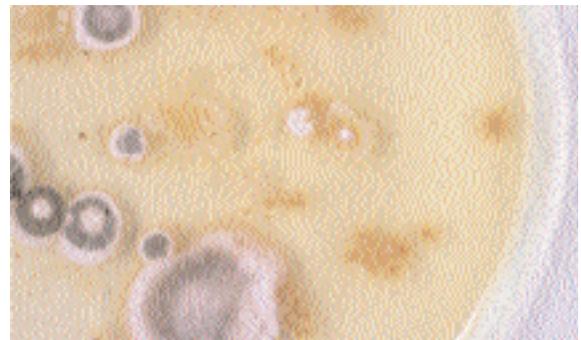


Figura 12.2. Primocultivo de una muestra de dermatofitosis. Se observan colonias amarillentas (dermatofitos) y otras de diversos colores más oscuros (hongos contaminantes).

12.5. Identificación mediante técnicas adicionales

Existen especies que no forman, o lo hacen raramente, macroconidios y/o microconidios (ej. *T. violaceum*). Por otra parte, algunas cepas pertenecientes a determinadas especies identificables morfológicamente por producir algún tipo de estas estructuras, no las suelen producir. Así, por ejemplo, aislamientos de *T. mentagrophytes* o *T. rubrum* pueden no formar macroconidios.

Cuando existen dificultades en la identificación de estos hongos utilizando sus características morfológicas, ya sea por semejanza entre las espe-

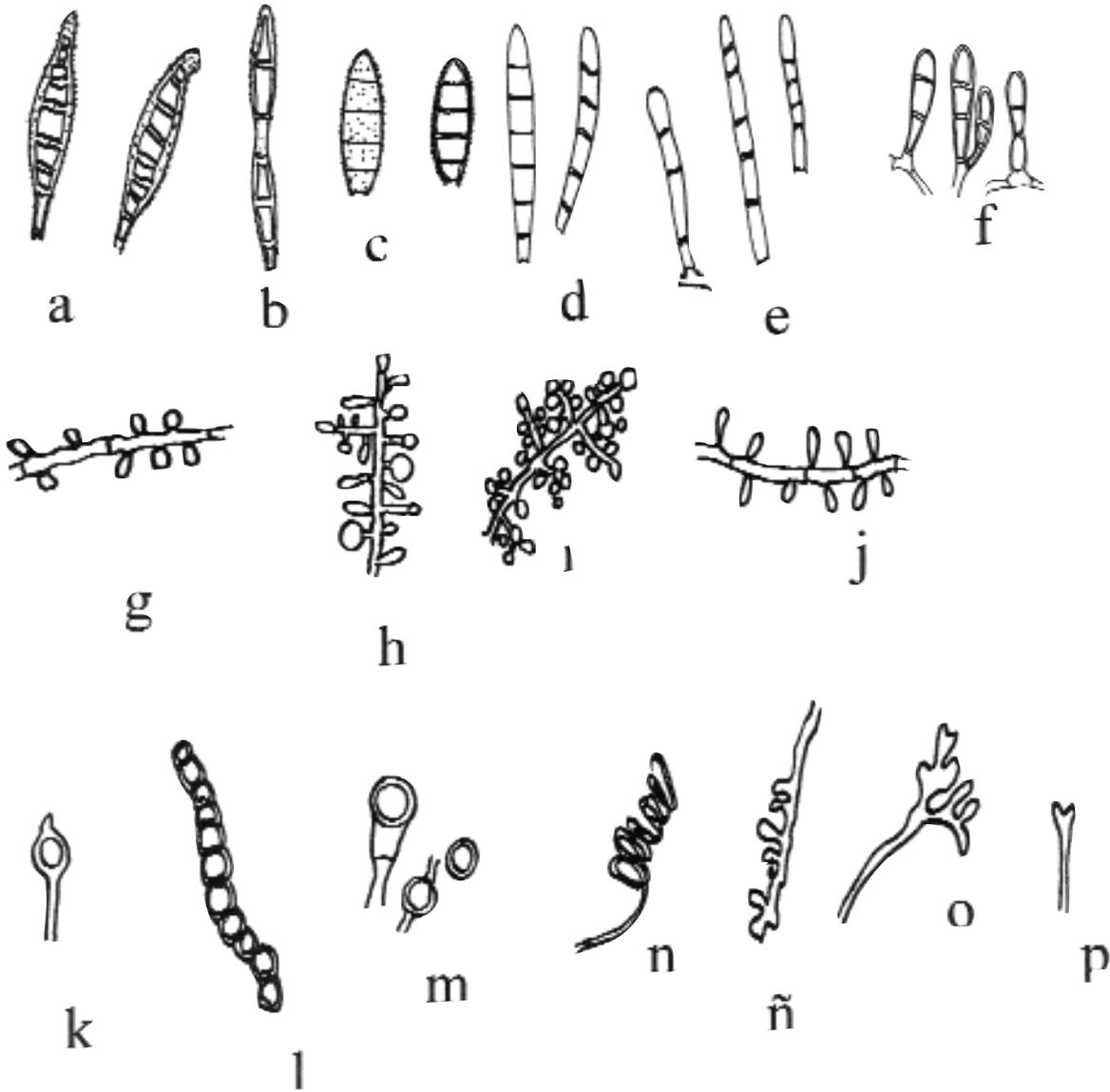


Figura 12.3. Diferentes tipos de macroconidios (a-f), microconidios (g-j), clamidosporas (k-m) e hifas (n-p) (consultar clave).

Clave para los dermatofitos aislados más frecuentemente del hombre ^a

1	Macroconidios presentes	2
	No se observan macroconidios	6
2	Macroconidios en forma de huso, de paredes gruesas y rugosas y frecuentemente con un pico terminal característico. Están formadas normalmente por más de 6 células (Figura 12.3a)	<i>M. canis</i> (Figura 12.4)
	Macroconidios, cuando se presentan, similares a los de <i>M. canis</i> , aunque de mayor longitud y con paredes más lisas. Se observan formas con una constricción en la zona central del macroconidio (Figura 12.3b). Con frecuencia la presencia de macroconidios es escasa, o no se llegan a observar. Clamidosporas terminales (Figura 12.3k) e hifas pectinadas características (Figura 12.3ñ). En contraste con <i>M. canis</i> , no se desarrolla o presenta crecimiento escaso en el medio de arroz	<i>M. audouinii</i>
	Macroconidios de paredes delgadas	3
3	Macroconidios de paredes rugosas	4
	Macroconidios de paredes lisas	5
4	Macroconidios abundantes, fusiformes y simétricos, conteniendo hasta 6 células (Figura 12.3c)	<i>M. gypseum</i> (Figura 12.5)
5	Macroconidios alargados en forma de cigarro habano (Figura 12.3d) no siempre presentes. Abundantes microconidios redondeados formando grupos que asemejan racimos de uva inmadura (Figura 12.3i). Presencia de hifas espiriladas (Figura 12.3n). Ureasa positivo. Ensayo de perforación del pelo positivo. ...	<i>T. mentagrophytes</i> ^b (Figura 12.6)
	Microconidios piriformes, estrechos, en forma de lágrima, aislados y dispuestos lateralmente en las hifas (Figura 12.3j). Macroconidios generalmente no presentes. Cuando se presentan, similares a los de <i>T. mentagrophytes</i> (Figura 12.3e). Reverso de la colonia rojizo; se estimula la producción de este pigmento rojizo en PDA. Ureasa negativo. Ensayo de perforación del pelo negativo.	<i>T. rubrum</i> ^c
	Macroconidios ovales en forma de porra, aislados o en racimos (Figura 12.3f). Ausencia de microconidios. Clamidosporas abundantes	<i>E. floccosum</i> (Figura 12.7)
6	Microconidios abundantes	7
	Microconidios escasos o no se observan.	8
7	Abundantes microconidios redondeados formando grupos que asemejan racimos de uva inmaduros (Figura 12.3i). Presencia de hifas espiriladas (Figura 12.3n). Ureasa positivo. Ensayo de perforación del pelo positivo	<i>T. mentagrophytes</i> ^b
	Microconidios piriformes y estrechos, en forma de lágrima, aislados y dispuestos lateralmente en las hifas (Figura 12.3j) Reverso de la colonia rojizo; se estimula la producción de este pigmento en PDA. Ureasa negativo. Ensayo de perforación del pelo negativo.	<i>T. rubrum</i> ^c
	Microconidios de mayor tamaño, en forma de porra más o menos alargados. Algunos en forma de globo (Figura 12.3h). Crece poco en ausencia de tiamina. Infección del pelo tipo endotrix	<i>T. tonsurans</i> (Figura 12.8)
8	Crecimiento moderadamente rápido (Colonias > 15 mm de diámetro en 7 días)	9
	Crecimiento lento (Colonias < 10 mm de diámetro en 7 días)	10
9	Microconidios, si se detectan, pequeños, en bajo número y en forma de porra. Similares a los de otras <i>Microsporum</i> spp. (Figura 12.3g). Clamidosporas terminales (Figura 12.3k) e hifas pectinadas características (Figura 12.3ñ). No se desarrolla o presenta un crecimiento escaso en el medio de arroz	<i>M. audouinii</i>
10	Colonias color púrpura oscuro, violeta. No se detectan conidios. Escaso crecimiento en ausencia de tiamina. Infección del pelo tipo endotrix.	<i>T. violaceum</i>
	Colonias con coloraciones claras, blanquecinas, grisáceas, marronáceas	11
11	Clamidosporas en cadenas largas densamente compactadas (Figura 12.3l). Algunas hifas en candelabro (Figura 12.3o) y/o terminadas en cabeza de clavo (Figura 12.3p). La mayoría de cepas requieren tiamina ^d o tiamina e inositol. Infección del pelo tipo ectotrix megasporado.	<i>T. verrucosum</i> (Figura 12.9)
	No se observan conidios. Típicas hifas en candelabro (Figura 12.3o) y/o terminadas en cabeza de clavo (Figura 12.3p). No requieren tiamina. Infección del pelo tipo fávico	<i>T. schoenleinii</i>

a: Para un tratamiento más detallado de los dermatofitos incluidos en esta clave y otras especies no incluidas, se recomiendan las claves propuestas por Rebell y Taplin [5] y Kane *et al.* [4].

b: *Trichophyton mentagrophytes* está considerado como un complejo de especies (*T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes* (variedad granular), *T. mentagrophytes* var. *erinacei*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, *T. mentagrophytes* var. *nodular* (*T. kraidenii*), *T. mentagrophytes* var. *quinckeanum*). Según autores algunas de estas variedades son consideradas como especies independientes o sinónimos de *T. mentagrophytes*. En contraste con *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*, *T. mentagrophytes* var. *erinacei* y *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* pueden presentar microconidios alargados (en forma de porra de pequeño tamaño) en vez de redondeados.

c: *T. rubrum* está considerado como un complejo de especies. Para algunos autores las especies *T. fischeri*, *T. kanei*, *T. raubitscheckii*, son consideradas como variedades o sinónimos de *Trichophyton rubrum*. Algunas de las diferencias que presentan son: *T. fischeri* (especie no patógena), *T. kanei* (ausencia de microconidios; ureasa positivo débil), *T. raubitscheckii* (ureasa positivo).

d: Se han descrito cepas aisladas de tiñas de ovejas que no necesitan tiamina e/ o inositol (*T. verrucosum* var. *autotrophicum*) [3]. En un estudio [8] sobre los requerimientos nutricionales de esta especie se cita que el 84% de las cepas se desarrollaron en el medio conteniendo tiamina e inositol, el 16% en el medio conteniendo tiamina y ninguna cepa se desarrolló en el medio sin vitaminas.

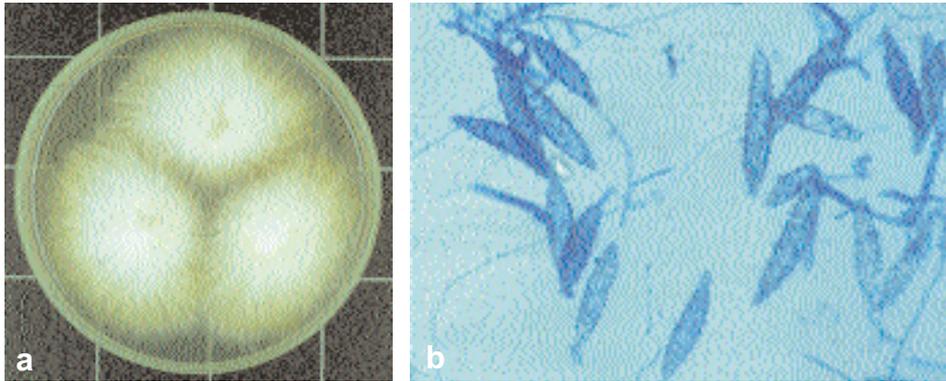


Figura 12.4. a: Anverso de colonias pertenecientes a

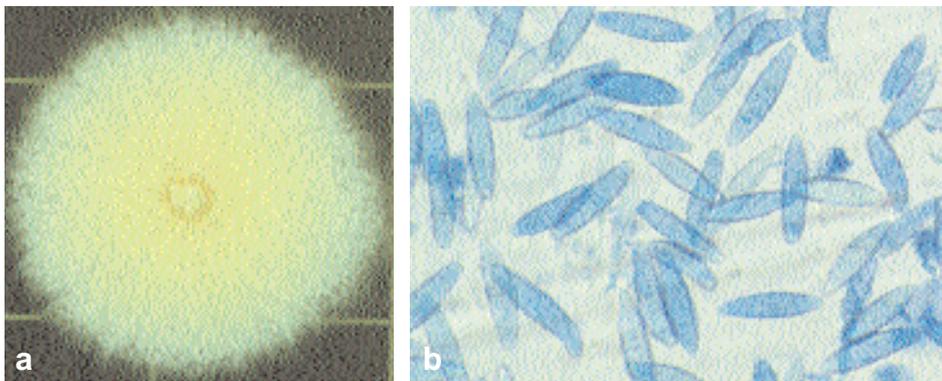


Figura 12.5. a: Anverso de una colonia perteneciente a *M. gypseum*; b: Macroconidios típicos de *M. gypseum*.

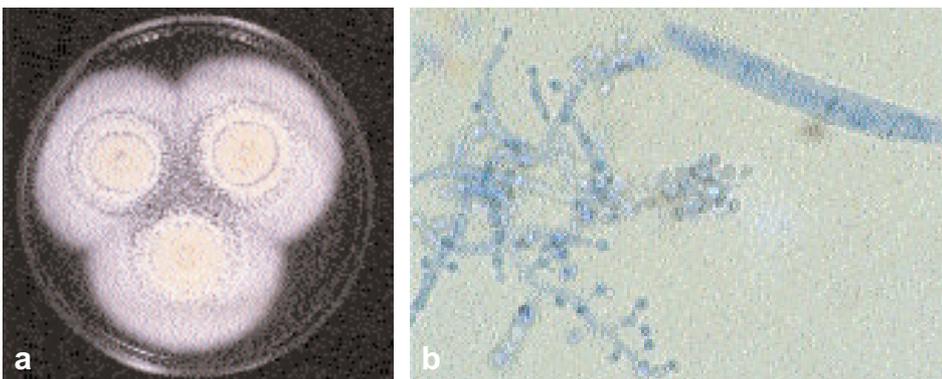


Figura 12.6. a: Anverso de colonias pertenecientes a *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*; b: Macroconidio y microconidios típicos de *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes*.

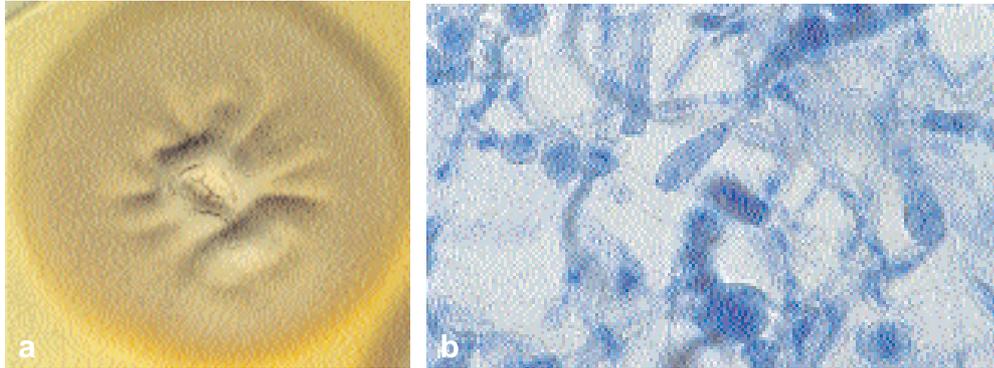


Figura 12.7. a: Anverso de una colonia perteneciente a *E. floccosum*; b: Macroconidios y clamidosporas típicos de *E. floccosum*.

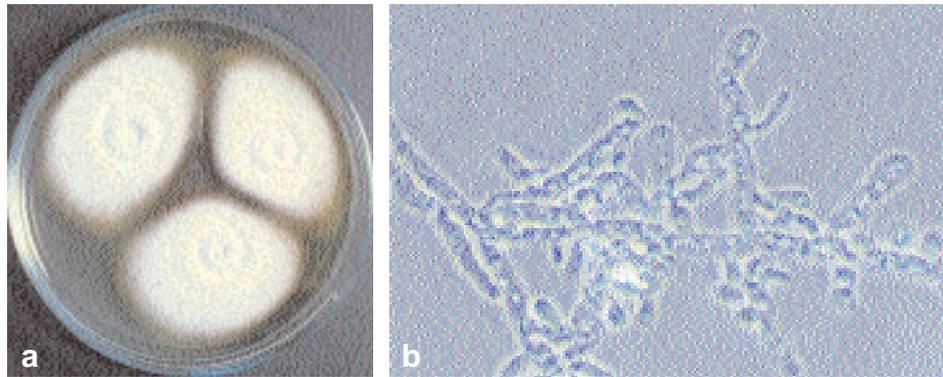


Figura 12.8. a: Anverso de colonias pertenecientes a *T. tonsurans*; b: Aspecto microscópico típico de *T. tonsurans*.



Figura 12.9. Aspecto microscópico típico de *T. verrucosum*.

cies o por falta de estructuras útiles para su identificación, se suelen utilizar otros caracteres distintos a los morfológicos, haciendo uso de técnicas que incluyen pruebas bioquímicas, fisiológicas, ensayos nutricionales, ensayo de perforación del pelo *in vitro*, etc., como las que se describen a continuación.

12.5.1. Tipo de infección del pelo *in vivo*

La observación microscópica directa de la muestra (pelos, escamas, uñas), además de confirmar en pocos minutos un caso de dermatofitosis, según el tipo de infección que produzca el hongo, puede ayudar a identificar la especie causante. Hay dermatofitos (ej. *E. floccosum*) que no infectan el pelo *in vivo*. Otros presentan diferentes patrones de infección:

Ectotrix

Infección principalmente externa del pelo (Figura 12.10). Existen diferentes subcategorías de este tipo según distintos autores. Por ejemplo:

- **Microspórico:** Arthroconidios redondeados muy pequeños (2-3 μm) formando una vaina alrededor del pelo difícilmente dissociable con KOH. Fluorescencia con lámpara de Wood. (ej. *M. canis*, *M. audouinii*).
- **Microide:** Arthroconidios redondeados pequeños (2-4 μm), fácilmente dissociables con KOH. No fluorescencia. (ej. *T. mentagrophytes*)
- **Megasporado:** Arthroconidios grandes redondea-



Figura 12.10. Observación microscópica de un pelo con una infección de tipo ectotrix.

dos (4-8 μm). No fluorescencia. (ej. *T. verrucosum*).

Endotrix

Infección en el interior del pelo. Los arthroconidios redondeados llenan el interior del pelo. (ej. *T. tonsurans*, *T. violaceum*).

Fálico

Se observan algunas hifas (filamentos) polimórficos en el interior del pelo. También se observan gotas de aire en esta localización cuando se utiliza KOH (ej. *T. schoenleinii*).

12.5.2. Prueba de la ureasa

La principal aplicación de esta prueba es la diferenciación entre *T. mentagrophytes* (ureasa positiva) y *T. rubrum* (ureasa negativa) (ver clave, pág. 12-5). Uno de los medios de cultivo más utilizados

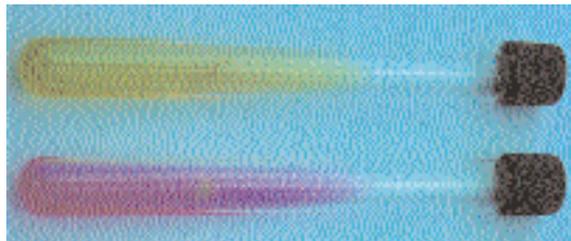


Figura 12.11. Prueba de la ureasa de Christensen. Tubo color amarillento: prueba negativa. Tubo color rojizo: prueba positiva.

para realizar esta prueba es el medio Agar-urea según Christensen (Capítulo 3). Es especialmente útil por incorporar un indicador de pH en el medio de cultivo y facilitar la detección de posibles contaminaciones. Las cepas ureasa positivas hacen virar en pocos días el indicador de pH, adquiriendo el medio de cultivo un color rojizo (Figura 12.11).

T. rubrum está considerado como un comple-

Unos consejos...

- Para evitar falsos positivos, hay que tener la precaución de que el cultivo que ensayemos sea puro y no esté contaminado con bacterias.
- Algunos autores recomiendan el caldo urea de Christensen por ser más sensible en la detección de esta actividad. En este caso debe obtenerse un cultivo puro de la cepa a ensayar, con el fin de evitar la presencia de bacterias (ureasa positivas) que frecuentemente acompañan a estas especies. Estas bacterias no se detectan fácilmente en los medios de aislamiento, por estar inhibidas por los antibióticos que incorporan [4].

jo de especies. Un bajo porcentaje de cepas pertenecientes a esta especie se citan como ureasa positivas. Para algunos autores estas cepas se podrían corresponder con las especies de este complejo: *T. raubitscheckii* (ureasa positiva) y *T. kanei* (ureasa positiva débil) [4].

12.5.3. Medio de arroz

Es muy útil para la diferenciación entre *M. canis* y *M. audouinii* (Capítulo 3). *M. audouinii* crece de forma escasa sobre los granos produciendo un pigmento marrónáceo. *M. canis* crece abundantemente y suele secretar un pigmento amarillento. Existen distintas formas de prepararlo y dispensarlo [4,5].

12.5.4. Medio de agar glucosado de patata (PDA)

Es un medio que estimula la producción del pigmento rojizo característico de *T. rubrum*, siendo muy útil para diferenciarlo de *T. mentagrophytes* (Capítulo 3).

En este medio *M. audouinii* produce un reverso de la colonia de color asalmonado y *M. canis* de color amarillento. Además, su utilización es altamente recomendada por favorecer la esporulación de todos los dermatofitos.

12.5.5. Otras técnicas fisiológicas

Se ha descrito la utilización de otros medios como el agar glucosa-sólidos lácteos-púrpura de bromocresol (BCP-milk solids-glucose agar-BCPMSG) y algunas variaciones con extracto de levadura (BCP-milk solids-yeast extract agar) entre otros medios, en lo que se denomina el sistema de identificación de Kane/Fisher [4]. La utilización del BCPMSG es especialmente útil para la diferenciación de *T. mentagrophytes* (crecimiento abundante y alcalinización del medio: color púrpura) y *T. rubrum* (crecimiento limitado sin reacción alcalina) [6] (Capítulo 3).

12.5.6. Ensayo de perforación del pelo *in vitro*

Es una técnica muy interesante para diferenciar *T. mentagrophytes* y *M. canis* (perforación positiva) de *T. rubrum* y *M. audouinii* (perforación negativa).

Consiste en hacer crecer la cepa del dermatofito a identificar en fragmentos de pelo previamente esterilizados y, posteriormente, observar al microscopio el efecto que ha producido el hongo en dicho sustrato. Los dermatofitos se dividen en dos grupos (perforación positiva o negativa) en función de si producen un tipo característico de perforaciones o no. Este resultado varía según la técnica que se utilice.

La técnica de referencia es la descrita por Ajello y Georg [7]. Consiste en disponer fragmentos cortos de pelo humano (unos 20-25 de 15-20 mm de longitud), previamente esterilizados, en una placa de Petri que contiene 25 ml de agua estéril con 2 ó 3 gotas (0,15 ml) de extracto de levadura al 10% pre-



Figura 12.12. Ensayo de perforación del pelo *in vitro*. Dermatofito desarrollándose sobre pelos según la técnica descrita por Ajello y Georg [7].

viamente esterilizado. Se inocula con fragmentos de la colonia de la cepa a ensayar y se incuba en oscuridad a 25 °C durante 3 semanas (Figura 12.12). Se recomienda que el cabello esté desengrasado, o se utilice de prepúber ya que los ácidos grasos capilares pueden tener un efecto inhibitor en el desarrollo.

Un consejo...

Para realizar el montaje de la preparación es preferible reblandecer y aclarar el pelo previamente con solución de KOH al 20%. Se puede teñir posteriormente con lactofenol azul de algodón u otro colorante, lo que permite observar la formación de los órganos perforantes.



Figura 12.13. Ensayo de perforación del pelo *in vitro* positivo. Observación microscópica de un pelo con típicas perforaciones.

llo de la cepa. También se ha recomendado utilizar pelo de caballo previamente desengrasado y esterilizado. En otras revisiones de esta técnica se recomienda prolongar la incubación hasta 4 semanas.

Las perforaciones que producen *T. mentagrophytes* o *M. canis* son fácilmente detectables. Son transversales, de forma cónica y pueden llegar a atravesar el pelo de lado a lado (Figura 12.13). *T. rubrum* y *M. audouinii* no las suelen producir o tan sólo erosionan la superficie del pelo.

12.5.7. Ensayos nutricionales

Estas técnicas se basan en la diferenciación de las especies de dermatofitos según los requerimientos específicos que tienen algunas de ellas por ciertas vitaminas y otros factores de crecimiento [8].

El ensayo nutricional con tiamina y con tiamina e inositol permite diferenciar nutricionalmente las especies incluidas en la clave de este Capítulo. Para su realización se requieren los siguientes medios de cultivo (Capítulo 3):

Un consejo...

Estos medios de cultivo están comercialmente disponibles con el nombre de agar *Trichophyton* (Difco). Referencias: Medio base sin vitaminas (agar #1), Medio con tiamina (agar #4), Medio con tiamina e inositol (agar #3) (Capítulo 3).

- *Trichophyton* agar # 1.

- *Trichophyton* agar # 4 (con tiamina).
- *Trichophyton* agar # 3 (con tiamina e inositol).
- Preparar tubos con cada uno de los tres medios. Concentración final en el medio:
Tiamina 0,2 mg/ml, Inositol 50 mg/ml.
- Sembrar los distintos medios con un pequeño fragmento de la colonia libre de medio de cultivo.

12.6. Conservación de las cepas de dermatofitos

Para la identificación de dermatofitos puede ser de utilidad disponer de una colección de cepas de las especies más representativas. Para mantener una



Figura 12.14. Colonia de un dermatofito con un sector donde se detecta pleomorfismo (micelio blanquecino).

colección de dermatofitos hay que tener presente que no todas las especies soportan las técnicas de conservación y mantenimiento habituales. La resiembra continuada de estos hongos en un medio de mantenimiento como el SDA tiende a degenerar los cultivos observándose un fenómeno frecuente en estos hongos denominado pleomorfismo (Figura 12.14). El mantenimiento de cepas a temperatura de refrigeración (4 °C) tampoco está recomendado para algunas especies ya que acaban siendo no viables (*E. floccosum*, *T. verrucosum*). Lo mismo ocurre con los procesos de congelación y/o liofilización.

Una de las técnicas más recomendadas para la conservación de estos hongos consiste en mantener una densa suspensión del hongo en agua destilada estéril a temperatura ambiente (Técnica de Castellani [10]). Para ello, a partir de los cultivos se

recogen fragmentos de las colonias (intentando no arrastrar mucho medio de cultivo) y se introducen en tubos conteniendo agua destilada estéril. Es conveniente que el tubo cierre herméticamente para evitar la desecación.

También suele recomendarse su conservación en medios de cultivo sin glucosa, o con baja concentración de glucosa, y mantenerlos mediante subcultivo. Otros medios que además aportan fuentes de carbono distintas, como el PDA o el agar Oatmeal, también pueden ser útiles (Capítulo 3).

12.7. Dificultades

En el caso de los dermatofitos, el término pleomorfismo está relacionado con la pérdida de su capacidad de esporulación. En muchas ocasiones se observa a las pocas resiembras, siendo más acentuado este proceso en algunas especies. Las colonias pierden su color y características habituales y se vuelven blanquecinas (Figura 12.14). Al final acaba formándose un micelio compacto carente de conidios o con muy pocas estructuras de reproducción.

Para evitar el pleomorfismo, y/o regenerar cepas pleomorfizadas, se han propuesto distintas técnicas y medios de cultivo. Parece ser que la glucosa que contiene el SDA (u otros medios similares) potencia este proceso de envejecimiento. Por ello los medios utilizados tienden a reducir la concentración de glucosa, eliminarla de su composición o sustituirla por otra fuente de carbono. Medios como el PDA o el agar Oatmeal se recomiendan para este fin y para aumentar la esporulación. No obstante hay que advertir que este proceso puede ser irreversible y se puede acabar perdiendo la cepa. Disponer de un buen sistema de conserva-

ción y mantenimiento de las cepas puede ser de gran ayuda para evitar este problema. A continuación se describen algunas de las técnicas y medios de cultivo propuestos para evitar el pleomorfismo y/ o estimular la esporulación de estos hongos:

- PDA: Esporulación y mantenimiento.
- Agar de harina de avena con sales (Medio de Weitzman y Silva Hutner, "Oatmeal-salts agar"[4,9]). Esporulación y mantenimiento: $MgSO_4$ 1 g, KH_2PO_4 1,5 g, $NaNO_3$ 1 g, Copos de avena 10 g, Agar 18 g, Agua destilada c.s.p. 1.000 ml).
- Medio de Sabouraud de conservación [10]: Neopeptona (Difco) 3 g, Agar 2 g, Agua destilada c.s.p. 100 ml.
- Medios que incorporan tierra (deben ser autoclavados tres veces, en días consecutivos).
 - Medio de Sabouraud tierra [10]: Neopeptona (Difco) 1g, Tierra de jardín 20 g, Agar 2 g, Agua destilada c.s.p. 100 ml.
 - Medio agar tierra [10]: Agar 2 g, Tierra de jardín 20 g, Agua destilada c.s.p. 100 ml.
- Medio de Agar Sabouraud diluido o de Takashio [10]: Glucosa 2 g, Neopeptona (Difco) 1 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g, KH_2PO_4 1 g, Agar 20 g, Agua destilada c.s.p. 1.000 ml.
- Agar glucosado de Sabouraud con NaCl al 3% o al 5% [4]: Glucosa 4 g, Bacto peptona (Difco) 1g, NaCl (3 g (3%) o 5 g (5%)), Agar 1,5 g, Agua destilada c.s.p. 100 ml. Previene el pleomorfismo y despleomorfiza cepas de *E. floccosum* y otras especies. Estimula la producción de macroconidios en *T. mentagrophytes*, *M. audouinii* y *M. persicolor*.

Los dermatofitos como grupo modelo de estudio entre los hongos son especialmente interesantes. Los diferentes aspectos comentados en este capítulo así como otros relacionados con la patolo-

Referencias

1. Kushwaha RKS, Guarro J (Eds.) Biology of dermatophytes and other keratinophilic fungi. Bilbao, Revista Iberoamericana de Micología, 2000.
2. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical mycology. Philadelphia, Lea &Febiger, 1992.
3. Cabañes FJ. Dermatophytes in domestic animals. En: Kushwaha RKS, Guarro J (Eds.) Biology of dermatophytes and other keratinophilic fungi. Bilbao, Revista Iberoamericana de Micología, 2000: 104-108.
4. Kane J, Summerbell R, Sigler L, Kraiden S, Land G. Laboratory handbook of dermatophytes: a clinical guide and laboratory handbook of dermatophytes and other filamentous fungi from skin, hair, and nails. Belmont, Star Publishing Co., 1997.
5. Rebell G, Taplin D. Dermatophytes, their recognition and identification. Coral Gables, University of Miami Press, 1979.
6. Kane J, Summerbell RC. *Trichophyton*, *Microsporium*, *Epidermophyton* and agents of superficial mycoses. En: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (Eds) Manual of Clinical Microbiology. Washington D.C., American Society for Microbiology Press, 1999.
7. Ajello L, Georg LK. In vitro hair cultures for differentiating between atypical isolates of *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum*. Mycopath Mycol Appl 1957; 8: 3-17.
8. Georg LK, Camp LB. Routine nutritional tests for the identification of dermatophytes. J. Bacteriol 1957; 74: 113-121.
9. Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. Clin Microbiol Rev 1995; 8: 240-259.
10. Vanbreuseghem R, De Vroey C, Takashio M. Guide pratique de mycologie médicale et vétérinaire. Paris, Masson, 1978.