

EFICACIA DE MEDIOS DE CULTIVO CON INFUSIONES DE VARIEDADES DE PAPA EN LA IDENTIFICACIÓN DEL *Trichophyton rubrum*

Flor Urcia A¹, Miriam Guevara R¹.

¹División de Micología, Instituto Nacional de Salud.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue demostrar la eficacia de los extractos de diferentes variedades de papa como ingredientes del medio de cultivo para la identificación del *Trichophyton rubrum* y proponer su empleo en el diagnóstico de dermatomicosis. Se utilizaron las infusiones naturales de las variedades *Solanum tuberosum* (papa blanca), *Solanum chaucha* (papa huayro) y *Solanum goniocalyx* (papa amarilla), para preparar los medios de cultivo análogos al estándar de formulación comercial Agar Papa Dextrosa (APDc). Las cepas de *T. rubrum* fueron inoculadas en los diferentes medios de cultivo, incubados a 25°C durante 10 días. Para la evaluación consideramos características culturales y microscópicas. Los resultados muestran que el medio de cultivo Agar Papa Huayro Dextrosa (APHD) fue más eficiente en la producción del pigmento rojo vino, pero se obtuvo mayor esporulación en los medios de cultivo Agar Papa Blanca Dextrosa (APBD) y Agar Papa Amarilla Dextrosa (APAD).

Palabras clave: Trichophyton; Agar; Dermatofito (fuente: BIREME)

SUMMARY

The objective of this study was demonstrate the efficacy of three potato varieties to identify *Trichophyton rubrum* and to suggest their for diagnosing dermatomycoses. White potato (*Solanum tuberosum*), Huayro potato (*Solanum chaucha*) and Yellow potato (*Solanum goniocalyx*) extracts were used to prepare similar culture media to be compared with standard and commercial APDc. *T. rubrum* strains were inoculated in the three culture media and they were incubated at 25°C for 10 days. Culture and microbiological characteristics were used for evaluation purposes. The results showed that APHD culture medium was more efficient in producing red wine pigment compared to the other potato varieties; but more sporulation was achieved using APBD and APAD culture media.

Key words: Trichophyton; Agar; Dermatophyte (source: BIREME)

INTRODUCCIÓN

El *Trichophyton rubrum* es un hongo dermatofito, moniliáceo, hialino, con estructuras de fructificación^{1-4,5}, que infecta a tejidos queratinizados como uñas, pelo y estrato córneo de la piel^{1,4}. Se puede identificar por sus características nutricionales, fisiológicas o morfológicas.

Microscópicamente, se observan microconidias laterales en forma de lágrima o pera, unidas en ángulo recto y alternas a la hifa y macroconidias fusiformes que pueden estar presentes en el cultivo. Macroscópicamente, las colonias son de color blanco algodónoso, consistencia dura y presentan pigmento rojo vino que se difunde en el medio de cultivo, el cual es visualizado en el reverso de la colonia^{3,5}.

Existen medios de cultivo comerciales como el Agar Sabouraud Dextrosa (ASD), Agar Mycosel y Agar Papa Dextrosa (APDc), que permiten el aislamiento primario o tipificación del hongo.

Es importante mencionar que otro agente etiológico causante de micosis superficial, el *T. mentagrophytes* presenta macroscópicamente en el reverso de la colonia pigmentaciones pardas rojizas o rojo vino, que son semejantes a las que se observa en *T. rubrum*; las cepas vellosas de *T. mentagrophytes* variedad interdigitale, microscópicamente presentan conidias en forma de lágrimas muy parecidas a *T. rubrum*. La diferenciación de ellos se realiza mediante pruebas morfológicas y fisiológicas como la penetración del pelo *in vitro*, reducción de la urea, asimilación de aminoácidos y producción de pigmentos, que demandan mayor costo a los laboratorios. Una alternativa de identificación precoz del *T. rubrum*, es el empleo de cultivos cuya composición incluye extractos de papa^{3,4,5} donde *T. rubrum* produce pigmento rojo vinoso y *T. mentagrophytes* no lo produce.

En 1994, el Centro de Micología de la Universidad de Buenos Aires (U.B.A.), realizó un estudio titulado "Medios de Cultivo Caseros para la Identificación de Hongos de Interés Médico", empleando para ello, medios de cultivo como agar banana (banana y avena y leche), agar-V 8 (V8 y levadura) y agar leche (agar con leche al 1% y tween 80), siendo este último, utilizado para la formación de tubos germinativos, seudomicelios y clamidosporos de *Candida albicans*, con resultados superiores en

Correspondencia: Flor Urcia A. División de Micología. Centro Nacional de Salud Pública. Instituto Nacional de Salud. Dirección: Cápac Yupanqui 1400, Lima 11, Perú. Telf.: (51-1) 471-9920 Anexo 140. Fax: (51-1) 471-0179. E-mail: micolog@ins.gob.pe

comparación al agar harina de maíz, mientras que el agar banana produjo un buen número de cleistotecios y el agar-V 8 resulto eficaz para mostrar las ascas en las levaduras perfectas⁶.

Basándonos en esa experiencia, en el Laboratorio de Micología del Instituto Nacional de Salud (Lima – Perú) se realizó el presente estudio con el objetivo de demostrar la eficacia de los medios de cultivo preparados con tres variedades comerciales de papa para la identificación de *T. rubrum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon 5 cepas de *T. rubrum* aisladas a partir de muestras clínicas de pacientes con lesiones dérmicas que forman parte del cepario de nuestro laboratorio, y mantenidas en Agar Sabouraud Dextrosa hasta su evaluación. Antes de iniciar el estudio se realizó una resiembra en Agar Sabouraud Glucosa para verificar la viabilidad y características culturales macroscópicas y microscópicas.

MEDIOS DE CULTIVOS A ESTUDIAR

Para la preparación de los medios de cultivo se emplearon los extractos de las variedades de papa amarilla, blanca, huayro y algunos insumos de laboratorio, teniendo en cuenta los siguientes pasos en la preparación: 1. Hervir 200 g. de cada variedad de papa (pelada y cortada en cuadrados pequeños) en 1000 mL de agua destilada durante 5 a 10 minutos, 2. Filtrar a través de una gasa con ayuda de un embudo, 3. Completar a volumen de 1000 mL con agua destilada, 4. Añadir 20 g. de agar y 20 g. de dextrosa, 5. Disolver por calentamiento, 6. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos, y 7. Distribuir en tubos de vidrio de 18 x 150 mm en plano inclinado, controlando su esterilidad a 37°C durante 24 horas. Como control se utilizó el APDc (Difco. pH: 5,6) de formulación comercial.

Con un asa de kolle se tomaron secciones de colonias sembradas en Agar Sabouraud Dextrosa de aproximadamente 5 mm de diámetro, inoculándolas en la parte central de cada uno de los 4 medios de cultivo preparados. Se trató en todos los casos que el tamaño del inóculo sea lo más homogéneo posible, con 4 repeticiones. Se incubaron a 25°C por 10 días.

EVALUACIÓN

Las observaciones se realizaron a partir del tercer día de la inoculación. En la evaluación se tomaron en cuenta criterios morfológicos y fisiológicos. Para las características macroscópicas se registró la velocidad de crecimiento, textura, color y difusión de pigmento rojo en los diferentes medios de cultivo; microscópicamente, se registró la presencia de estructuras de fructificación.

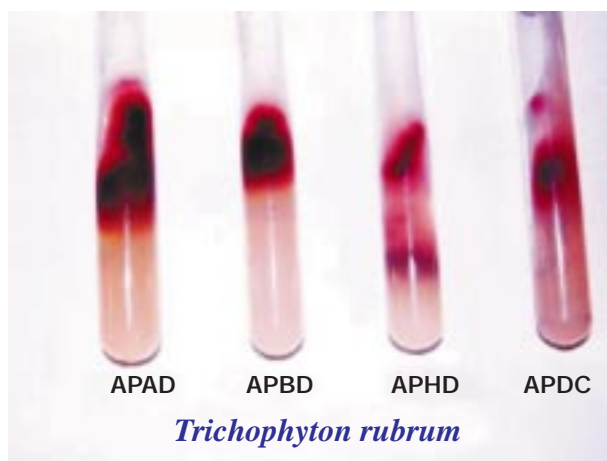
ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para demostrar la diferencia entre el promedio de

crecimiento, tiempo de esporulación y difusión de pigmentos en los medios de cultivo estudiados se realizó el análisis de varianza (ANOVA). La prueba de Tuckey realizó la comparación entre los promedios de las velocidades de crecimiento en los cultivos en estudio, para luego formar conglomerados de aquellos medios de cultivo que presentaron mayor semejanza en sus resultados. Se consideró un $p < 0,05$ como significativo.

RESULTADOS

Si bien no se encontraron diferencias macroscópicas en cuanto a textura y color de las colonias al emplear los medios de cultivo naturales y el comercial (Figura N° 1), se obtuvo mayor esporulación en los medios de cultivo con extractos naturales como Agar Papa Blanca y Agar Papa Amarilla.



APAD : Agar Papa Amarilla Dextrosa
APBD : Agar Papa Blanca Dextrosa
APHD : Agar Papa Huayro Dextrosa
APDc : Agar Papa Dextrosa Comercial

Figura N° 1. Producción del pigmento rojo vino del *Trichophyton rubrum*

En cuanto a la velocidad de crecimiento, se observó diferencias entre los tres medios de cultivo elaborados, aunque el medio de cultivo APBD tuvo comportamiento similar al APDc.

En la Tabla N° 1 se observa que el tiempo de esporulación no difiere entre el medio de cultivo APAD y APBD con respecto al control. El medio de cultivo que demoró más tiempo en esporular fue el APHD ($p < 0,01$). En cuanto a la difusión de pigmento, se obtuvieron valores similares entre los medios en estudio y el medio de cultivo de formulación comercial. El medio de cultivo APHD presentó diferencias en el promedio de días de difusión de pigmentos con respecto al control ($p < 0,05$).

Respecto a la velocidad de crecimiento de cada cepa

Tabla N° 1. Criterios de identificación de los medios de cultivo

Medios de cultivo Criterios de identificación	APAD	APBD	APHD	APDc
Velocidad de crecimiento	++	+++	+	+++
Tiempo de esporulación	5 días	5 días	7 días	5 días
Difusión de pigmentos	5 días	5 días	4 días	5 días

Los datos son los promedios de las 5 cepas estudiadas y sus réplicas.

APAD : Agar Papa Amarilla Dextrosa.

APHD : Agar Papa Huayro Dextrosa.

APBD : Agar Papa Blanca Dextrosa.

APDc : Agar Papa Dextrosa Comercial (control).

+++ : Buen desarrollo.

++ : Mediano desarrollo.

+ : Escaso desarrollo.

en los medios de cultivo, no se encontraron diferencias individuales, pero sí al comparar los diversos medios de cultivo (Tabla N° 2). De acuerdo a esta tabla de subconjuntos homogéneos de Tuckey el medio de cultivo más homogéneo al estándar fue elaborado en base a papa blanca (APBD).

Tabla N° 2. Tabla de subconjuntos homogéneos de Tuckey

Tratamiento de medios de cultivo	N° de cepas	1	2	3
APHD	5	Escaso desarrollo		
APAD	5	Mediano desarrollo		
APDc	5	Buen desarrollo		
APBD	5	Buen desarrollo		

DISCUSIÓN

El diagnóstico de las micosis se hace fundamentalmente por la demostración del agente etiológico en las muestras biológicas y su posterior identificación taxonómica, a través de la utilización de medios de cultivo para aislamiento primario y definitivo.

Los medios de cultivo de formulación comercial, incluyen dentro de su composición extractos de plantas. Así, muchos laboratorios que realizan investigación, en su deseo de encontrar medios en los que se desarrollen los hongos en forma óptima, han evaluado productos naturales como la banana, arroz, papa, camote y otros, obteniendo buenos resultados^{2,6}.

En ese sentido, nuestro estudio buscó demostrar la utilidad de distintas variedades de papa (oriunda de la zona andina: Perú y Bolivia) como medios de cultivo para el crecimiento de *T. rubrum*. Nosotros encontramos un adecuado crecimiento de este hongo en un medio natural,

situación que también nos impulsa a continuar con la evaluación de otros productos naturales propios de nuestro país, así como difundir el uso de estos insumos de fácil obtención, que permitirá entre otras ventajas disminuir los costos de nuestros exámenes de laboratorio.

AGRADECIMIENTO

A la Lic. Nancy Linares Fuentes y al Sr. Marco González Noriega por su valioso apoyo técnico en el análisis estadístico de los datos.

REFERENCIAS

1. **Arango M, Castañeda E.** Micosis humanas: procedimiento diagnósticos. Santa Fé de Bogotá: Corporación para Investigaciones Biológicas / Instituto Nacional de Salud; 1995. p. 45-7.
2. **Deacon JW.** Introducción a la micología moderna. Buenos Aires: Ed. LIMUSA; 1990. p. 126.
3. **López R, Méndez L, Hernández F, Castañón R.** Micología médica: procedimiento para el diagnóstico de Laboratorio. México: Ed. Trillas; 1995. p. 36.
4. **Rippon J.** Micología médica. 3ra ed. Madrid: Ed. Interamericana Mac Graw – Hill; 1990. p. 186- 260.
5. **Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Janda WM, Sommers HM, Win WC, et al.** Diagnóstico microbiológico. 3ra. Ed. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana; 1992. p. 692-5.
6. **Centro de Micología del Departamento de Microbiología.** Medios de cultivo caseros para la identificación de hongos de interés médico. Rev Arg Micol 1994; 17(3): 26–33.