

Bioquimia

Volumen **27**
Volume

Número **2**
Number

Junio **2002**
June

Artículo:

Determinación de las variedades de
Trichophyton mentagrophytes en 10
casos de dermatofitosis de Paraguay

Derechos reservados, Copyright © 2002:
Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, AC

Otras secciones de
este sitio:

- 👉 Índice de este número
- 👉 Más revistas
- 👉 Búsqueda

*Others sections in
this web site:*

- 👉 *Contents of this number*
- 👉 *More journals*
- 👉 *Search*



Medigraphic.com

Determinación de las variedades de *Trichophyton mentagrophytes* en 10 casos de dermatofitosis de Paraguay

Ramón Fernández ^{*1}, Carolina Segundo ², Roberto Arenas ¹, Diamante da Silva ³, Antonio Guzmán⁴

¹ Sección de Micología. Departamento de Dermatología. Hospital General "Dr. Manuel Gea González". México.

² Laboratorio de Micología. Facultad de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

³ Microbióloga. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay. ⁴ Dermaclínica. Asunción, Paraguay.

*Sobretiros: Sección de Micología. Departamento de Dermatología. Hospital General "Dr. Manuel Gea González". SS. México, D.F. Calzada de Tlalpan 4800, México 14000, D.F. Fax 56 65 77 91, e-mail: ramfer2@hotmail.com

Recibido: 05/03/02 Aceptado: 10/04/02

RESUMEN

Introducción: Las variedades de *Trichophyton mentagrophytes* más frecuentes son *interdigitale* (antropofílica) y *mentagrophytes* (zoofílica); su epidemiología no es clara.

Objetivo: analizar 10 muestras clínicas provenientes de Paraguay.

Material y método: se cultivaron en: agar-dextrosa-Sabouraud, agar-antibióticos, agar Czapek Dox y agar-papa-dextrosa, a 30°C por siete días. Se observaron las características macroscópicas y microscópicas; se hicieron microcultivos y pruebas para producción de ureasa (agar y caldo), y órganos perforadores en tierra estéril y pelos de caballo.

Resultados: hubo crecimiento en todos los medios excepto en agar Czapek Dox en menos de 30 días. Se observaron microconidios esféricos y piriformes, hifas en espiral y macroconidios. El desarrollo fue más florido en agar-papa, y las resiembras generan pleomorfismo. En cajas de Petri con Sabouraud las colonias fueron características de *T. mentagrophytes* var *interdigitale* en dos casos afectados de los pies. Un cultivo se perdió; los 6 restantes (var *mentagrophytes*), afectaron: piel cabelluda (1), pies (1), cuerpo (2), uña de pies (1), palma (1). Cinco produjeron ureasa en 5 días y cuatro perforaron pelos en dos semanas.

Conclusiones: Aunque las pruebas moleculares y genéticas son más específicas, siguen siendo útiles las pruebas fisiológicas y morfológicas.

Palabras clave: *Trichophyton mentagrophytes*, tiñas, identificación, características clínicas.

ABSTRACT

Background: The most commonly found varieties of *T. mentagrophytes* are *interdigitale* (antropophylic) and *mentagrophytes* (zoophylic), but its epidemiology is not clear.

Objective: to analyse 10 clinical dermatophyte samples isolated in Paraguay South-America.

Material and methods: The samples were cultured on: agar-dextrose-Sabouraud, agar with antibiotics, agar Czapek Dox and agar-potato-dextrose, at 30°C for 7 days. Macroscopic and microscopic characteristics were observed; microcultures, urease production (agar and broth), and hair perforation test on sterile soil, and horse hair, were performed.

Results: All the samples grew on all the medium tested, except on agar Czapek Dox, on less than 30 days. Pyriform and spherical microconidia, macroconidia and spiral hyphae were observed. Agar-potato led to more characteristic microscopic features, and consecutive cultures led to pleomorphism. In two samples taken from the feet, it was observed growth of *T. mentagrophytes* var *interdigitale*; it was identified on Sabouraud medium. Six samples were obtained from: scalp (1), skin (2), palm (1) feet (1) and toe nail (1). Five of them gave positive ureasa test (day 5), and five hair perforation test after two weeks. One culture was lost.

Conclusions: Molecular and morphological tests are more specific, but the physiologic and morphologic studies are more available and fortunately they are still useful.

Key words: *Trichophyton mentagrophytes*, tinea, identification, clinic features.

Introducción

La Escuela Francesa de Micología ha descrito diferentes variedades de *T. mentagrophytes* en base a diferencias muy sutiles en la morfología de las colonias cuando el hongo se identifica en agar dextrosa Sabouraud, entre las que se encuentran: *T. mentagrophytes* var. *granulosum*, *T. mentagrophytes* var. *lacticolor*, *T. mentagrophytes* var. *asteroides*, *T. mentagrophytes* var. *radians*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, *T. mentagrophytes* var. *erinacei* y *T. mentagrophytes* var. *quinckeanum* ¹.

El género *Trichophyton* es miembro de la familia Arthrodermataceae del orden de los ascomicetos Onygenales ². *T. mentagrophytes* var *interdigitale* es un hongo de distribución mundial, produce colonias en Sabouraud dextrosa agar planas, de color blanco o crema con una superficie pulverulenta o aterciopelada y pigmento en el reverso amarillento o café-rosado, que con frecuencia se hace rojo-café con el tiempo; se encuentran numerosos microconidios semiesféricos o piriformes, con algunas hifas en espiral y clamidoconidios esféricos que se hacen más abundantes en cultivos

viejos; también se encuentran algunos macroconidios en clava, de pared delgada y multiseptados en algunos cultivos. Hidroliza urea en 5 días y la perforación de pelos es positiva. Su significancia clínica se refiere a que es antropofílico, causando con frecuencia tiña de los pies crónica, particularmente de tipo vesicular, tiña del cuerpo (más frecuentemente de las ingles), y algunas veces invasión superficial de la uña. No se sabe que invada el pelo *in vivo*, pero produce perforaciones del mismo *in vitro*. *T. mentagrophytes* var *mentagrophytes* es la forma zoofílica de *T. mentagrophytes* con una distribución mundial, que produce colonias generalmente planas de color blanco o crema con una superficie pulverulenta o granulosa. Algunos cultivos muestran pliegues centrales o desarrollan penachos centrales elevados o áreas pleomórficas algodonosas o aterciopeladas. La pigmentación del reverso es usualmente café-amarillenta o café rojiza. Se forman numerosos microconidios unicelulares, con frecuencia en grupos densos. Los microconidios son hialinos, de paredes delgadas, y son predominantemente esféricos o semiesféricos, sin embargo pueden ocurrir ocasionalmente formas en clava o piriformes. También están presentes números variables de clamidoconidias esféricas, hifas en espiral y macroconidios delgados, de paredes delgadas, en clava y multicelulares. Hidroliza urea en 7 días (usualmente 3 a 5 días), y perfora pelos *in vitro* en 14 días. Tiene un amplio rango de huéspedes animales, incluyendo ratones, cricetos, canguros, gatos, caballos, ovejas y conejos.

Produce lesiones inflamatorias en la piel o en la piel cabelluda en humanos, particularmente en trabajadores rurales. Puede ocurrir querion en la piel cabelluda o en la barba. Los pelos invadidos muestran una infección *ectoendothrix* de tipo microide, pero no fluorescencia con luz de Wood³.

La epidemiología de las infecciones causadas por *T. mentagrophytes* no está completamente clara debido a la carencia de un sistema de tipificación confiable para evaluar la relación entre las diferentes cepas. El objetivo de este trabajo fue tratar de determinar con metodología sencilla pero universalmente aceptada las variedades de *T. mentagrophytes* presentes en este grupo de pacientes.

Material y métodos

Se recibieron en la Sección de Micología del Departamento de Dermatología del Hospital General "Dr. Manuel Gea González" 10 aislamientos de dermatofitos provenientes de muestras clínicas de pacientes de la Ciudad de Asunción, República de Paraguay, con una identificación preliminar de nueve como *T. mentagrophytes* y uno como *T. rubrum*.

Las muestras clínicas se sembraron en los siguientes medios de cultivo: agar dextrosa Sabouraud (SDA), agar con antibióticos (Mycosel), agar Czapek Dox y agar papa dextrosa (ADP). Se incubaron a 30°C durante 30 días.

Se observaron las características macroscópicas de las colonias, y para estudiar la morfología microscópica se empleó azul de lactofenol. Posteriormente se realizaron los microcultivos de las cepas obtenidas, y la producción de ureasa se comprobó en medio con urea (agar y líquido). Para la confirmación de *T. mentagrophytes* una de las técnicas utilizadas fue la prueba de producción de órganos perforadores, la cual se hizo utilizando tierra estéril y pelo de caballo, inoculando el sistema con cada una de las cepas sospechosas de *T. mentagrophytes*.

Resultados

De las 10 muestras sembradas en los cuatro diferentes medios de cultivo, se encontró crecimiento en SDA, ADP y Mycosel, y no hubo crecimiento en agar Czapek Dox (Cuadro 1). De las tinciones de azul de algodón realizadas a las cepas desarrolladas, se observó la presencia de microconidios piriformes y esféricos, así como de macroconidios (Cuadro 2).

Se pudo observar que en agar-papa el desarrollo de formas de reproducción, así como de hifas en espiral era más florido, y que en resiembras consecutivas el pleomorfismo va siendo cada vez mayor.

Sólo en los casos 2 y 8 se encontró la morfología característica de las colonias de *T. mentagrophytes* var *interdigitale* en Sabouraud en cajas de Petri. El aspecto de las colonias en tubos de ensayo es difícil de definir, y varía en cada medio de cultivo.

Cuadro 1. Crecimiento de las muestras clínicas en los diferentes medios de cultivo.

Muestra	Tipo de tiña	SDA	ADP	Micosel	Czapek Dox
1	Cabeza	+	+	+	-
2	Pies	+	+	+	-
3	Pies	+	+	+	-
4	Epigastrio	+	+	+	-
5	Uña-pie	-	+	+	-
6	Cuerpo	+	+	+	-
7	Palma	+	+	+	+
8	Pies	+	+	+	-
9	Cuerpo	+	+	+	-
10	Nalga	+	+	+	-

Cuadro 2. Estructuras observadas con tinción de azul de algodón lactofenol

Cepa	Microconidios piriformes	Microconidios Esféricos	Macroconidios	Hifas en espiral
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	-	+	+	+
4	+	+	+	+
5	-	+	+	+
6	+	+	-	+
7	+	+	-	+
8	+	+	+	+
9	+	+	+	-
10	+	-	+	+

Cuadro 3. Identificación final

Muestra	Producción de ureasa	Presencia de cuerpo perforante	Identificación Final
1	-	-	<i>T.mentagrophytes</i> variedad <i>mentagrophytes</i>
2	+	+	<i>T.mentagrophytes</i> var <i>interdigitale</i>
3	+	+	<i>T.mentagrophytes</i> variedad <i>mentagrophytes</i>
4	+	+	<i>T.mentagrophytes</i> variedad <i>mentagrophytes</i>
5	-	Sin Desarrollo	<i>T.mentagrophytes</i> variedad <i>mentagrophytes</i>
6	-	Sin Desarrollo	<i>Penicillium</i> sp
7	-	-	<i>T.mentagrophytes</i> variedad <i>mentagrophytes</i>
8	+	+	<i>T.mentagrophytes</i> var <i>interdigitale</i>
9	-	-	<i>T.rubrum</i>
10	+	Sin Desarrollo	<i>T.mentagrophytes</i> variedad <i>mentagrophytes</i>

Con respecto a la prueba de producción de ureasa, se observó crecimiento de las cepas positivas a *T. mentagrophytes* en cuatro días. En la prueba de producción de cuerpo perforante, éste se desarrolló en promedio en dos semanas (Cuadro 3).

Los casos que se presentan fueron causados por *T. mentagrophytes* var *mentagrophytes* en las localizaciones de piel cabelluda (1 caso),

pies (1 caso), cuerpo (2 casos), uña de los pies (1 caso), palma (1 caso), mientras que *T. mentagrophytes* var *interdigitale* afectó en los dos casos a los pies.

Discusión

Las cepas obtenidas de los casos clínicos estudiados se identificaron inicialmente como *T. mentagrophytes* con el aspecto macro y microscópico de las colonias. De los resultados obtenidos, se logró confirmar *T. mentagrophytes* en todas las cepas con las excepciones del caso 6 del que no logramos nuevamente su aislamiento y de la cepa 9, que correspondió a *T. rubrum*.

En la literatura se ha publicado que las formas aisladas con más frecuencia de *Trichophyton mentagrophytes* son las variedades *interdigitale* (forma antropofílica), y *mentagrophytes* (forma zoofílica). Las principales fuentes de infección sugeridas en la tiña de los pies causada por *T. mentagrophytes* var *interdigitale* son pisos contaminados de baños y otras instalaciones sanitarias públicas, pero no se excluye la transmisión directa ⁴. En el caso de *T. mentagrophytes* var *mentagrophytes* las fuentes de infección sugeridas son animales infectados ³.

Desde hace varias décadas se han usado diferentes pruebas fisiológicas para estudiar y clasificar a los dermatofitos en general, y a *T. mentagrophytes* en particular:

En 1975, Noguchi evaluó la composición de azúcares de la pared de los dermatofitos con cromatografía de líquido, siendo compatible con el examen morfológico convencional.

En 1977, Staib y cols encontraron que *T. mentagrophytes* nunca produce pigmento en agar con albúmina bobina, lo que permite diferenciarlo de *T. rubrum* ⁵.

Sinski demostró en 1981, mediante análisis de correlación y de regresión múltiple de 9 pruebas comparadas con la perforación de pelos, que ninguna es tan efectiva como esta última. Mediante un análisis de error relativo sugirió un esquema de identificación basado inicialmente en la utilización selectiva de agar-papa-zanahoria para inducir el desarrollo de microconidios típicos en cada uno de los aislamientos primarios que no esporularon, y subsecuentemente realizar la prueba estándar *in vitro* de perforación de pelos sólo en aquellos aislamientos en los que no se produjeron esporas, todo lo cual proporciona resultados más fidedignos ⁶. Por otro lado, Calvo y cols. refieren que el medio de agar-Sabouraud es el medio más adecuado para resaltar al máximo las diferentes características taxonómicas de *T. mentagrophytes* ⁷.

Los resultados de una evaluación de la eficacia y precisión del medio con agar-glucosa-leche-violeta de bromocresol en el

laboratorio clínico realizada por Summerbell, permitió la demostración de aislamientos típicos y atípicos tanto de *T. mentagrophytes* como de *T. rubrum*, en 9 a 10 días ⁸.

En seguida se refieren una serie de pruebas moleculares que son importantes porque permiten clasificar y relacionar las distintas especies de *Trichophyton* de una manera precisa, y pueden aclarar las dudas que surgen cuando las pruebas anteriores no son suficientes:

Simoens, un intento de determinar la relación entre las dos variedades de *T. mentagrophytes* y sus especies teleomorfas, preparó los extractos somáticos de dermatofitos del complejo *T. mentagrophytes* y de *T. interdigitale* cultivados en caldo de soya con tripticasa para un análisis densitométrico con láser. Los resultados sugirieron que *Trichophyton mentagrophytes* var *interdigitale* puede ser la especie anomorfa del teleomorfo *Arthroderma vanbreusegheimii*, y que *Trichophyton mentagrophytes* var *mentagrophytes* puede corresponder tanto al teleomorfo *Arthroderma vanbreusegheimii* como a *Arthroderma benhamiae* ⁹.

La relación entre *T. interdigitale* y *A. vanbreusegheimii* también fue confirmada por Mochizuki y cols., mediante un análisis de restricción enzimática del DNA mitocondrial ¹⁰. El mismo investigador encontró que el análisis de restricción enzimática del DNA celular total obtenido por el método de minipreparación que él describe, puede ser empleado como un recurso alternativo para la identificación de *T. mentagrophytes* y de *T. rubrum* ¹¹.

En 1998, Makimura y cols. demostraron la relación filogenética de 37 cepas tipo con aislamientos clínicos del complejo *T. mentagrophytes* en Japón basándose en las secuencias del DNA de la región ribosomal ITS1 (espaciador transcrito interno 1). Se determinaron tres grupos homólogos ITS1 y 13 grupos idénticos ITS1. El grupo de hongos homólogos ITS1-I consistió en *A. vanbreusegheimii*, *T. mentagrophytes* aislado de humanos y varias cepas de *T. mentagrophytes* aisladas de animales. Cinco cepas de *A. simii* forman el grupo de homólogos ITS1-II. Las estirpes americano-europeas y africanas de *A. benhamiae*, *T. mentagrophytes* var. *erinacei* y una cepa de un aislamiento animal de *T. mentagrophytes* constituyeron el grupo de homólogos ITS1-III. Cuando se incluyó a *T. rubrum* como un grupo independiente, los grupos I y II comprendieron un grupo monofilogénico, y el grupo III constituyó otro grupo más bien distante de los otros en el complejo ¹².

El análisis de las secuencias de nucleótidos de las secuencias genéticas de la quitina-sintetasa 1 reveló, según Kano y cols., que *A. benhamiae*, *A. simii*, *A. vanbreusegheimii* y *T. rubrum* fueron genéticamente distintos unos de otros, pero que *T. interdigitale* fue genéticamente muy cercano a *A. vanbreusegheimii* ¹³.

En el año 2001, Kim publicó la aplicación de un análisis de amplificación aleatorizada de DNA polimórfico. Con el iniciador ATGS las cepas de *T. mentagrophytes* produjeron bandas con patrones idénticos a los de *A. vanbreusegheimii*, independientemente de sus fenotipos. Con el iniciador ATG, los aislamientos humanos de *T. mentagrophytes* dieron lugar a dos subgrupos relacionados con las morfologías de sus colonias en el momento del primoaislamiento. Tres tipos morfológicos (algodonoso, pulverulento y persicolor), revelaron bandas idénticas, mientras el tipo granular careció de una banda menor (0.74kbp). Los aislamientos de animales de *T. mentagrophytes* produjeron 5 patrones de bandas y algunos de ellos fueron idénticos a los de los aislamientos humanos; con el primer OPAO-15, mostraron diversos patrones de bandas en contraste con el patrón uniforme de los aislamientos humanos ¹⁴.

La información precedente permite observar que existen una gran cantidad de pruebas útiles para la diferenciación de las variedades de *T. mentagrophytes*, aún cuando autores como Rippon consideran que ello puede resultar ocioso, debido a que las características microscópicas son idénticas en todas ellas ¹⁵, y otros, como Makimura, refieren que los dermatofitos han sido sobreclasificados cuando son evaluadas sus relaciones filogenéticas con bases moleculares ¹². De cualquier manera, se requiere de una identificación rápida, sencilla y de bajo costo para implementar un tratamiento adecuado con el antimicótico de elección. Otra razón para identificar las especies causantes de las dermatofitosis es que la ecología y prevalencia de las mismas están cambiando dinámicamente, y la utilidad de los métodos tanto tradicionales como modernos son invaluable en las investigaciones de las epidemias.

Por otro lado, se debe considerar que en los países en vías de desarrollo que presentan un número considerable de casos con tiñas, no disponen de recursos técnicos y económicos para realizar pruebas sofisticadas, por lo que las pruebas basadas en aspectos fisiológicos y morfológicos son una alternativa de diagnóstico adecuada para determinar la presencia de dermatofitosis.

Referencias

1. Badillet G. Les Dermatophytes. Atlas, clinique et biologique. Paris: Editions Varia;1975.
2. Graser Y, El Fari M, Presber W, Sterry W, Tietz H-J. Identification of common dermatophytes (*Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermopyton*) using polymerase chain reactions. Br J Dermatol 1998; 138:576-582.
3. www.mycology.adelaide.edu.au/
4. Kac C, Bognoux ME, Feuilhade de Chauvin M, Sene S, Derouin E. Genetic diversity among *Trichophyton mentagrophytes* isolates using random amplified polymorphic DNA method. Br J Dermatol 1999; 140:839-44.
5. Noguchi T, Banno Y, Watanabe T, Nozawa Y, Ito Y. Carbohydrate composition of the isolated cell walls of dermatophytes. Mycopathologia 1975; 55(2):71-6.

6. Sinski JT, Van Avermaete D, Kelley LM. Analysis of tests used to differentiate *Trichophyton rubrum* from *Trichophyton mentagrophytes*. J Clin Microbiol 1981;13(1):62-5.
7. Calvo MA, Trape J, Abarca L, Cavañes FJ, Calvo RM, Bruguera T. Variability of biochemical characteristics in strains of *Trichophyton mentagrophytes*. Mycopathologia 1986;93(3):137-9.
8. Summerbell RC, Rosenthal SA, Kane J. Rapid method for differentiation of *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes* and related dermatophyte species. J Clin Microbiol 1988;26(11):2279-82.
9. Symoens F, Willenz P, Rouma V, Planard C, Nolard N. Isoelectric focusing applied to taxonomic differentiation of the *Trichophyton mentagrophytes* complex and the related *Trichophyton interdigitale*. Mycoses 1989;32(12):652-63.
10. Mochizuki T, Takada K, Watanabe S, Kawasaki M, Ishizaki H. Taxonomy of *Trichophyton interdigitale* (*Trichophyton mentagrophytes* var *interdigitale*) by restriction enzyme analysis of mitochondrial DNA. J Med Vet Mycol 1990;28(3):191-6.
11. Mochizuki T, Uehara M, Menon T, Ranganathan S. Minipreparation of total cellular DNA is useful as an alternative molecular marker of mitochondrial DNA for the identification of *Trichophyton mentagrophytes* and *T. rubrum*. Mycoses 1996;39(12):31-5.
12. Makimura K, Mochizuki T, Hasegawa A, Uchida K, Saito H, Yamaguchi H. Phylogenetic classification of *Trichophyton mentagrophytes* complex strains based on DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 regions. J Clin Microbiol 1998;36(9):2629-33.
13. Kano R, Nakamura Y, Watari T, Watanabe S, Takahashi H, Tsujimoto H, et al. Molecular analysis of chitin synthase 1 (CHS1) gene sequences of *Trichophyton mentagrophytes* complex and *T. rubrum*. Curr Microbiol 1998;37(4):236-9.
14. Kim JA, Takahashi Y, Tanaka R, Fukushima K, Mishimura K, Miyaji M. Identification and subtyping of *Trichophyton mentagrophytes* by random amplified polymorphic DNA. Mycoses 2001;44(5):157-65.
15. Rippon J W. Micología médica. 3ª Edición. México City: Nueva Editorial Interamericana, SA de CV; 1990.

