



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas

**“ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE DERMATOFITOS PROCEDENTES DE
DIFERENTES ORÍGENES GEOGRÁFICOS”**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
Maestro en Ciencias**

PRESENTA:

Q.F.B. Angélica Pérez Rodríguez

TUTOR PRINCIPAL

**Dra. María del Rocío Alicia Reyes Montes
Facultad de Medicina UNAM**

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

**Dra. Maria Lucia Taylor Da Cunha e Mello
Facultad de Medicina UNAM**

**Dr. Daniel Ignacio Piñero Dalmau
Instituto de Ecología UNAM**

Ciudad Universitaria, CD. MX., 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico-Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (**DGAPA-PAPIIT**), UNAM por el financiamiento del proyecto “Análisis filogenético y estimación de la diversidad fúngica de dermatofitos procedentes de diferentes orígenes geográficos” (**IN203421**).

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACyT**) por la beca (**No. 750541** y **CVU 1003916**) otorgada durante el tiempo reglamentario de maestría.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** por ser mi *alma máter* desde la educación media superior, superior y posgrado. Por apoyarme y permitirme tener un crecimiento personal y profesional.

A la **Dra. María del Rocío Reyes Montes**, por creer en mí y permitirme formar parte de su grupo de trabajo en el que aprendí mucho, no solo en la parte profesional, sino también en lo personal. Aprender a ser una persona crítica, analista y buscar siempre soluciones a los problemas que se presenten. Gracias por compartirnos su pasión por la ciencia, el tiempo y el apoyo que siempre nos brindó.

A los integrantes de mi **comité tutorial**, la Dra. Maria Lucia Taylor Da Cunha e Mello y el Dr. Daniel Ignacio Piñero Dalmau, por todo el apoyo, las críticas, comentarios y sugerencias. Por plantearme problemas y dudas que me hicieron investigar más y más, enriqueciendo más este trabajo. Gracias por su guía en todo este proceso.

A los **miembros de jurado de examen**: Dr. José Guillermo de Jesús Aguilar Osorio, Dra. Concepción Toriello Nájera, Dr. Mario Serrano Ortega, Dr. Fidel Alejandro Sánchez Flores y a la Dra. Gladys Iliana Cassab López por su revisión y comentarios sobre mi trabajo.

A la **Dra. Esperanza Duarte Escalante**, por su apoyo, asesorías y conocimientos que contribuyeron al desarrollo de este. Gracias por ayudarme a aclarar mis inquietudes, brindarme su conocimiento.

A mis compañeros y amigos de la Unidad de Micología; a la **M. en C. Berenice, Q.F.B. Ana Lilia, Q.F.B. Isai**, a la **médico Anel** y al **M. en C. Carlos**, por su guía, su apoyo, sus enseñanzas, su retroalimentación y su confianza. Gracias por las risas, las pláticas, los buenos momentos, su compañía en todo momento, por ser mi pequeña familia durante mi paso en el laboratorio y por todo lo que aprendimos juntos, lo que sufrimos juntos.

A la **Q.F.B. Erika Córdova, Dra. Edith Sánchez**, a la **M. en C. Hortensia Navarro** y especialmente a la **Q.F.B. Amelia Pérez**, por todo el apoyo que me concedieron tanto emocional como profesional.

A mis compañeros y amigos del trabajo (SAFE), a la **Ing. Nahiely Moreno**, al **Farmacéutico Erik Estrada** y la **Ing. Estefania Martínez**, por apoyarme y motivarme para salir adelante, por siempre hacer más ameno al ambiente de trabajo pero sobre todo por siempre ayudarme a mantener los pies sobre tierra y no olvidar que somos humanos y no máquinas.

A mis mejores amigas **Grecia M. Barraza** y **Brenda González** por mostrarme su apoyo en todo momento, por su paciencia, su confianza, su sinceridad, por esas palabras de aliento cuando uno ve el mundo gris, simplemente gracias demostrarme día con día que sin importar los problemas, siempre estaremos juntas y que nos falta toda una vida por compartir.

A mi novio **Diego J. Moreno**, porque fuiste la primera persona que me ayudó a adentrarme a este mundo de la micología, por apoyarme en todo momento, por todos tus consejos, por no soltarme de la mano y siempre intentar sacarme una sonrisa aún en los momentos más difíciles, por tu paciencia, tu cariño, tu honestidad, por acompañarme a culminar esta etapa de mi vida profesional. Gracias por dejarme ser tu compañera de vida.

Finalmente quiero agradecer a la vida y a Dios por permitirme llegar a este momento tan especial de mi vida.

“Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad para penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber.”

Albert Einstein.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres **Jorge Pérez Hernández** y **P. Angélica Rodríguez González**, quiénes siempre han estado para mí en cada momento, en cada escalón de mi vida, les agradezco por todo el amor y cariño incondicional que me brindan día con día, por siempre motivarme alcanzar mis sueños, por creer y confiar en mí, por apoyarme en todas mi decisiones y locuras; por enseñarme a que también se vale tener tropiezos en la vida pero que lo más importante es saber aprender de ellos y volverse a poner de pie. Gracias por aguatarme en mis malos momentos y por reír junto conmigo en los buenos ratos, por la paciencia, la comprensión, por tener siempre darme un consejo en el momento indicado, por ser mis maestros de vida y guiarme para en este no solo para culminar esta etapa en mi vida profesional. Gracias por enseñarme que sin importar las tempestades, nuestra familia es unida, no hay nada que nos separe.

A mi hermano **Jorge Pérez Rodríguez**, porque a pesar de la distancia siempre buscas la manera de hacerte presente, porque sin importar de nuestras constantes peleas, hemos demostrado que estamos el uno para el otro y en todo momento, que podemos ser los mejores amigos y cómplices. Gracias por ser ese torbellino en mi vida que me impulsa a atreverme a hacer cosas y salir de mi rutina.

A mi abuela **Antonia Hernández**, por siempre demostrarme su amor y apoyo incondicional; a mis abuelos **Juliana González**, **Elías Rodríguez** y especialmente a mi abuelo **Jorge Pérez** que a pesar de que ya no están con nosotros, los llevo siempre en mi corazón, gracias por habernos creado recuerdos inolvidables. A mis tíos que me apoyaron para culminar esta etapa de mi vida.

CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
MARCO TEÓRICO.....	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
OBJETIVO GENERAL	15
OBJETIVOS PARTICULARES.....	15
MATERIALES Y MÉTODOS	17
Muestras clínicas.	17
Caracterización fenotípica.....	17
Aislamiento de dermatofitos.....	17
Obtención de cultivos monospóricos.	18
Macromorfología.....	19
Micromorfología.	19
Tamaño de conidios.....	20
Caracterización genotípica.....	20
Extracción de DNA genómico.	20
Amplificación de la región espaciadora transcrita interna (ITS).	22
Amplificación de parcial del gen β -tubulina (<i>BT2</i>).....	23
Amplificación de parcial del gen factor de elongación 1- α (<i>Tef-1α</i>).	24
Curva de DNA.....	25
Secuenciación de los fragmentos amplificados.	25
Análisis de las secuencias.	25
Análisis filogenético de las especies de los géneros de dermatofitos.....	26
RESULTADOS	28
Caracterización fenotípica.....	28
Aislamiento e identificación de dermatofitos.	28
Obtención de cultivos monospóricos.	29
Macromorfología.....	29
Micromorfología.	32
Tamaño de conidios.....	34
Caracterización genotípica.....	36
Extracción de DNA genómico.	36

Amplificación del marcador ITS.	38
Amplificación del marcador β -tubulina (<i>BT2</i>).	38
Amplificación del marcador factor de elongación 1- α (<i>Tef-1α</i>).	39
Análisis de las secuencias de dermatofitos a través del programa BLASTn ..	39
Análisis filogenético.....	47
Máxima Verosimilitud.....	47
Inferencia Bayesiana.	58
DISCUSIÓN	74
CONCLUSIÓN	86
PERSPECTIVAS.....	87
REFERENCIAS.....	88
ANEXO 1.....	101

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1. Aislados clínicos procedentes de diferente origen geográfico.	17
Tabla 2. Identificación de dermatofitos por técnica de Rush Munro.....	28
Tabla 3. Macromorfología típica de las especies de dermatofitos	31
Tabla 4. Tamaño de conidios de dermatofitos.	35
Tabla 5. Cuantificación del DNA por espectrofotometría.	36
Tabla 6. Identidad de las secuencias de la región ITS con el programa BLASTn.	40
Tabla 7. Identidad de las secuencias del gen de <i>BT2</i> con el programa BLASTn..	42
Tabla 8. Identidad de las secuencias del gen <i>Tef-1α</i> con el programa BLASTn...	45
Tabla 9. Comparación de métodos feno y genotípicos para la identificación de dermatofitos con el método de Máxima Verosimilitud.	57
Tabla 10. Comparación de métodos feno y genotípicos para la identificación de dermatofitos con el método de Inferencia Bayesiana.....	72
Tabla 11. Comparación final de los métodos para identificación feno y genotípicos de los dermatofitos.	73

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1. Comparación de DNA de aislados de dermatofitos con distintas concentraciones del fago λ	37
Figura 2. Amplificación por PCR del marcador ITS con DNA de aislados de dermatofitos.....	38
Figura 3. Amplificación por PCR del marcador <i>BT2</i> con DNA de aislados de dermatofitos.....	39
Figura 4. Amplificación por PCR del marcador <i>Tef-1α</i> con DNA de aislados de dermatofitos.....	39
Figura 5. Árbol filogenético de dermatofitos construido a partir de las secuencias de la región ITS, con base en el método de Máxima Verosimilitud.....	49
Figura 6. Árbol filogenético de dermatofitos construido a partir de las secuencias del gen de <i>BT2</i> , con base en el método de Máxima Verosimilitud.....	49
Figura 7. Árbol filogenético de dermatofitos construido a partir de las secuencias del gen <i>Tef-1α</i> , con base el método de Máxima Verosimilitud.	52
Figura 8. Árbol filogenético construido a partir de secuencias de DNA concatenadas de los marcadores ITS, <i>BT2</i> y <i>Tef-1α</i> , de las especies de dermatofitos, con base en el método de Máxima Verosimilitud.....	55
Figura 9. Árbol filogenético construido a partir de las secuencias de la región ITS, con base en el método de Inferencia Bayesiana.....	60
Figura 10. Árbol filogenético construido a partir secuencias del gen de <i>BT2</i> , con base en el método de Inferencia Bayesiana.....	63
Figura 11. Árbol filogenético construido a partir de las secuencias del gen <i>Tef-1α</i> , con base en el método de Inferencia Bayesiana.....	66

Figura 12. Árbol filogenético construido a partir de secuencias de DNA concatenadas de los marcadores ITS, *BT2* y *Tef-1 α* , de las especies de dermatofitos, con base en el método de Inferencia Bayesiana..... 69

RESUMEN

Los dermatofitos son un grupo de hongos queratinofílicos, incluidos en los géneros, *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, *Nannizzia*, *Paraphyton*, *Lophophyton*, y *Arthroderma*. Tienen la habilidad de degradar la queratina y causar infecciones en humanos y animales. Las técnicas moleculares han contribuido a que su identificación sea más rápida y precisa, lo que ha permitido importantes avances en los estudios filogenéticos. El objetivo de este trabajo fue identificarlos a través de métodos fenotípicos (macro, micromorfología y tamaño de conidios) y genotípicos (secuencias de regiones de genes). Así como determinar las relaciones filogenéticas entre aislados clínicos. Se estudiaron 94 aislados de dermatofitos procedentes de Costa Rica, Guatemala, Honduras, México y República Dominicana. Los aislados de dermatofitos incluidos en este estudio presentaron la macro y micromorfología, así como el tamaño de conidios descrita para los géneros *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*. El análisis genotípico, mostró que el 63.8% de los casos analizados fueron las especies del género *Trichophyton*, el 25.5% por las especies del género *Nannizzia*, 9.6% por el género *Arthroderma* y el 1.1% por el género *Epidermophyton*. Asimismo, *T. rubrum* y *T. interdigitale* fueron los agentes etiológicos con mayor frecuencia, con 26 aislados cada uno (27.6%), seguido de *N. incurvata* (11 casos, 11.7%); *N. gypseae* y *A. otae* (9 casos, 9.6%); *T. tonsurans* (4 casos, 4.2%); *T. equinum* y *N. nana* (3 casos, 3.2%); *N. fulva*, *E. floccosum* y *Trichophyton* sp. (1 caso, 1.1%). Todos los marcadores moleculares utilizados, en el presente trabajo contribuyeron claramente a la resolución de las relaciones filogenéticas en los dermatofitos, independientemente de las diferentes

formas en que se procesaron los datos filogenéticos. Sin embargo, el locus más informativo fue *Tef-1α*.

Cabe destacar que el aislado MX55, usando los marcadores ITS y *Tef-1α*, se identificó como *T. tonsurans*, mientras que con el marcador *BT2* se identificó como *T. rubrum*. No obstante, al realizar el análisis de las secuencias concatenadas, no se logra definir en un grupo, por lo que se propone que este aislado sea un nuevo genotipo. Por otro lado, al realizar la comparación entre los métodos para la construcción de las filogenias, no se encontró diferencia significativa, ya que las topologías fueron similares.

INTRODUCCIÓN

La dermatofitosis es una infección cutánea superficial que daña tejidos queratinizados, como piel, uñas, cabello, garras, cuernos y plumas. Afecta principalmente a huéspedes inmunocompetentes generando lesiones leves; sin embargo, en huéspedes inmunocomprometidos pueden observarse infecciones graves y diseminadas (Rezaei-Matehkolaei *et al.*, 2014). Estas micosis son producidas por un grupo de hongos filamentosos llamados dermatofitos, los cuales se encuentran estrechamente relacionados entre sí y tienen la capacidad de digerir y crecer en estructuras queratinizadas (Ahmadi *et al.*, 2016). Los dermatofitos son comunes en todo el mundo y tienen relevancia en el área de veterinaria y salud pública (Cafarchia *et al.*, 2009). Su transmisión puede darse por contacto directo con personas o animales infectados o a través de objetos contaminados (fomites) (Padilla *et al.*, 2011).

Estos hongos pertenecen principalmente, a los géneros *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton* en su estado anamorfo. Sin embargo, la nueva taxonomía propuesta por de Hoog *et al.* (2017), integra a tres nuevos géneros: *Lophophyton*, *Paraphyton* y *Ctenomyces*. El estado teleomorfo de estos hongos, integra a los géneros *Arthroderma* y *Nannizzia* (Hirai *et al.*, 2003). Con base en sus principales sitios de predilección ambiental, los dermatofitos se clasifican en tres grupos: antropofílicos, zoofílicos y geofílicos. Las especies antropofílicas están principalmente asociadas con humanos y rara vez infectan a otros animales; las zoofílicas están asociadas con animales, pero frecuentemente infectan también a

humanos; y las especies geofílicas son saprobias y subsisten de la queratina presente en el suelo (Kanbe, 2008; Rezaei-Matehkolaei *et al.*, 2014).

MARCO TEÓRICO

La identificación de un dermatofito a nivel de especie es necesaria, ya que éstos pueden tener diferentes patrones de susceptibilidad a antifúngicos (por ejemplo, *tinea capitis* causada por *Trichophyton tonsurans* requiere un tratamiento más corto que la causada por *Microsporum canis*, debido a que este último evade la exposición al fármaco mediante la producción de arthroconidios fuera del eje del pelo. Por otro lado, es importante desde el punto de vista epidemiológico y ecológico, además de su ruta de infección, por ejemplo, la infección por *M. canis* se origina a partir de gatos y perros, mientras que *M. audouinii* se transmite entre seres humanos (Gräser *et al.*, 2008). Asimismo, existe un perfil variable de sensibilidad antifúngica *in vitro* de los microconidios y arthroconidios de aislados de *T. rubrum*, *T. tonsurans* y *T. equinum* (Bao *et al.*, 2013; Coelho *et al.*, 2008; Nyilasi *et al.*, 2014). Durante la última década, se han realizado progresos en la sistemática moderna de los dermatofitos, sin embargo, aún existen problemas en su caracterización, lo que es de gran relevancia para el análisis filogenético e identidad taxonómica, así como para la epidemiología y la práctica clínica; un ejemplo es la definición de las especies que pertenecen al complejo *T. mentagrophytes* (Kac, 2000). Diferentes conceptos de especie, con base en la caracterización fenotípica (morfología), datos ecológicos, y biológicos se han comparado con estudios de filogenia a través de métodos moleculares (Guarro *et al.*, 1999), y se ha observado que las pruebas de diagnóstico tradicionales pueden ser inestables e imprecisas. Sin embargo, los métodos moleculares tienen muchas ventajas y cada vez más complementan o reemplazan

a los métodos convencionales, ya que proporcionan la detección a nivel de género y especie (Gräser *et al.*, 2006; Gräser *et al.*, 2008; Guarro *et al.*, 1999).

La filogenia de los dermatofitos permanece poco clara, debido a que sus miembros están estrechamente relacionados. Esto se debe a que anteriormente, la clasificación de los dermatofitos se llevaba a cabo con base en el fenotipo, por lo que los morfotipos de especies individuales a menudo se confunden con especies separadas. Además, debido a la falta de cepas de referencia, muchas especies fueron descritas por separado (de Hoog *et al.*, 2017; Takashio *et al.*, 1977). Desde un punto de vista clínico, para la definición de las especies o para la realización de un estudio epidemiológico, es importante disponer de un método fiable para la identificación de especies de dermatofitos. Durante mucho tiempo, los métodos fenotípicos, incluyendo la morfología, la fisiología y la bioquímica fueron la base de la taxonomía e identificación de dermatofitos, pero estos consumen mucho tiempo, son inexactos, y en muchos casos insuficientemente concluyentes para identificar los taxones menos comunes o aislados que representan potencialmente nuevas especies (Hubka *et al.*, 2014a, 2014b). Durante las dos últimas décadas, la secuenciación del DNA y la sistemática molecular han generado un nuevo concepto de especie (especies filogenéticas) en dermatofitos, causando una reducción en el número de taxa reconocidas (Gräser *et al.*, 2008) y, por otro lado, ha conducido al descubrimiento de nuevas especies crípticas (Choi *et al.*, 2012; Hubka *et al.*, 2014a, 2014b). Los estudios de filogenia de los hongos se han realizado, inicialmente mediante el uso del contenido G+C de DNA cromosómico, el cual se determina por centrifugación en gradiente de densidad de CsCl, sin embargo, los resultados no

fueron concluyentes, ya que, no hubo variación en el contenido de G+C de los aislados estudiados (Davidson *et al.*, 1980). Por otro lado, también se ha utilizado la homología de DNA total (Davidson *et al.*, 1984), polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP), análisis de DNA mitocondrial (mtDNA) (de Bièvre *et al.*, 1987; Kawasaki *et al.*, 1996; Mochizuki *et al.*, 1990; Nishio *et al.*, 1992), amplificación aleatoria de DNA polimórfico (Gräser *et al.*, 1998; Kano *et al.*, 1998; Liu *et al.*, 1997; Mochizuki *et al.*, 1997), y la secuenciación de la región 18S (Harmsen *et al.*, 1995) o 28S (Leclerc *et al.*, 1994) del DNA ribosomal (rDNA). Para dermatofitos, sin embargo, las relaciones filogenéticas de las especies no pueden ser totalmente definidas por estos métodos. Por lo que, durante la última década, se han obtenido avances importantes en la sistemática moderna, utilizando otros marcadores moleculares como son las regiones del espaciador interno transcrito 1 y 2 (ITS1 e ITS2) del rDNA (Gräser *et al.*, 2008). Estos marcadores han demostrado ser útiles para organismos taxonómicamente relacionados (Berbee *et al.*, 1995; Carbone *et al.*, 1993; Lobuglio *et al.*, 1993). En el campo de la micología médica, los marcadores ITS y el sistema de oligonucleótidos diseñados por Makimura *et al.* (1998) y White *et al.* (1990), han sido ampliamente utilizados en estudios filogenéticos (Makimura *et al.*, 1994 y 1998; Uijthof *et al.*, 1998; Wedde *et al.*, 1998). Asimismo, Makimura *et al.* (1998, 1999) mostraron que es factible diferenciar con éxito a los miembros del complejo *T. mentagrophytes*, a través de sus relaciones filogenéticas, por comparación de secuencias de la región ITS1, ya que éstos son difíciles de identificar por sus características morfológicas. Utilizando estos marcadores, posteriormente, se determinó la filogenia del grupo de dermatofitos,

incluyendo los géneros *Trichophyton*, *Microsporum*, y *Epidermophyton*, y se reclasificaron a *T. tonsurans*, *T. schoenleinii* y *T. verrucosum*, como miembros del grupo *A. vanbreuseghemii*/*A. simii* o el grupo *A. benhamiae*. Los análisis filogenéticos y el uso de conceptos de especies filogenéticas con base en las regiones ITS del rDNA mejoraron la taxonomía, sin embargo, con el fin de obtener mejores resultados en la identificación intraespecie se continuó en la búsqueda de otros marcadores moleculares (Gräser *et al.*, 2008). Por otro lado, un segmento del gen que codifica para la β -tubulina que es una proteína globular monomérica involucrada en la generación de microfilamentos, incluye algunos intrones en este locus, que son buenos estimadores para distinguir especies estrechamente relacionadas, por lo que ha sido utilizada con éxito para la delimitación de las especies en otros grupos de hongos, tales como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Scedosporium* y *Phaeoacremonium* (Balajee *et al.*, 2009; Gilgado *et al.*, 2005; Mostert *et al.*, 2005; Serra and Peterson, 2007). Por ese motivo Rezaei-Matehkolaei *et al.* (2014) utilizaron este marcador (*BT2*) para evaluar la variación intra e interespecífica en dermatofitos. Realizaron un estudio con 26 especies, incluidas en los géneros *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*, las cuales fueron identificadas utilizando los marcadores ITS y *BT2*. El dendrograma obtenido con el gen *BT2*, presentó una topología casi compatible con la construida con base en la región ITS, formando clados similares, sin embargo, mostró mejor resolución el árbol construido con el gen *BT2*.

Otros marcadores han sido utilizados para clasificar especies estrechamente relacionadas, como la secuencia nucleotídica del gen del factor de elongación 1- α

(*Tef-1 α*), que codifica una parte de la maquinaria de traducción de proteínas, utilizado por primera vez con el hongo *Fusarium* (O'Donnell *et al.*, 1998). Este gen presenta una sola copia y muestra un alto nivel de polimorfismo entre especies relacionadas, de manera que se ha considerado como otra alternativa para la identificación de los dermatofitos (O'Donnell *et al.*, 2000). Mirhendi *et al.* (2015) utilizaron el gen *Tef-1 α* para evaluar este marcador en la identificación de dermatofitos. Aunque se encontró una alta consistencia global entre la filogenia obtenida con los marcadores ITS y *Tef-1 α* , éste último mostró mayor poder de discriminación en especies relacionadas, como *A. vanbreuseghemii*, *T. rubrum*, *A. benhamiae*, y el complejo *A. otae*. Sin embargo, los autores destacan que un solo gen no puede especificar los límites entre las especies de los dermatofitos, ya que hay múltiples líneas de evidencia que muestran que la utilización de marcadores multilocus permite obtener una evaluación más precisa de parentesco entre los aislados.

Con respecto a la distribución geográfica de las dermatofitosis, no todas las especies de dermatofitos tienen una distribución, algunas se han registrado en todos los continentes, otras tienen áreas geográficamente delimitadas de mayor o menor extensión (Philpot, 1978). Se ha observado que la aparición o disminución de varias especies se debe a cambio de hábitos y a la gran movilidad de las personas de continente a continente. Philpot (1978) realizó un trabajo sobre la distribución geográfica de los dermatofitos en varios continentes. Cabe resaltar que en América del Sur, el agente con mayor prevalencia fue *M. canis* en *tinea capitis*, mientras que para América Central este agente fue reemplazado por *T. tonsurans*. En Brasil *M.*

canis fue el agente principal de *tinea capitis* y *tinea corporis* en áreas urbanas. También mostró que *T. mentagrophytes* fue la especie dominante en los casos de *tinea pedis*, principalmente en adultos y *T. rubrum* para los casos de *tinea cruris*. De igual manera, destacó que *T. concentricum* era endémico entre los indios de la frontera boliviana, el cual también se ha encontrado en América Central y del Norte. Asimismo, mencionó que *T. tonsurans* se encontraba delimitado geográficamente, ubicándose en el norte por encima de la latitud 15 ° S. Sin embargo, a principios de la década de 1950, este hongo comenzó a aislarse con mayor frecuencia, en Estados Unidos predominantemente en los estados del sur, de donde fue transportado por los trabajadores itinerantes de México. Actualmente sigue siendo un agente importante, incluso dominante en *tinea capitis*. Por lo tanto, el conocimiento de la distribución geográfica de estos patógenos se vuelve cada vez más importante, cuando se realiza un diagnóstico en la identificación fenotípica y genotípica de las especies. No obstante, el conocimiento epidemiológico de la dermatofitosis en México y Centroamérica es escaso y en cuanto a la identificación precisa de las especies, solo se conocen reportes donde las especies de estos hongos son identificadas con los métodos tradicionales. En México, las dermatofitosis constituyen del 70 al 80% de todas las micosis y la *tinea unguium* representa un 30% de las dermatofitosis, existe una relación hombre: mujer de 2:1 y el agente causal más frecuente es *T. rubrum*, seguido de *T. mentagrophytes* que representa más del 90% de los casos (Arenas, 2002; Arenas *et al.*, 2010a). Un estudio realizado en pacientes pediátricos evidenció que la frecuencia de la onicomicosis se ha incrementado en los últimos años, mostrando que el grupo etario

de 12 a 16 años, es el más afectado, además las uñas de los pies son las zonas afectadas con más frecuencia y *T. rubrum* es el principal agente etiológico (Morales-Mendoza y Arenas-Guzmán, 2012).

López-Martínez *et al.* (2010) analizaron 15,101 muestras biológicas de pacientes con micosis superficiales, obtenidas de diferentes servicios de dermatología de la ciudad de México durante un período de 10 años. El examen de laboratorio confirmó 2,084 (44.26%) casos de dermatofitosis. Las especies más frecuentes fueron *T. rubrum* (71.2%), seguido de *T. tonsurans* (6.9%), *T. mentagrophytes* (5.5%), *M. canis* (4.5%), *E. floccosum* (1.3%), *M. gypseum* (0.4%), *M. audouinii* (0.05%), *T. verrucosum* (0.05%) y *Trichophyton* spp. (10.1%). La forma clínica más frecuente fue la *tinea unguium* (59.9%), seguida de *tinea pedis* (24.5%), además mostraron que el número de casos de *T. rubrum* está aumentando en México, esta tendencia coincide con otros trabajos donde mencionan que *T. rubrum* continúa incrementado con una frecuencia de 60-80% en su aislamiento (López-Martínez *et al.*, 1972; Manzano-Gayosso *et al.*, 1994).

En Guatemala, hasta la fecha no hay estudios que revelen la frecuencia de las dermatofitosis dentro de las micosis, pero existen algunos estudios que revelan porcentajes parciales sobre algunos aspectos epidemiológicos. Un estudio realizado por Martínez *et al.*, (2009a) quienes reportaron en el período de un año, 78 casos positivos, no hubo una frecuencia evidente asociada a género (aproximadamente 1:1), y el agente causal más frecuente fue *T. rubrum*. En otro estudio realizado por Martínez *et al.* (2009b), en 121 pacientes con sospecha clínica de *tinea capitis*, 60 presentaron resultados positivos con parasitación pilosa donde

el agente causal responsable de la mayoría de los casos fue *M. canis*, seguido de *T. rubrum* y *M. gypseum*. En República Dominicana tampoco existen estudios formales de las dermatofitosis, solo existen reportes aislados, como el reportado por Espinal *et al.* (2010), quienes estudiaron 265 muestras positivas para *tinea capitis*, el género masculino presentó un alto predominio y el agente causal responsable de la mayoría de los casos fue *M. canis* seguido de *M. audouinii*. En otro estudio realizado por Arenas *et al.* (2010b), estudiaron muestras de pacientes con *tinea capitis* y reportaron un cambio emergente en lo que respecta a los agentes causales de esta infección, mostrando a *T. tonsurans* y *M. audouinii* como los principales responsables, donde se observó que existe predominio en el género masculino de 71.18% con respecto al femenino.

En Honduras, existe poca información acerca de las dermatofitosis, sin embargo, Mejía de Calona *et al.* (1991), revisaron 646 estudios micológicos, en los que analizaron la edad, género y localización anatómica, reportaron que de 176 casos de dermatofitosis, el 45% eran causados por *T. rubrum*, seguido de *M. canis* con 22% y *T. mentagrophytes* con 18%. Paralelamente García y Meléndez (2012), determinaron las características clínico-epidemiológicas de 110 casos de *tinea capitis* en niños menores de 18 años y reportaron que el grupo de edad con mayor afectación fue de 6 a 12 años (47%), además el 86% de los casos correspondió a la *tinea capitis* tipo seca y 14% a la *tinea capitis* inflamatoria (Querion de Celso). El agente causal que se aisló con mayor frecuencia fue *M. canis* (41%), seguido de *T. tonsurans* (25%).

Por último, en Costa Rica solo se encontraron dos reportes de estas micosis superficiales, uno de ellos fue elaborado por De Mata y Mata (1959), quienes analizaron a 76 pacientes con probable dermatofitosis, de los cuales 64 casos fueron confirmados con esta micosis y la manifestación clínica que predominó fue *tinea corporis*, además reportaron que *T. rubrum* y *M. gypseum* son los agentes etiológicos que se aislaron con mayor frecuencia, mientras que la *tinea capitis* fue la segunda forma clínica que se presentó con mayor frecuencia, siendo *M. canis* el agente causal predominante. Por otro lado, el trabajo realizado por Mata y Mayorga, (1966), quienes estudiaron 12 casos de dermatofitosis, reportaron que *M. gypseum* tiene una alta frecuencia y la localización anatómica de las lesiones en estos pacientes fue en áreas descubiertas del cuerpo, donde la forma clínica predominante fue la *tinea capitis*, lo que concuerda con la naturaleza de este hongo geofílico.

Habitualmente, a nivel mundial, incluyendo México y otros países de Centroamérica, la delimitación de especies en dermatofitos, en la mayoría de los laboratorios se realiza con base en criterios micológicos o microbiológicos, incluyendo micro y macromorfología de la colonia, así como la capacidad de apareamiento y características bioquímicas/fisiológicas (Rezaei-Matehkolaei *et al.*, 2012).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El concepto filogenético de las especies ha revolucionado la taxonomía de los dermatofitos en las dos últimas décadas, por lo que, para facilitar la identificación correcta de estos hongos, se han implementado estrategias que sean menos dependientes del cultivo, como lo son los métodos moleculares. Estos métodos tienen la ventaja de ser rápidos y presentan una mayor sensibilidad y reproducibilidad. Además, la identificación de los dermatofitos a menudo es complicada y laboriosa debido a la similitud morfológica y al pleomorfismo que estos desarrollan, de igual manera requiere mucho tiempo (Kanbe *et al.*, 2008; Weitzman y Summerbell, 1995). Por lo que la combinación de métodos convencionales y moleculares, han evidenciado diferentes frecuencias de especies de dermatofitos, de acuerdo con su origen geográfico (Bassiri-Jahromi *et al.*, 2009; Mirzahoseini *et al.*, 2009; Rezaei-Matehkolaei *et al.*, 2013).

Tomando en cuenta lo anterior, la correcta identificación de las especies causantes de las dermatofitosis es importante, ya que se han observado cambios en la epidemiología de estas, mostrando un aumento en la resistencia por el uso indiscriminado de antifúngicos (Ameen, 2010; Vena *et al.*, 2012). Por lo que la identificación molecular de los dermatofitos es muy importante, dado que permitirá controlar las fuentes potenciales de infección, la selección de una terapia antifúngica adecuada y la prevención de la transmisión (Panasiti *et al.*, 2007), ya que la profilaxis y el tratamiento pueden variar dependiendo de la especie involucrada. Debido a las dificultades que presenta la taxonomía de estos hongos, el presente trabajo plantea identificar las especies de los dermatofitos incluidos en este estudio

dentro de la filogenia de los géneros, a través de la construcción de una filogenia molecular utilizando aislados clínicos procedentes de algunos países de Latinoamérica como Costa Rica, Guatemala, Honduras, México y República Dominicana.

OBJETIVO GENERAL

Comparar los métodos fenotípicos y genotípicos, para la identificación de los aislados clínicos de dermatofitos de diferentes orígenes geográficos.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Identificar los aislados clínicos de dermatofitos procedentes de Costa Rica, Guatemala, Honduras, México y República Dominicana, a través de métodos fenotípicos (macro, micromorfología y tamaño de conidios).
2. Identificar los aislados clínicos de dermatofitos procedentes de Costa Rica, Guatemala, Honduras, México y República Dominicana, por métodos genotípicos [secuenciación de fragmentos de la región del espaciador transcrito interno (ITS), del gen β - tubulina (*BT2*) y del factor de elongación 1- α (*Tef-1 α*)].
3. Comparar las secuencias obtenidas de los dermatofitos estudiados con todas las secuencias de nucleótidos pertenecientes a hongos depositadas en el GenBank (URL4), a través del programa BLASTn (*Basic Local Alignment Search Tool*), para identificar a los dermatofitos con base en el porcentaje de cobertura.

4. Construir una filogenia a partir de las secuencias problema y las de referencia, para identificar correctamente las especies de los aislados clínicos dentro de los complejos de dermatofitos, a través de los métodos de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana.
5. Comparar la identificación de los métodos fenotípicos y genotípicos de los aislados clínicos de dermatofitos procedentes de diferentes países Centroamericanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras clínicas. Se utilizaron muestras biológicas con cuadro clínico compatible con dermatofitosis, procedentes de los siguientes hospitales e institutos: Hospital de Golfito Manuel Mora Valverde de la ciudad de San José, Costa Rica, Instituto de Dermatología y Cirugía de Piel “Prof. Dr. Fernando A. Cordero C.” de la Ciudad de Guatemala, Guatemala, Hospital General “Dr. Manuel Gea González” de la Ciudad de México, México, Instituto Dermatológico y Cirugía de la Piel “Dr. Huberto Bogaert Díaz” de Santo Domingo, República Dominicana y por último el Dr. Roberto Arenas Guzmán proporcionó muestras procedentes de Honduras (Tabla 1).

Tabla 1. Aislados clínicos procedentes de diferente origen geográfico.

Región geográfica	Número de aislados
Costa Rica (CR)	1
Guatemala (GT)	55
Honduras (HN)	3
México (MX)	32
República Dominicana (DO)	3
Aislados totales	94

Caracterización fenotípica

Aislamiento de dermatofitos. Las muestras de los dermatofitos procedentes de Costa Rica, Guatemala, Honduras, México, República Dominicana, se sembraron en agar Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol (Digerido papaico de harina de soja 27.82%, dextrosa 27.82%, agar 43.11%, cicloheximida 1.11% y cloranfenicol 0.14%) (Bioxon, Becton Dickinson, México, MX) y se incubaron a 28°C por 2 semanas o hasta observar crecimiento de hongos filamentosos. Estos hongos inicialmente se observaron por la técnica de Rush-Munro, la cual consiste en

recortar un cuadro pequeño de cinta adhesiva transparente y colocarlo con la ayuda de pinzas estériles sobre la muestra del hongo de interés por el lado del adhesivo. Posteriormente, se coloca sobre un portaobjetos al cual se le añadió previamente una gota de azul de algodón. La preparación se observó en un microscopio óptico con los objetivos 10x y 40x con la finalidad de identificar estructuras características de los dermatofitos. Los hongos identificados presuntivamente como dermatofitos se aislaron y se sembraron en agar Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol (Bioxon), incubándolos a 28°C por 8-10 días para realizar el cultivo monospórico.

Obtención de cultivos monospóricos. La obtención de cultivos monospóricos se realizó con base en la metodología descrita por Frías De León *et al.* (2011), la cual consiste en utilizar los primoaislamientos de las muestras de dermatofitos, mismos que se sembraron en medio agar Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol (Bioxon) y se incubaron durante 8-10 días a 28°C. Posteriormente, se realizó una suspensión de conidios agregando 1 mL de Tween-80 al 0.05% a cada tubo de cultivo y se ajustó la cantidad de conidios a una concentración de 50 a 100 conidios/mL, utilizando una cámara de Neubauer (BRAND, Wertheim, DE). Para obtener el número de conidios/mL se utilizó la siguiente ecuación: $(A \times 10,000)/B = N$ (A= número de células; B= número de cuadrados de la cámara y N= número de conidios por mL).

Una vez ajustada la concentración de conidios, se sembraron 25 µL en una caja de Petri con medio agar papa dextrosa (APD) (almidón de papa 10.26%, dextrosa

51.28%, agar 38.46%) (Bioxon, Becton Dickinson, México, MX). El inóculo se dispersó en la placa con una varilla de vidrio estéril, las cajas se incubaron a 28°C haciendo observaciones a las 24 y 48 h, con finalidad de obtener colonias aisladas, jóvenes y sin esporular. Una vez que las colonias crecieron, se eligió una y se sembró en una caja con agar Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol (Bioxon) y APD (Bioxon) y se incubó a 28°C hasta observar una esporulación abundante.

Macromorfología. La macromorfología se realizó de acuerdo con lo reportado por Frías De León *et al.* (2011). Los aislados se sembraron en cajas de Petri con APD (Bioxon) y agar Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol (Bioxon) y se incubaron a 28°C durante 4-8 días. Posteriormente, se observaron las características morfológicas de las colonias de cada cultivo, tales como el color, el aspecto de la superficie y la pigmentación de la colonia. Para el registro de los aislados se tomaron fotografías con una cámara digital (SONY Cyber-shot 8.1 mega pixeles, México, MX).

Micromorfología. Las características micromorfológicas de los dermatofitos se analizaron mediante la técnica de microcultivo de Ridell (1950), consistió en cortar asepticamente cubos de 1.0 cm² de agar Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol (Bioxon) y medio APD (Bioxon). Se colocó un cubo de cada medio de cultivo sobre un portaobjetos estéril que previamente se colocó en una caja de Petri de vidrio y se inocularon por los cuatro lados con el aislado correspondiente, a continuación sobre cada cubo, se colocó un cubreobjetos estéril. Para evitar la deshidratación del agar durante la incubación, se colocó un algodón humedecido con agua estéril dentro de la caja de Petri y se incubó a 28°C por 4-8 días.

Posteriormente, se separó cuidadosamente el cubreobjetos del agar y se depositó sobre un portaobjetos con una gota de azul de algodón y se observó al microscopio (Olympus América Inc., Melville, NY, USA), con el fin de analizar las características morfológicas de los conidios (tamaño y forma). El registro de las características microscópicas de los aislados se realizó con una cámara digital (SONY).

Tamaño de conidios. Se realizó la observación de los conidios a un aumento de 100x y con un micrómetro ocular calibrado se realizó la medición de estos (Olympus América Inc., Melville, NY), utilizando los microcultivos obtenidos de los aislados de dermatofitos, sembrados en medio APD (Bioxon) y agar Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol e incubados a 28°C durante 4-8 días. Dependiendo de la especie del hongo se midieron 30 microconidios y/o 10 macroconidios, siguiendo la metodología descrita por Frías de León *et al.* (2011). Se procedió a obtener el factor de calibración en micrómetros (μm), para lo cual se realizó la conversión de los valores obtenidos en milímetros (mm).

Caracterización genotípica

Extracción de DNA genómico. Cada cultivo monospórico de dermatofito sembrado en APD (Bioxon) o Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol (Bioxon), fue inoculado en 50 mL de medio líquido YEPD (dextrosa 66.66%, extracto de levadura 16.67%, peptona de caseína 16.67%) y se incubaron a 37°C en agitación por 2 días o hasta observar crecimiento micelial. Se recolectó individualmente la biomasa micelial de cada aislado por filtración (con filtros swinex, 45 mm) utilizando papel Whatman No. 1 (Merck, New York, USA) estéril. En seguida, se lavó el micelio

con agua Milli Q estéril y se secó con papel filtro estéril. Se tomaron 100 mg de masa micelial seca y se depositaron en microtubos de 1.5 mL con 0.2 g de perlas de vidrio previamente estériles (400 a 455 μm de diámetro lavadas previamente con ácido clorhídrico) y se adicionó el amortiguador de lisis del Kit Comercial Wizard® Genomic DNA Purification (Promega Corporation, USA). Los tubos se colocaron en un equipo FastPrep (MP Biomedicals, Solon, Ohio, USA) y se realizaron pruebas para definir la velocidad y tiempos óptimos de agitación para obtener la mayor cantidad de masa fúngica rota. El método utilizado para el rompimiento de la pared del micelio del hongo fue el propuesto por Williams *et al.* (2001). El ensayo se inició con las siguientes condiciones: 3 periodos de 40 s a 6 m/s con 5 min de enfriamiento en hielo entre cada periodo. Se analizaron las suspensiones de micelio resultantes bajo el microscopio, para determinar el tiempo y velocidad óptima con la que se obtiene el mayor porcentaje de micelio roto y su contenido liberado dentro de la suspensión. Una vez fraccionado el micelio, se adicionó 4 μL de RNAsa-A a 100 mg/mL, la cual se agitó vigorosamente y se incubó por 15 min a 65°C, mezclando 2 o 3 veces por inversión.

Posteriormente, se adicionó 200 μL de la solución de precipitación de proteínas y se agitó vigorosamente por 20 s. La mezcla se centrifugó durante 3 min a 16,000 g, se transfirió el volumen total del sobrenadante que contenía el DNA a un tubo limpio de 1.5 mL, se añadieron 600 μL de isopropanol a temperatura ambiente, se agitó gentilmente por inversión hasta observar una masa visible, para después centrifugar 16,000 g por 1 min. Se realizó un lavado agregando 600 μL etanol al 70% y se mezcló por inversión varias veces, el etanol se eliminó de manera cuidadosa con la

ayuda de una micropipeta, se colocó el tubo boca abajo sobre un papel absorbente limpio por 15 min para dejar secar la pastilla conteniendo el DNA. Después se agregaron 100 μ L de la solución de rehidratación de DNA y se incubaron a 65°C por 1 h, mezclando periódicamente cada 10 min. La concentración del DNA se determinó comparando los DNA problema con diferentes concentraciones del fago λ (GIBCO, Brooklyn, USA) de 10, 30 y 50 ng/ μ L, por medio de una electroforesis en gel de agarosa al 1.0% teñido con GelRed™ (10,000 X, Biotium Inc., Hayward, USA) aplicando una corriente de 100 V por aproximadamente 60 min, por último, se observó el gel en un fotodocumentador GelDoc™XR (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA). También se determinó la concentración de DNA por espectrofotometría, considerando el valor de absorbancia obtenido a una longitud de onda de 260 nm. La pureza de las muestras se evaluó a través de la relación A_{260}/A_{280} y A_{260}/A_{230} , utilizando el espectrofotómetro DS-11 (DeNovix, Wilmington, DE, USA). Finalmente, el DNA purificado de cada muestra se ajustó a una concentración final de 15 ng/ μ L para su posterior utilización.

Amplificación de la región espaciadora transcrita interna (ITS). Para la amplificación por PCR se utilizaron los oligonucleótidos ITS1-F (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4-R (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (SIGMA-ALDRICH, Texas, USA), los cuales amplifican un fragmento de aproximadamente 600 pb, reportado previamente por White *et al.*, (1990). Las reacciones de amplificación por PCR se llevaron a cabo en un volumen final de 25 μ L. Se utilizaron 2.0 mM de MgCl₂ (Applied Biosystems Inc. Foster, CA, USA), 200

μM de dNTPs (Applied Biosystems Inc.), 1.0 U de *Taq* polimerasa (Applied Biosystems Inc.) y 0.5 μM de cada oligonucleótido, en un amortiguador de reacción 1X (Applied Biosystems Inc.), además se emplearon 2.0 μL de DNA genómico como templado. La amplificación se realizó en un termociclador MJ Mini™ Thermal Cycler (BioRad, Hércules, CA, USA) con las siguientes condiciones de amplificación, reportadas por Rezaei-Matehkolaei *et al.* (2014): un ciclo a 96°C por 6 min; 35 ciclos a 94°C por 1 min, 56°C por 1 min y 72°C por 45 s y un ciclo de extensión final de 72°C por 10 min. Los productos de amplificación se analizaron por electroforesis en gel de agarosa 1.5% teñido con GelRed™ (Biotium Inc.) (0.5 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$). El corrimiento electroforético se llevó a cabo a 100 V durante 60 min en amortiguador TBE 0.5X (TrisBase 62.66%, ácido bórico 31.90%, EDTA 5.44%). El estándar de tamaño molecular empleado fue de 100 pb DNA Ladder (Invitrogen). Se utilizó como testigo negativo la mezcla de reacción de PCR sin DNA. Las imágenes de los geles fueron capturadas en un MultiDoc-It™ Imaging System (Upland, CA, USA).

Amplificación de parcial del gen β -tubulina (*BT2*). Para la amplificación por PCR del fragmento del gen *BT2* se utilizaron los oligonucleótidos T1-F (5'-AACATGCGTGAGATTGTAAGT-3') y Bt2b-R (5'-ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC-3') (SIGMA-ALDRICH) que amplifican un fragmento de aproximadamente 750 pb, reportado previamente por O'Donnell y Cigelnik (1997) y Glass y Donaldson (1995). Las reacciones de amplificación por PCR se llevaron a cabo de acuerdo con lo reportado por O'Donnell y Cigelnik (1997) en un volumen final de 25 μL . Se utilizaron: 2.0 mM de MgCl_2 (Applied Biosystems

Inc.), 200 μ M de dNTPs (Applied Biosystems Inc.), 1.0 U de *Taq* polimerasa (Applied Biosystems Inc.) y 0.5 μ M de cada oligonucleótido, en amortiguador de reacción 1X (Applied Biosystems Inc.), además se ocuparon 2.0 μ L de DNA genómico como templado. La amplificación se realizó en un termociclador MJ Mini™ Thermal Cycler (BioRad) con las siguientes condiciones de amplificación, reportadas por Rezaei-Matehkolaei *et al.* (2014): un ciclo a 96°C por 6 min; 35 ciclos a 94°C por 1 min, 56°C por 1 min y 72°C por 45 s y un ciclo de extensión final de 72°C por 10 min. Los productos de amplificación se analizaron por electroforesis en gel de agarosa 1.5% teñido con GelRed™ (Biotium Inc.) (0.5 μ g/ 100 mL). El corrimiento electroforético se llevó a cabo a 100 V durante 60 min en amortiguador TBE 0.5X. El estándar de tamaño molecular que se empleó fue de 100 pb DNA Ladder (Invitrogen). Se utilizó como testigo negativo la mezcla de reacción de PCR sin DNA. Las imágenes de los geles fueron capturadas en un MultiDoc-It™ Imaging System (Upland).

Amplificación de parcial del gen factor de elongación 1- α (*Tef-1 α*). Para la amplificación por PCR del fragmento del gen *Tef-1 α* se utilizaron los oligonucleótidos EF-DermF (5'-CACATTA ACTTGGTCGTTATCG-3') y EF-DermR (5'-CATCCTTGGAGATACCAGC -3') (SIGMA-ALDRICH) que amplifican un fragmento de aproximadamente 735 pb, reportado previamente por Mirhendi *et al.* (2015). Las reacciones de amplificación por PCR se llevaron a cabo de acuerdo con lo reportado por Mirhendi *et al.* (2015) en un volumen final de 25 μ L. Se utilizaron: 2.0 mM de MgCl₂ (Applied Biosystems Inc.), 200 μ M de dNTPS (Applied Biosystems Inc.), 1.0 U de *Taq* polimerasa (Applied Biosystems Inc.) y 0.5 μ M de cada

oligonucleótido en amortiguador de reacción 1X (Applied Biosystems Inc.), además se emplearon 2.0 μ L de DNA genómico como templado. La amplificación se realizó en un termociclador MJ Mini™ Thermal Cycler (BioRad) con el siguiente programa de amplificación: un ciclo a 96°C por 6 min; 35 ciclos a 94°C por 30 s, 58°C por 30 s y 72°C por 1 min y un ciclo de extensión final de 72°C por 10 min. Los productos de amplificación se analizaron por electroforesis en gel de agarosa 1.5% teñido con GelRed™ (Biotium Inc.) (0.5 μ g/ 100 mL). El corrimiento electroforético se llevó a cabo a 100 V durante 60 min en amortiguador TBE 0.5X. El estándar de tamaño molecular que se empleó fue de 100 pb DNA Ladder (Invitrogen). Se utilizó como testigo negativo la mezcla de reacción de PCR sin DNA. Las imágenes de los geles fueron capturadas en un MultiDoc-It™ Imaging System (Upland).

Curva de DNA. Se realizaron ensayos con diferentes concentraciones de DNA (5, 10 y 15, ng/ 2 μ L), para amplificar el fragmento de la región ITS y de los genes *BT2* y *Tef-1 α* . Las PCRs se realizaron bajo las condiciones de amplificación antes mencionadas.

Secuenciación de los fragmentos amplificados. Los productos de PCR obtenidos de los aislados de dermatofitos, se enviaron a secuenciar en ambos sentidos (Macrogen Inc. Seoul, KO). Los electroferogramas de las secuencias obtenidas se editaron con el programa BioEdit ver 7.2.5 (Hall, 1999).

Análisis de las secuencias. Se compararon las secuencias obtenidas de los marcadores, con todas las secuencias de nucleótidos pertenecientes a hongos depositadas en el GenBank (URL4), a través del programa BLASTn (*Basic Local*

Alignment Search Tool) (Altschul *et al.*, 1997), (www.blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast.cgi). Los alineamientos de las secuencias de la región ITS y de los genes *BT2* y *Tef-1 α* , fueron analizados tomando en cuenta los porcentajes de cobertura (83-100%, identidad (89.77-100%) y valores de expectancia iguales a cero, lo que permitió corroborar la homología entre las secuencias obtenidas.

Análisis filogenético de las especies de los géneros de dermatofitos. Para el análisis filogenético, se eligieron secuencias de referencia de cada una de las especies correspondientes a los géneros de dermatofitos, que correspondan a la región de ITS y a los genes de *BT2* y *Tef-1 α* depositadas en el GenBank, con el fin de comparar estas secuencias con las obtenidas de los aislados clínicos y ubicar a que especie corresponden estos aislados de diferente origen geográfico. El análisis filogenético se efectuó mediante los métodos de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana. Para la obtención del árbol a través de Máxima Verosimilitud se utilizó el programa MEGAX (www.megasoftware.net/) (Kumar *et al.*, 2016) y el modelo evolutivo seleccionado fue el GTR+G+I.. Mientras que, para el árbol construido a través de Inferencia Bayesiana, se utilizó el programa Mr Bayes 3.2.2 ([//mrbayes.sourceforge.net/download.php](http://mrbayes.sourceforge.net/download.php)) (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). Los parámetros utilizados para la construcción de los árboles filogenéticos obtenidos por Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana fueron los establecidos por el programa. El método de Máxima Verosimilitud fue sustentado el bootstrap con 1000 repeticiones (Soltis y Soltis, 2003), mientras que el método de Inferencia Bayesiana, fue validado por la probabilidad posterior (Huelsenbeck y Rannala, 2004). Los

árboles filogenéticos se editaron utilizando el programa FigTree ver 7.2.5 (Hall, 1999). Para la construcción de los árboles con ambos métodos, se utilizó como grupo externo las secuencias de *Miceliophthora lutea*.

RESULTADOS

Caracterización fenotípica

Aislamiento e identificación de dermatofitos. Se analizaron 94 muestras de pacientes con dermatofitosis procedentes de Costa Rica (CR), Guatemala (GT), Honduras (HN), México (MX) y República Dominicana (DO) (Tabla 1), por la técnica de Rush Munro, agrupándolos en los géneros *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton* (Tabla 2).

Tabla 2. Identificación de dermatofitos por técnica de Rush Munro.

Clave interna	Dermatofito	Clave interna	Dermatofito
CR10	<i>T. rubrum</i>	GT58	<i>T. mentagrophytes</i>
DO19	<i>T. rubrum</i>	GT59	<i>T. mentagrophytes</i>
DO23	<i>T. rubrum</i>	GT60	<i>M. canis</i>
DO28	<i>T. mentagrophytes</i>	GT61	<i>M. canis</i>
GT01	<i>M. nanum</i>	GT62	<i>T. mentagrophytes</i>
GT02	<i>M. gypseum</i>	GT63	<i>T. mentagrophytes</i>
GT03	<i>M. gypseum</i>	GT64	<i>M. canis</i>
GT04	<i>M. gypseum</i>	GT65	<i>T. mentagrophytes</i>
GT07	<i>T. mentagrophytes</i>	GT66	<i>M. canis</i>
GT08	<i>T. mentagrophytes</i>	GT68	<i>M. gypseum</i>
GT09	<i>T. mentagrophytes</i>	GT71	<i>M. gypseum</i>
GT10	<i>M. gypseum</i>	GT75	<i>M. gypseum</i>
GT11	<i>M. gypseum</i>	HN01	<i>M. gypseum</i>
GT12	<i>M. canis</i>	HN02	<i>T. mentagrophytes</i>
GT13	<i>M. gypseum</i>	HN05	<i>T. rubrum</i>
GT14	<i>M. canis</i>	MX45	<i>T. rubrum</i>
GT15	<i>M. gypseum</i>	MX47	<i>T. rubrum</i>
GT16	<i>T. mentagrophytes</i>	MX48	<i>T. rubrum</i>
GT17	<i>M. gypseum</i>	MX51	<i>T. rubrum</i>
GT18	<i>T. mentagrophytes</i>	MX52	<i>T. rubrum</i>
GT19	<i>M. nanum</i>	MX53	<i>T. rubrum</i>
GT20	<i>M. canis</i>	MX55	<i>T. tonsurans</i>
GT22	<i>T. mentagrophytes</i>	MX56	<i>T. rubrum</i>
GT24	<i>M. gypseum</i>	MX58	<i>T. rubrum</i>
GT25	<i>T. rubrum</i>	MX59	<i>T. rubrum</i>
GT26	<i>M. gypseum</i>	MX63	<i>T. rubrum</i>
GT28	<i>M. gypseum</i>	MX66	<i>T. rubrum</i>
GT29	<i>T. mentagrophytes</i>	MX69	<i>T. mentagrophytes</i>
GT30	<i>T. mentagrophytes</i>	MX70	<i>T. rubrum</i>

GT31	<i>M. gypseum</i>	MX71	<i>E. floccosum</i>
GT33	<i>M. gypseum</i>	MX73	<i>T. rubrum</i>
GT39	<i>T. mentagrophytes</i>	MX74	<i>T. rubrum</i>
GT40	<i>T. mentagrophytes</i>	MX78	<i>T. rubrum</i>
GT41	<i>T. mentagrophytes</i>	MX79	<i>T. mentagrophytes</i>
GT42	<i>T. mentagrophytes</i>	MX81	<i>T. tonsurans</i>
GT43	<i>T. mentagrophytes</i>	MX82	<i>T. tonsurans</i>
GT45	<i>T. mentagrophytes</i>	MX83	<i>T. mentagrophytes</i>
GT46	<i>M. nanum</i>	MX85	<i>T. tonsurans</i>
GT48	<i>M. gypseum</i>	MX86	<i>T. tonsurans</i>
GT49	<i>M. gypseum</i>	MX87	<i>T. rubrum</i>
GT51	<i>T. mentagrophytes</i>	MX89	<i>T. rubrum</i>
GT52	<i>M. gypseum</i>	MX91	<i>T. rubrum</i>
GT53	<i>M. canis</i>	MX94	<i>T. rubrum</i>
GT54	<i>M. gypseum</i>	MX100	<i>T. rubrum</i>
GT55	<i>M. gypseum</i>	MX102	<i>T. tonsurans</i>
GT56	<i>M. canis</i>	MX122	<i>T. rubrum</i>
GT57	<i>T. mentagrophytes</i>	MX127	<i>T. rubrum</i>

CR= Costa Rica; GT= Guatemala; HN= Honduras; MX=México; DO= República Dominicana.

Obtención de cultivos monospóricos. Se obtuvieron 94 aislados pertenecientes a las especies de los dermatofitos incluidos en el estudio y se conservaron en una solución de Tween-80 al 0.05%, como se mencionó previamente en materiales y métodos.

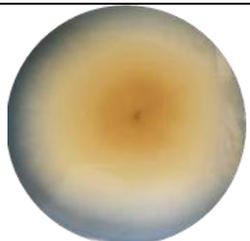
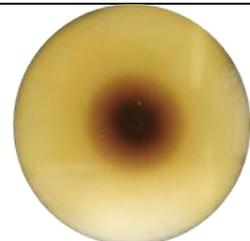
Macromorfología. Se identificaron 27 aislados como *T. rubrum*; esta especie se caracteriza por presentar colonias vellosas o algodonosas, de color blanco y en algunas ocasiones el micelio se torna de color rosa; al reverso suelen presentar una pigmentación amarillenta o de color rojo vino. (Tabla 3).

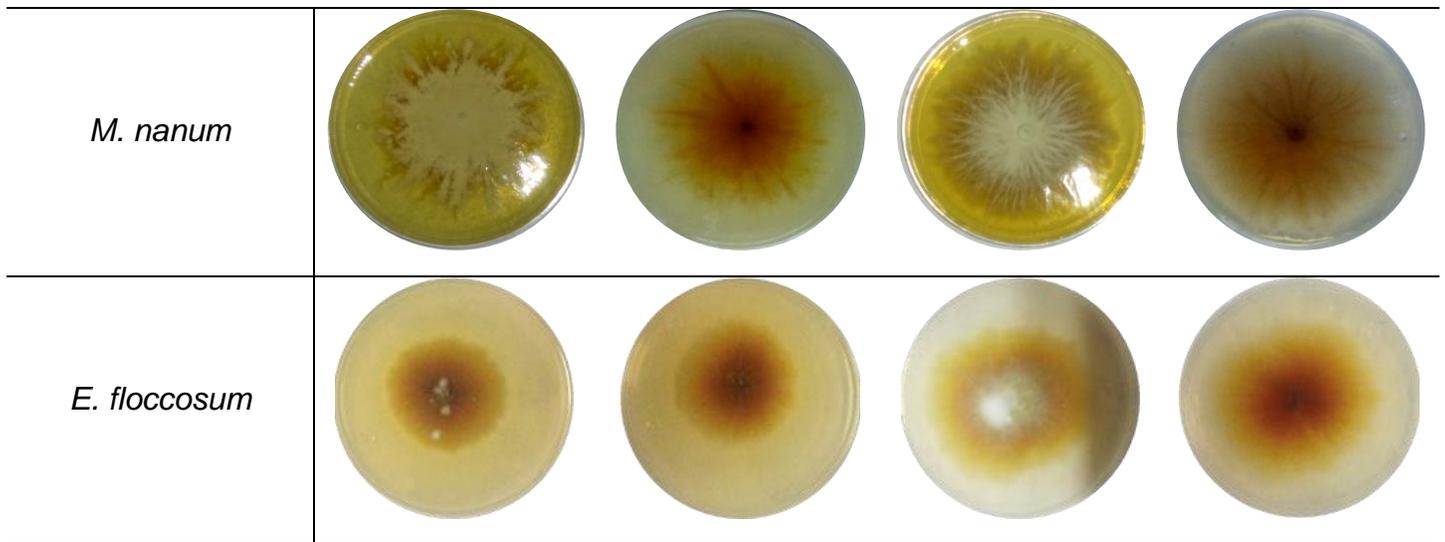
Los 27 aislados identificados como *T. mentagrophytes*, presentaron colonias de aspecto veloso o pulverulento, seca, de color blanco o blanco-amarillento; en algunos aislados al reverso desarrollaron pigmento rojo vino (Tabla 3). Los 21

aislados identificados como *M. gypseum*, mostraron colonias ilimitadas, pulverulentas, secas, de color blanco o ante; al reverso la mayoría no presentaron algún pigmento (Tabla 3.)

Además se identificación nueve aislados como *M. canis*; esta especie se caracteriza por desarrollar colonias vellosas, planas, radiales, de color amarillo con micelio blanco; al verso presentaron pigmento amarillo (Tabla 3). Los seis aislados como *T. tonsurans*, presentaron colonias de aspecto aterciopelado, limitada, de color blanco o amarillento, algunas presentaron formas cerebriformes o crateriforme; al reverso se observó una pigmentación café oscuro (Tabla 3). Los tres aislados como *M. nanum*, desarrollaron colonias, pulverulentas, de color ante o café, planas, limitadas; al reverso presentaron pigmento café oscuro. Finalmente el aislado como *E. floccosum*, presentó una colonia aterciopelada, limitada, de color amarillo, con algunas formaciones algodonosas; al reveso se observó producción de pigmento amarillo-verdoso. (Tabla 3). En el Anexo I, se muestra todas las colonias obtenidas en el presente trabajo, junto con la descripción de cada uno de los aislados clínicos.

Tabla 3. Macromorfología típica de las especies de dermatofitos.

Dermatofito	Agar Sabouraud con Cicloheximida y Cloranfenicol		Agar papa dextrosa	
	Anverso	Reverso	Anverso	Reverso
<i>T. rubrum</i>				
<i>T. mentagrophytes</i>				
<i>T. tonsurans</i>				
<i>M. gypseum</i>				
<i>M. canis</i>				



Micromorfología. Se observó la morfología microscópica con un aumento de 100x, a partir de microcultivos obtenidos con los medios APD y Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol.

Los aislados identificados como *T. rubrum* desarrollaron abundante micelio delgado y tabicado. La mayoría de los aislados presentaron escasos microconidios piriformes, los cuales se encontraban dispuestos de forma alterna a lo largo del micelio y en forma libre (Anexo 1). Los aislados CR10 y MX56 no presentaron estructuras de reproducción, solo se observó micelio estéril.

Los aislados identificados como *T. mentagrophytes* que presentaron aspecto algodonoso, desarrollaron abundante micelio tabicado, delgado, en forma de espirales y/o zarcillos, mientras que los otros aislados que presentaron aspecto pulverulento, mostraron abundante micelio delgado y tabicado. En ambas morfologías se desarrollaron abundantes microconidios redondos y en menor proporción con forma piriforme, los cuales se encontraban libres (Anexo 1). En los

aislados GT22, GT40, GT63, HN02 y MX79 se observaron escasos macroconidios en forma de puro con paredes lisas, los cuales contenían 2 a 7 lóculos.

Los aislados identificados como *T. tonsurans*, desarrollaron micelio delgado y tabicado. Presentaron abundantes microconidios piriformes y redondos dispuestos de manera encontrada y alterna a lo largo del micelio, así como en forma libre. Sin embargo, en el aislado MX86 no se observaron conidios, solo se observó micelio estéril (Anexo 1).

Por otro lado, los aislados identificados como *M. gypseum* desarrollaron poco micelio delgado y tabicado. Presentaron abundantes macroconidios en forma de huso con 4 a 6 lóculos, cuya membrana era delgada y rara vez ondulada, en algunos casos se observó un contorno irregular. En 15 aislados se observaron microconidios piriformes que se encontraban de forma libre (Anexo 1).

Los aislados identificados como *M. canis* desarrollaron abundante micelio delgado, tabicado y ramificado. Presentaron macroconidios en forma de huso con una membrana gruesa y en ocasiones espiculadas, con más de 6 lóculos. En los aislados GT12, GT20, GT56 y GT61 se observaron pocos microconidios piriformes dispuestos a lo largo del micelio en forma alterna, mientras que en el aislado GT64 no presentó conidios, solo se observó micelio estéril (Anexo 1).

Los aislados identificados como *M. nanum* presentaron micelio delgado y tabicado. Desarrollaron abundantes macroconidios piriformes (en forma de “pera”), una membrana delgada y lisa, con 2 lóculos. No se observaron microconidios. Por último, el aislado identificado como *E. floccosum* desarrolló micelio delgado y

tabicado. Presentó abundantes macroconidios en forma de bastón con una membrana lisa, tenían entre 2 a 4 lóculos, la mayoría estaban dispuestos en grupos y no desarrolló microconidios (Anexo 1).

Tamaño de conidios. Las medidas correspondientes a los microconidios de los aislados identificados como *T. rubrum* abarcaron valores de largo y ancho entre 2.5 a 4.5 μm y 1.2 a 2.0 μm , respectivamente. Respecto a los microconidios de los aislados de *T. mentagrophytes*, el largo comprendió valores entre 2.1 a 5.5 μm y el ancho entre 1.1 a 4.3 μm ; en cuanto a los cinco aislados que desarrollaron macroconidios, los valores de largo y ancho oscilaron entre 14.0 a 28.4 μm y 2.2 a 4.3 μm , respectivamente, mientras que rango en el número de lóculos presentes fue de 2 a 7, siendo 3 lóculos lo más frecuente. Con respecto a los microconidios de la especie de *T. tonsurans*, el largo abarcó valores entre 3.5 a 3.9 μm y el ancho entre 1.8 a 2.2 μm (Tabla 4).

Por otro lado, el tamaño correspondiente a los macroconidios de los aislados de *M. gypseum*, estuvo entre 37.7 a 47.1 μm de largo y de 9.0 a 16.0 μm para el ancho, además el número de lóculos observados fue 3 a 6 lóculos, siendo 6 lóculos lo más frecuente; con respecto a los aislados que desarrollaron microconidios, el largo osciló entre 3.6 a 5.8 μm , mientras que el ancho estuvo en un rango de 1.6 a 2.6 μm . Con relación al tamaño de los macroconidios de la especie *M. canis*, los valores de largo estuvieron entre 48.1 a 73.9 μm , de ancho entre 12.6 a 22.1 μm y el número de lóculos observados fue de 5 a 10, siendo 7 lóculos lo más frecuente: en cuanto a los aislados que desarrollaron microconidios, los valores de largo y ancho oscilaron entre 4.0 a 4.2 μm y 1.2 a 2.0 μm , respectivamente (Tabla 4).

En relación con los macroconidios de los aislados de *M. nanum*, estos presentaron valores entre 14.7 a 16.9 μm de largo, de 8.2 a 8.9 μm para el ancho y el rango en el número de lóculos presentes fue de 1 a 2, siendo 2 lóculos lo más frecuente. Finalmente, el aislado MX71 identificado como *E. floccosum*, presentó macroconidios, con tamaño entre 20.0 a 28.0 μm de largo y de ancho 6.2 a 9.3 μm y el número de lóculos observados fue de 1 a 4 lóculos, siendo 3 lóculos el de mayor frecuencia.

La Tabla 4, muestra el tamaño promedio de conidios, así como la desviación estándar de las especies de dermatofitos identificadas por métodos fenotípicos, es importante mencionar que el promedio de los conidios fue calculado a partir de la medición de 30 microconidios y/o 10 macroconidios dependiendo de la especie.

Tabla 4. Tamaño de conidios de dermatofitos.

Especie	Microconidios (\bar{x}) μm		Macroconidios (\bar{x}) μm		
	Largo	Ancho	Largo	Ancho	# Lóculos
<i>T. rubrum</i>	3.5 \pm 0.4	1.7 \pm 0.2	-	-	-
<i>T. mentagrophytes</i>	2.8 \pm 0.7	2.1 \pm 0.6	18.6 \pm 5.7	3.3 \pm 0.9	2 a 7
<i>T. tonsurans</i>	3.7 \pm 0.1	2.0 \pm 0.2	-	-	-
<i>M. gypseum</i>	4.4 \pm 0.7	2.0 \pm 0.3	40.1 \pm 2.9	11.1 \pm 2.1	3 a 6
<i>M. canis</i>	4.0 \pm 0.2	1.6 \pm 0.3	50.4 \pm 9.4	15.5 \pm 3.6	5 a 10
<i>M. nanum</i>	-	-	11.9 \pm 1.1	8.5 \pm 0.3	1 a 2
<i>E. floccosum</i>	-	-	22.5 \pm 2.7	7.6 \pm 1.1	2 a 4

Caracterización genotípica

Extracción de DNA genómico. La concentración, calidad y pureza de DNA se determinaron por electroforesis y espectrofotometría. En el análisis cualitativo por electroforesis, se comparó la concentración del DNA de los aislados estudiados con diferentes concentraciones del fago λ para estimar la concentración de cada uno y analizar la integridad del DNA (Figura 1). En el análisis cuantitativo por espectrofotometría, se obtuvieron concentraciones variables de DNA que oscilaron entre 25.53 - 5870.08 ng/ μ L (Tabla 5), la pureza de los DNAs (relación A_{260}/A_{280}) se encontraron dentro de los valores óptimos de 1.8-2.0, por lo que se consideran aceptables.

Tabla 5. Cuantificación del DNA por espectrofotometría.

Clave interna	[DNA] ng/ μ L	Clave interna	[DNA] ng/ μ L
CR10	3.50	GT58	41.35
DO19	28.55	GT59	43.25
DO23	15.70	GT60	25.53
DO28	79.70	GT61	39.95
GT01	112.93	GT62	293.55
GT02	92.50	GT63	1814.38
GT03	1062.33	GT64	652.53
GT04	1153.55	GT65	64.95
GT07	1670.60	GT66	2053.90
GT08	22.85	GT68	640.60
GT09	785.50	GT71	1672.50
GT10	128.65	GT75	227.33
GT11	441.63	HN01	165.50
GT12	49.00	HN02	60.70
GT13	22.93	HN05	1497.27
GT14	263.23	MX45	985.20
GT15	23.85	MX47	3314.33
GT16	166.53	MX48	770.05
GT17	504.98	MX51	1781.63
GT18	73.22	MX52	545.57
GT19	124.03	MX53	1542.83
GT20	180.43	MX55	597.98
GT22	313.35	MX56	575.08

GT24	300.28	MX58	407.93
GT25	1142.80	MX59	37.30
GT26	2290.73	MX63	636.18
GT28	5307.00	MX66	2000.78
GT29	25.95	MX69	567.25
GT30	99.98	MX70	565.58
GT31	22.76	MX71	141.28
GT33	87.93	MX73	1789.55
GT39	382.83	MX74	5870.08
GT40	221.35	MX78	387.63
GT41	878.63	MX79	1324.85
GT42	101.45	MX81	45.70
GT43	2434.80	MX82	125.00
GT45	71.93	MX83	426.28
GT46	56.42	MX85	1091.90
GT48	69.28	MX86	704.58
GT49	3221.35	MX87	787.35
GT51	3546.43	MX89	1048.43
GT52	3549.28	MX91	735.87
GT53	265.55	MX94	1476.45
GT54	48.45	MX100	472.93
GT55	455.45	MX102	2027.68
GT56	56.63	MX122	455.40
GT57	91.15	MX127	149.20

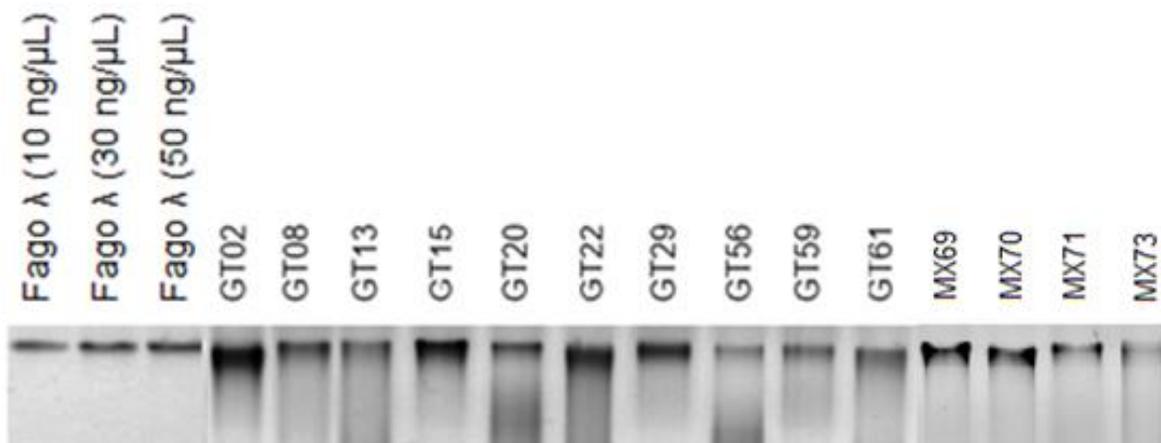


Figura 1. Comparación de DNA de aislados de dermatofitos con distintas concentraciones del fago λ . La electroforesis se realizó en gel de agarosa al 1% teñido con GelRed™ (10,000, Biotium, USA) a 100 V, 60min.

Amplificación del marcador ITS. Una vez estandarizadas las condiciones, se procedió a la realización de los ensayos de PCR con el marcador ITS, los cuales se llevaron a cabo usando el DNA de los 94 aislados. En la Figura 2 se muestra el producto de la región ITS de algunos DNA problema, donde el tamaño del amplicon se encuentra entre 550-600 pb.

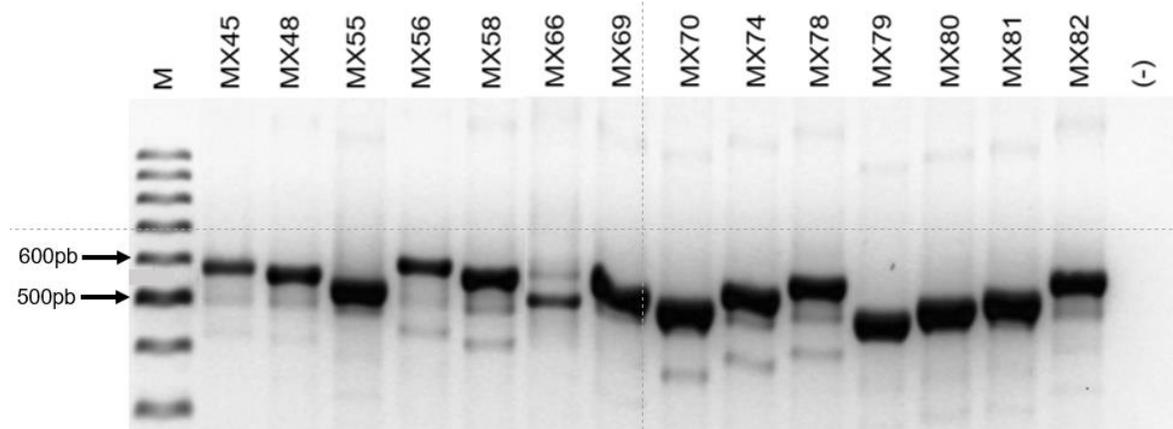


Figura 2. Amplificación por PCR del marcador ITS con DNA de aislados de dermatofitos. La electroforesis se realizó en gel de agarosa al 1.5% teñido con GelRed™ (10,000, Biotium) a 60 V, 90min. M: Marcador de tamaño molecular de 100pb DNA Ladder; (-): Testigo negativo.

Amplificación del marcador β -tubulina (*BT2*). Una vez optimizadas las condiciones de amplificación, se realizó la PCR para amplificar la región del gen de β -tubulina de los 94 aislados. En la Figura 3 se muestra el producto del gen de *BT2* de algunos DNA problema, donde el tamaño del amplicon se encuentra entre 600-750 pb.

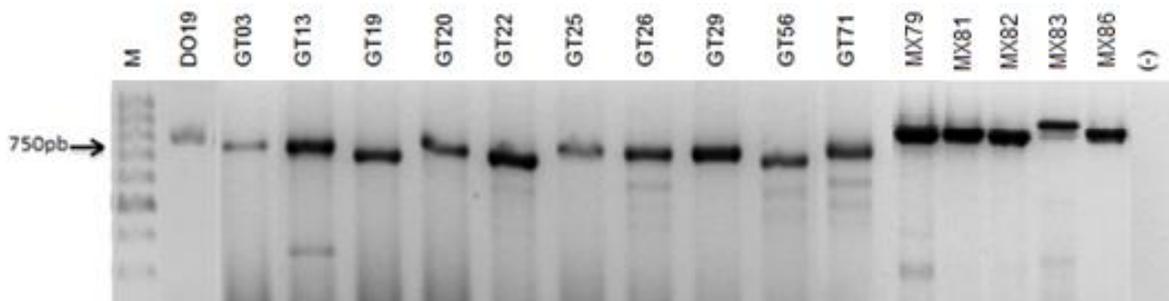


Figura 3. Amplificación por PCR del marcador *BT2* con DNA de aislados de dermatofitos. La electroforesis se realizó en gel de agarosa al 1.5% teñido con GelRed™ (10,000, Biotium) a 60 V, 90min. M: Marcador de tamaño molecular de 100 pb DNA Ladder; (-): Testigo negativo.

Amplificación del marcador factor de elongación 1- α (*Tef-1 α*). Una vez optimizadas las condiciones de amplificación, se empleó la técnica de PCR para amplificar la región del gen de *Tef-1 α* de los 94 aislados. La Figura 4 muestra el producto del gen de *Tef-1 α* de algunos DNA problema, donde el tamaño del amplicon se encuentra entre 650-750 pb.

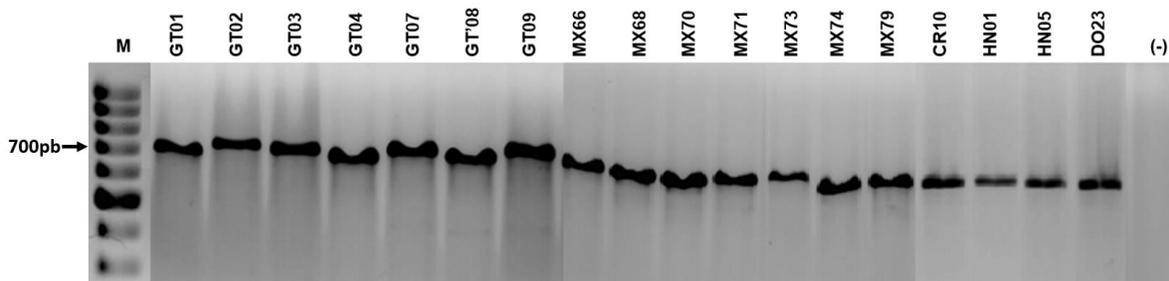


Figura 4. Amplificación por PCR del marcador *Tef-1 α* con DNA de aislados de dermatofitos. La electroforesis se realizó en gel de agarosa al 1.5% teñido con GelRed™ (10,000, Biotium) a 60 V, 90min. M: Marcador de tamaño molecular de 100 pb DNA Ladder; (-): Testigo negativo.

Análisis de las secuencias de dermatofitos a través del programa BLASTn para identificar las secuencias. Las secuencias consenso de los tres marcadores, fueron comparadas con la base de datos del GenBank mediante el programa

BLASTn, el porcentaje de cobertura e identificación, así como, el valor de expectación fueron los parámetros utilizados para verificar la calidad de la secuencia. Las secuencias obtenidas a partir de la región ITS, mostraron un porcentaje de cobertura en un rango de 83-100%, con un porcentaje de identidad entre 89.77-100%, por último, todas las secuencias presentaron un valor de expectancia de cero (Tabla 6). De acuerdo con estos resultados, las secuencias de los 94 aislados, fueron identificados como: 25 aislados como *T. rubrum*, 15 como *T. interdigitale*, 12 como *N. gypsea*, 11 como *T. mentagrophytes*, nueve como *M. canis*, ocho como *N. incurvata*, cinco como *T. tonsurans*, cuatro como *T. equinum*, tres como *N. nana*, uno como *N. fulva* y uno como *E. floccosum*.

Tabla 6. Identidad de las secuencias de la región ITS con el programa BLASTn.

Clave interna	Especie identificada	% Cobertura	Valor de expectancia	% Identidad
CR10	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	99.70
DO19	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	100
DO23	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
DO28	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	99.85
GT01	<i>N. nana</i>	99	0.0	100
GT02	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	100
GT03	<i>N. incurvata</i>	100	0.0	99.83
GT04	<i>N. incurvata</i>	100	0.0	99.83
GT07	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT08	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	99.86
GT09	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	99.85
GT10	<i>N. incurvata</i>	100	0.0	100
GT11	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	99.33
GT12	<i>M. canis</i>	83	0.0	89.77
GT13	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	99.81
GT14	<i>M. canis</i>	100	0.0	98.59
GT15	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	99.68
GT16	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	99.85
GT17	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	99.65
GT18	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	99.29
GT19	<i>N. nana</i>	99	0.0	95.78
GT20	<i>M. canis</i>	88	0.0	97.22
GT22	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT24	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	100

GT25	<i>T. rubrum</i>	99	0.0	99.53
GT26	<i>N. incurvata</i>	100	0.0	99.66
GT28	<i>N. incurvata</i>	99	0.0	100
GT29	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
GT30	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
GT31	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	100
GT33	<i>N. incurvata</i>	100	0.0	99.83
GT39	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT40	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	99.84
GT41	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	99.04
GT42	<i>T. mentagrophytes</i>	99	0.0	100
GT43	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
GT45	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
GT46	<i>N. nana</i>	100	0.0	99.44
GT48	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	99.28
GT49	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	99.81
GT51	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT52	<i>N. incurvata</i>	100	0.0	100
GT53	<i>M. canis</i>	100	0.0	100
GT54	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
GT55	<i>N. gypsea</i>	98	0.0	98.98
GT56	<i>M. canis</i>	100	0.0	99.35
GT57	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	99.70
GT58	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
GT59	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
GT60	<i>M. canis</i>	99	0.0	98.99
GT61	<i>M. canis</i>	100	0.0	98.13
GT62	<i>T. mentagrophytes</i>	99	0.0	99.85
GT63	<i>T. interdigitale</i>	99	0.0	98.40
GT64	<i>M. canis</i>	100	0.0	100
GT65	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	99.84
GT66	<i>M. canis</i>	100	0.0	99.82
GT68	<i>N. incurvata</i>	100	0.0	100
GT71	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	100
GT75	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	100
HN01	<i>N. fulva</i>	100	0.0	99.10
HN02	<i>T. mentagrophytes</i>	98	0.0	99.07
HN05	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX45	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	99.78
MX47	<i>T. rubrum</i>	99	0.0	99.48
MX48	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	100
MX51	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX52	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX53	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX55	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	99.85
MX56	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	99.85
MX58	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX59	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX63	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	99.12
MX66	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100

MX69	<i>T. tonsurans</i>	99	0.0	99.54
MX70	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX71	<i>E. floccosum</i>	100	0.0	99.19
MX73	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX74	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX78	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX79	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
MX81	<i>T. equinum</i>	100	0.0	100
MX82	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	100
MX83	<i>T. mentagrophytes</i>	99	0.0	99.85
MX85	<i>T. equinum</i>	98	0.0	98.53
MX86	<i>T. equinum</i>	100	0.0	98.44
MX87	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX89	<i>T. rubrum</i>	99	0.0	99.85
MX91	<i>T. rubrum</i>	99	0.0	97.44
MX94	<i>T. rubrum</i>	99	0.0	98.55
MX100	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX102	<i>T. equinum</i>	100	0.0	100
MX122	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX127	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100

Las secuencias obtenidas con el gen *BT2*, presentaron un porcentaje de cobertura entre 85-100%, con un rango de identidad de 90.23-100%, finalmente todas las secuencias presentaron un valor de expectancia de cero (Tabla 7). De acuerdo con estos resultados, las secuencias de los 94 aislados, fueron identificados como: 25 aislados como *T. rubrum*, 14 como *T. mentagrophytes*, 12 como *T. interdigitale*, 12 como *Microsporum* sp., nueve como *M. gypseum*, nueve como *A. otae*, siete como *T. tonsurans*, tres como *A. obtusum*, dos como *T. equinum* y uno como *E. floccosum*.

Tabla 7. Identidad de las secuencias del gen de *BT2* con el programa BLASTn.

Clave interna	Especie identificada	% Cobertura	Valor de expectancia	% Identidad
CR10	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
DO19	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	99.87
DO23	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	99.87
DO28	<i>T. interdigitale</i>	96	0.0	100
GT01	<i>A. obtusum</i>	100	0.0	98.46
GT02	<i>M. gypseum</i>	100	0.0	99.86
GT03	<i>Microsporum</i> sp.	97	0.0	97.01
GT04	<i>Microsporum</i> sp.	100	0.0	98.29
GT07	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100

GT08	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	99.71
GT09	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT10	<i>Microsporum</i> sp.	100	0.0	98.29
GT11	<i>M. gypseum</i>	100	0.0	99.69
GT12	<i>A. otae</i>	100	0.0	100
GT13	<i>M. gypseum</i>	100	0.0	99.87
GT14	<i>A. otae</i>	99	0.0	99.09
GT15	<i>M. gypseum</i>	100	0.0	99.86
GT16	<i>T. mentagrophytes</i>	98	0.0	98.90
GT17	<i>M. gypseum</i>	100	0.0	100
GT18	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	99.84
GT19	<i>A. obtusum</i>	99	0.0	99.45
GT20	<i>A. otae</i>	100	0.0	99.70
GT22	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
GT24	<i>Microsporum</i> sp.	100	0.0	98.62
GT25	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
GT26	<i>Microsporum</i> sp.	94	0.0	98.23
GT28	<i>Microsporum</i> sp.	100	0.0	98.33
GT29	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
GT30	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	99.86
GT31	<i>M. gypseum</i>	95	0.0	97.74
GT33	<i>Microsporum</i> sp.	100	0.0	98.60
GT39	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT40	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT41	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	99.29
GT42	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT43	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT45	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT46	<i>A. obtusum</i>	99	0.0	92.46
GT48	<i>M. gypseum</i>	100	0.0	99.86
GT49	<i>Microsporum</i> sp.	98	0.0	96.41
GT51	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT52	<i>Microsporum</i> sp.	100	0.0	98.57
GT53	<i>A. otae</i>	100	0.0	100
GT54	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT55	<i>Microsporum</i> sp.	100	0.0	98.92
GT56	<i>A. otae</i>	99	0.0	99.74
GT57	<i>T. mentagrophytes</i>	85	0.0	99.47
GT58	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
GT59	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
GT60	<i>A. otae</i>	100	0.0	100
GT61	<i>A. otae</i>	99	0.0	98.94
GT62	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
GT63	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
GT64	<i>A. otae</i>	97	0.0	98.92
GT65	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT66	<i>A. otae</i>	100	0.0	100
GT68	<i>Microsporum</i> sp.	100	0.0	98.62
GT71	<i>M. gypseum</i>	99	0.0	98.87
GT75	<i>M. gypseum</i>	100	0.0	100

HN01	<i>Microsporium</i> sp.	99	0.0	90.23
HN02	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	100
HN05	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX45	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	99.68
MX47	<i>T. rubrum</i>	98	0.0	99.57
MX48	<i>T. rubrum</i>	99	0.0	98.33
MX51	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX52	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	99.87
MX53	<i>T. rubrum</i>	99	0.0	94.87
MX55	<i>T. rubrum</i>	99	0.0	99.61
MX56	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	99.08
MX58	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX59	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	100
MX63	<i>T. rubrum</i>	99	0.0	100
MX66	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX69	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	100
MX70	<i>T. rubrum</i>	99	0.0	99.04
MX71	<i>E. floccosum</i>	100	0.0	99.68
MX73	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX74	<i>T. rubrum</i>	99	0.0	100
MX78	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX79	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
MX81	<i>T. tonsurans</i>	99	0.0	100
MX82	<i>T. equinum</i>	100	0.0	100
MX83	<i>T. interdigitale</i>	100	0.0	99.49
MX85	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	100
MX86	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	100
MX87	<i>T. rubrum</i>	99	0.0	99.41
MX89	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX91	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX94	<i>T. rubrum</i>	99	0.0	100
MX100	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	99.54
MX102	<i>T. equinum</i>	100	0.0	100
MX122	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX127	<i>T. tonsurans</i>	99	0.0	99.86

Por último, las secuencias obtenidas con el gen *Tef-1α*, presentaron un porcentaje de cobertura entre 85-100%, con un rango de identidad entre 90.23-100%, finalmente todas las secuencias presentaron un valor de expectancia de cero (Tabla 8). De acuerdo con estos resultados, las secuencias de los 94 aislados, fueron identificados como: 26 aislados como *T. rubrum*, 26 como *T. mentagrophytes*, 11 como *N. incurvata*, nueve como *N. gypsea*, nueve como *M. canis*, cinco como *T.*

tonsurans, tres como *T. equinum*, tres como *N. nana*, uno como *N. fulva* y uno como *E. floccosum*.

Tabla 8. Identidad de las secuencias del gen *Tef-1α* con el programa BLASTn.

Clave interna	Especie identificada	% Cobertura	Valor de expectancia	% Identidad
CR10	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
DO19	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	99.86
DO23	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
DO28	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	99.86
GT01	<i>N. nana</i>	100	0.0	100
GT02	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	98.01
GT03	<i>N. incurvata</i>	99	0.0	100
GT04	<i>N. incurvata</i>	99	0.0	100
GT07	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT08	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT09	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT10	<i>N. incurvata</i>	99	0.0	100
GT11	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	97.21
GT12	<i>M. canis</i>	100	0.0	100
GT13	<i>N. gypsea</i>	99	0.0	97.73
GT14	<i>M. canis</i>	100	0.0	99.84
GT15	<i>N. gypsea</i>	1000	0.0	98.96
GT16	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT17	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	98.70
GT18	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT19	<i>N. nana</i>	100	0.0	100
GT20	<i>M. canis</i>	100	0.0	100
GT22	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT24	<i>N. incurvata</i>	99	0.0	100
GT25	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
GT26	<i>N. incurvata</i>	99	0.0	99.86
GT28	<i>N. incurvata</i>	99	0.0	100
GT29	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT30	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT31	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	96.65
GT33	<i>N. incurvata</i>	99	0.0	100
GT39	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT40	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT41	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	99.57
GT42	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT43	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT45	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT46	<i>N. nana</i>	100	0.0	100
GT48	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	96.28
GT49	<i>N. incurvata</i>	99	0.0	100
GT51	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	99.86
GT52	<i>N. incurvata</i>	100	0.0	100
GT53	<i>M. canis</i>	100	0.0	99.86

GT54	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT55	<i>N. incurvata</i>	99	0.0	100
GT56	<i>M. canis</i>	100	0.0	100
GT57	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT58	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT59	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT60	<i>M. canis</i>	100	0.0	100
GT61	<i>M. canis</i>	100	0.0	99.86
GT62	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT63	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT64	<i>M. canis</i>	100	0.0	100
GT65	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
GT66	<i>M. canis</i>	100	0.0	100
GT68	<i>N. incurvata</i>	100	0.0	100
GT71	<i>N. gypsea</i>	99	0.0	98.92
GT75	<i>N. gypsea</i>	100	0.0	96.53
HN01	<i>N. fulva</i>	100	0.0	97.02
HN02	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
HN05	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX45	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	94.79
MX47	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX48	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX51	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX52	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX53	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	99.85
MX55	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	100
MX56	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	99.84
MX58	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX59	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX63	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX66	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX69	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	100
MX70	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX71	<i>E. floccosum</i>	100	0.0	100
MX73	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX74	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX78	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX79	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
MX81	<i>T. equinum</i>	100	0.0	100
MX82	<i>T. equinum</i>	100	0.0	100
MX83	<i>T. mentagrophytes</i>	100	0.0	100
MX85	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	100
MX86	<i>T. tonsurans</i>	100	0.0	100
MX87	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX89	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX91	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX94	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	99.84
MX100	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100
MX102	<i>T. equinum</i>	100	0.0	100
MX122	<i>T. rubrum</i>	100	0.0	100

Análisis filogenético. Para determinar la posición filogenética de los aislados de las diferentes especies de dermatofitos, se construyeron árboles filogenéticos con cada uno de los marcadores (ITS, *BT2* y *Tef-1 α*), así como, el árbol con las secuencias concatenadas. Los métodos empleados para la generación de los árboles fueron los de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana.

Máxima Verosimilitud. El árbol filogenético inferido a partir de las secuencias de la región ITS, mostró ocho grupos principales (Figura 5). El grupo **I**, lo formaron tres subgrupos. El subgrupo **la**, incluyó sólo la secuencia de referencia de *T. mentagrophytes* (No. Acceso Z98000.1). El subgrupo **lb**, lo integraron nueve aislados identificados como *T. tonsurans* y *T. equinum* coincidiendo con las secuencias de referencia de estas especies [*T. tonsurans* (No. Acceso JN134084.1) y *T. equinum* (No. Acceso JN134108.1)], presentando un valor de bootstrap de 91.5%. El subgrupo **lc**, agrupó 26 aislados identificados como *T. interdigitale* y *T. mentagrophytes*, estos se asociaron con la secuencia de referencia de *T. interdigitale* (No. Acceso JN134005.1), con un valor de bootstrap de 75%.

El grupo **II**, lo constituyeron 25 aislados, los cuales se relacionaron con las secuencias de referencia de *T. rubrum* (No. Acceso JN134037.1) y *T. violaceum* (No. Acceso JN134104.1). El grupo **III**, ubicó el aislado GT01, identificado como *N. nana*, el cual que no se agrupó con ninguna secuencia de referencia.

El grupo **IV**, lo integraron tres subgrupos. El subgrupo **IVa**, formado por nueve aislados, agrupándose con las secuencias de referencia de *N. gypsea* (No. Acceso

JN134132.1) y *M. gypseum* (No. Acceso GU291264.1), presentando un bootstrap de 71.1%. El subgrupo **IVb**, lo conformó el aislado HN01, el cual se asoció con la secuencia de referencia de *N. fulva* (No. Acceso EF078472.1), con un valor de bootstrap de 95.8%. El subgrupo **IVc**, lo integraron 11 aislados, estos se relacionaron con la secuencia de referencia de *N. incurvata* (No. Acceso MH378242.1). El valor de soporte de bootstrap fue de 91.3%.

El grupo **V**, lo constituyeron dos aislados, asociándose con la secuencia de referencia de *N. nana* (No. Acceso JN134095.1), con un valor de bootstrap de 99.6%. El grupo **VI**, se formó por el aislado MX71, el cual se agrupó con la secuencia de referencia de *E. floccosum* (No. Acceso JN134157.1), obteniendo un valor de bootstrap de 96.1%. El grupo **VII**, correspondió a la secuencia de referencia *Myceliophthora lutea* (No. Acceso KM655312.1), seleccionado como grupo externo. Finalmente, el grupo **VIII**, lo integraron nueve aislados, los cuales se asociaron a las secuencias de referencia de *M. canis* (No. Acceso JN134128.1) y *A. otae* (No. Acceso AB193632.1). El valor de bootstrap fue de 98.9%. El soporte de todos los grupos tuvo un intervalo de bootstrap de 70-100% (Kasuga *et al.*, 1999).

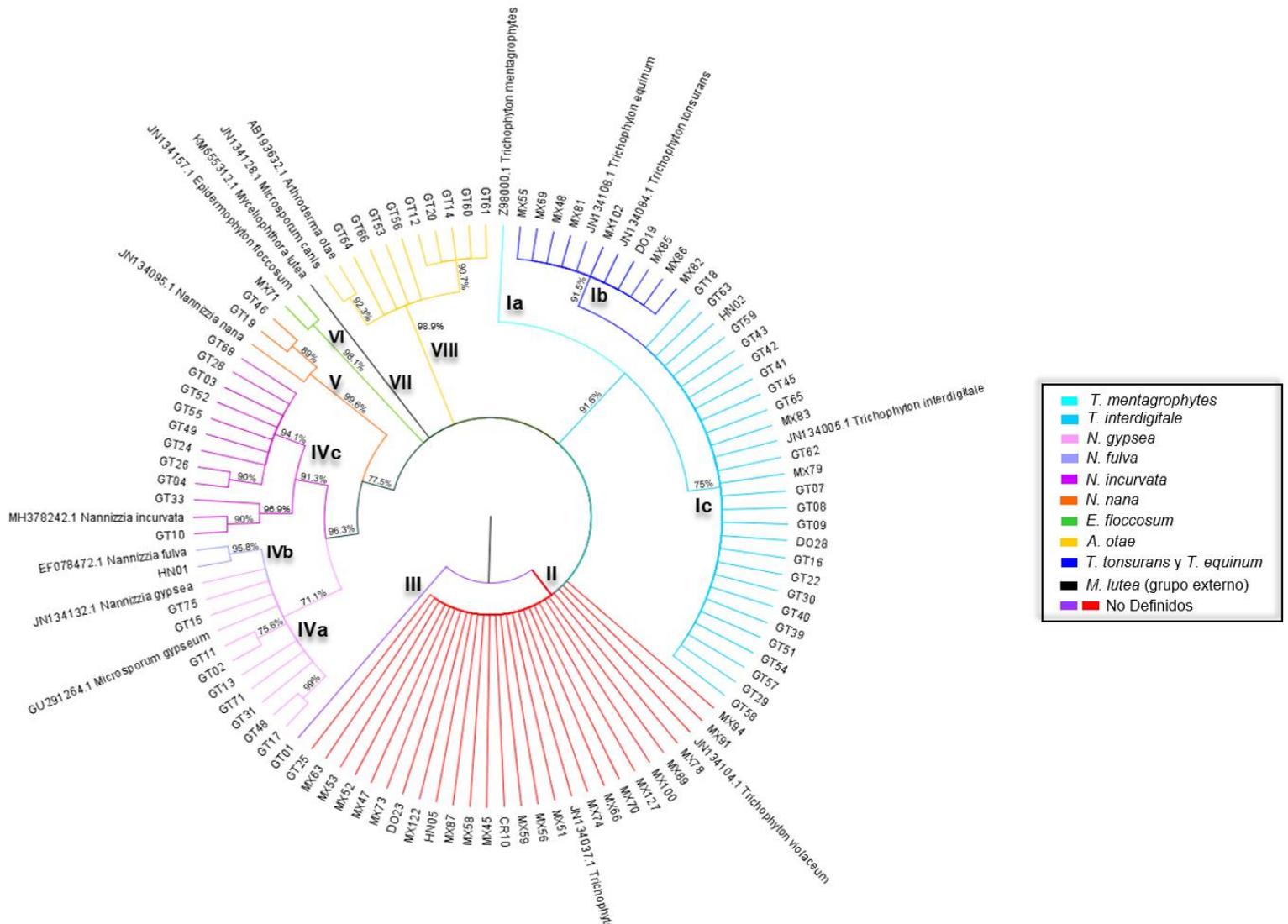


Figura 5. Árbol filogenético de dermatofitos construido a partir de las secuencias de la región ITS, con base en el método de Máxima Verosimilitud utilizando el programa MEGAX. Los valores de soporte de bootstrap se muestran en los nodos.

Por otro lado, el árbol filogenético construido a partir de las secuencias del gen *BT2*, se dividió en ocho grupos (Figura 6). El grupo I, se formó por dos subgrupos. El subgrupo **Ia** se conformó por 26 aislados que fueron identificados como *T. mentagrophytes* y *T. interdigitale*, los cuales se agruparon con la secuencia de referencia de *T. interdigitale* (No. Acceso JF731043.1). El valor de bootstrap

obtenido fue de 99.6%. El subgrupo **Ib**, lo integraron nueve aislados identificados como *T. tonsurans* y *T. equinum*, coincidiendo con las secuencias de referencia de *T. tonsurans* (No. Acceso JF731074.1) y *T. equinum* (No. Acceso JF731092.1), presentando un bootstrap del 86%.

El grupo **II** se formó con 25 aislados identificados como *T. rubrum*, estos se asociaron con las secuencias de referencia *T. rubrum* (No. Acceso JF731058.1) y *T. violaceum* (No. Acceso JF731090.1), presentando un valor de bootstrap de 99.6%. El grupo **III** lo constituyó la secuencia de referencia *T. mentagrophytes* (No. Acceso KT55546.1). El grupo **IV** lo conformaron nueve aislados identificados como *A. otae*, estos se agruparon con la secuencia de referencia de la misma especie (No. Acceso JF731100.1). El valor de bootstrap obtenido fue de 100%.

En el grupo **V**, tres aislados identificados como *A. obtusum*, se asociaron con las secuencias de referencia de *A. obtusum* (No. Acceso JF731121.1) y *N. nana* (No. Acceso KT55593.1), con un valor de bootstrap de 99.5%. El grupo **VI**, lo formó el aislado MX71 y la secuencia de referencia de *E. floccosum* (No. Acceso JF731127.1), el valor de bootstrap obtenido fue de 99.8%.

El grupo **VII**, se integró por tres subgrupos. El subgrupo **VIIa**, agrupó 11 aislados identificados como *Microsporum* sp, los cuales se relacionaron con las secuencias de referencia de *N. incurvata* (No. Acceso KT155503.1), presentando un valor de bootstrap de 99.9%. El subgrupo **VIIb**, lo integró el aislado HN01 identificado como *Microsporum* sp; no obstante, este se relacionó con la secuencia de referencia de *N. fulva* (No. Acceso KT155473.1), obteniendo un bootstrap de 77.9%. El subgrupo

VIIc, lo formaron nueve aislados identificados como *M. gypseum*, los cuales se agruparon con las secuencias de referencia de *M. gypseum* (No. Acceso JF731093.1) y *N. gypsea* (No. Acceso KT155427.1), el valor de bootstrap fue de 100%. Finalmente, el grupo **VIII**, lo constituyó el grupo externo, *Myceliophthora lutea* (No. Acceso KX977026.1). El soporte de todos grupos tuvo un intervalo de bootstrap de 70-100%, el cual es considerado aceptable (Kasuga *et al.*, 1999).

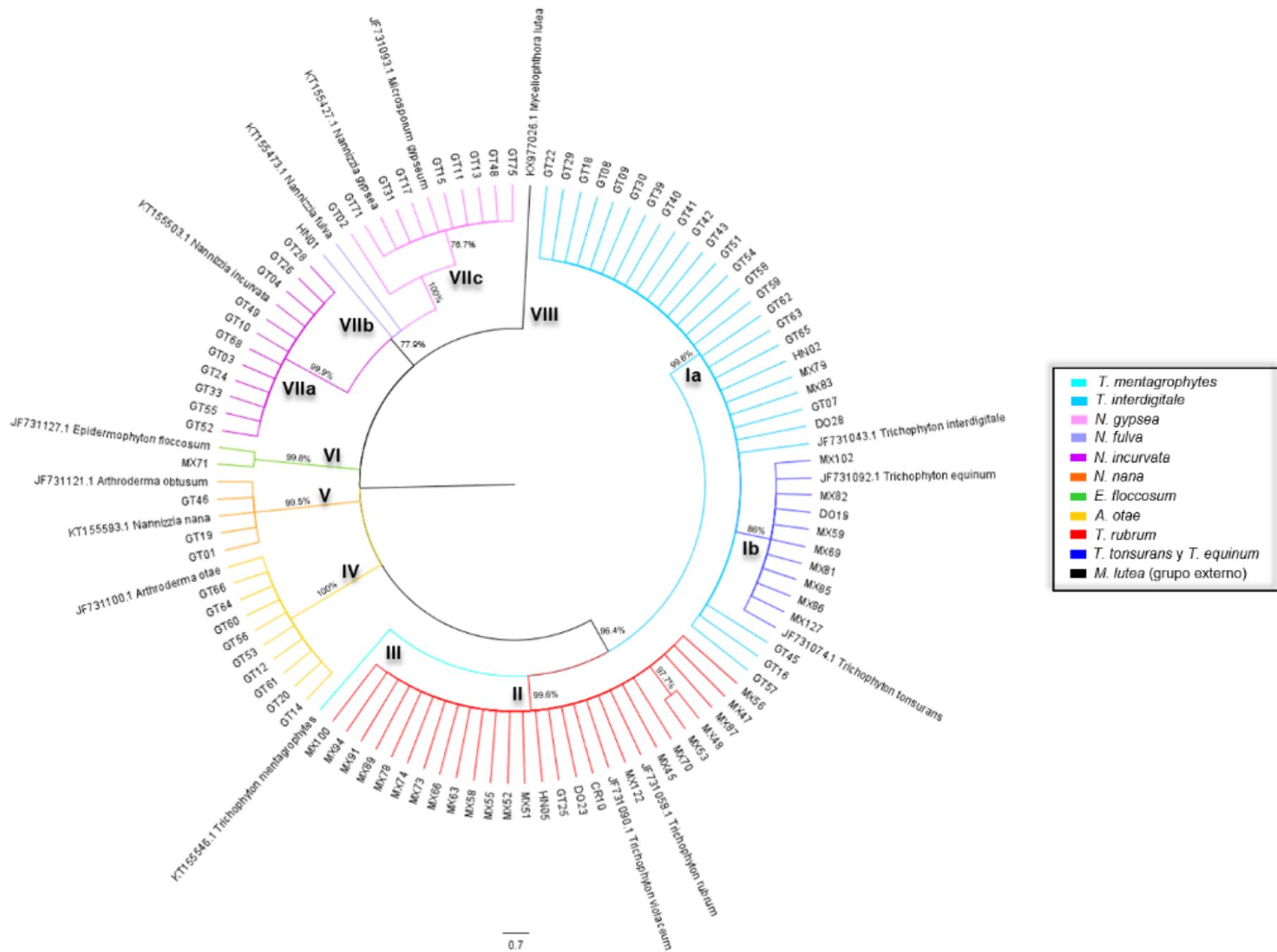


Figura 6. Árbol filogenético de dermatofitos construido a partir de las secuencias del gen de *BT2*, con base en el método de Máxima Verosimilitud a través del programa MEGAX. Los valores de soporte de bootstrap se muestran en los nodos.

Con respecto al árbol filogenético generado a partir de las secuencias del gen *Tef-1α*, se dividió en nueve grupos (Figura 7). El grupo **I**, lo integró la secuencia de referencia de *T. mentagrophytes* (No. Acceso KM678083.1). El grupo **II**, agrupó 26 aislados identificados como *T. interdigitale* y *T. mentagrophytes*, los cuales se relacionaron con la secuencia de referencia de *T. interdigitale* (No. Acceso KM678149.1), presentando un valor de bootstrap de 99.7%.

El grupo **III**, lo conformaron dos subgrupos. En el subgrupo **IIIa**, se encontraron los aislados identificados como *T. equinum*, estos se agruparon con la secuencia de referencia de dicha especie (No. Acceso KM678112.1), el valor de bootstrap fue de 88%. El subgrupo **IIIb**, lo constituyeron cinco aislados identificados como *T. tonsurans*, los cuales se asociaron con la secuencia de referencia de la misma especie (No. Acceso KM678205.1), obteniendo un bootstrap de 96.2%. El grupo **IV**, se dividió en dos subgrupos. El subgrupo **IVa**, lo integraron 26 aislados, estos se relacionaron con la secuencia de referencia de *T. rubrum* (No. Acceso KM678202.1), presentado un bootstrap de 86.4%. El subgrupo **IVb**, incluyó solo la secuencia de referencia de *T. violaceum* (No. Acceso KM678140.1).

El grupo **V**, correspondió a los nueve aislados identificados como *M. canis*, los cuales se agruparon con las secuencias de referencia de *A. otae* (No. Acceso JN662936.1) y *M. canis* (No. Acceso KM678065.1). El valor de bootstrap fue de 100%. El grupo **VI**, lo constituyeron el aislado MX71 y la secuencia de referencia de *E. floccosum* (No Acceso KM678060.1), cuyo valor de bootstrap fue de 100%. En el grupo **VII**, se encuentran los aislados identificados como *N. nana* y se relacionaron

con la secuencia de referencia de la misma especie (No. Acceso KM678111.1), obteniendo un bootstrap de 100%.

En el grupo **VIII**, se formaron tres subgrupos. El subgrupo **VIIIa**, se integró por nueve aislados, estos se asociaron con las secuencias de referencia de *M. gypseum* (No. Acceso KT261752.1) y *N. gypsea* (No. Acceso KM678155.1), con un valor de bootstrap de 100%. El subgrupo **VIIIb**, incluyó el aislado HN01 identificado como *N. fulva*, el cual se agrupó con la secuencia de referencia de dicha especie (No. Acceso KM678155.1), el valor de bootstrap fue de 92.4%. El subgrupo **VIIIc**, lo conformaron los 11 aislados identificados como *N. incurvata*, estos se relacionaron con la secuencia de referencia de *N. incurvata* (No. Acceso MH512804.1). Por último, el grupo **IX** corresponde a la secuencia de referencia *Myceliophthora lutea* (No. Acceso HQ871722.1), seleccionado como grupo externo. El soporte de los todos grupos tiene un intervalo de bootstrap de 70-100%, el cual es considerado aceptable (Kasuga *et al.*, 1999)

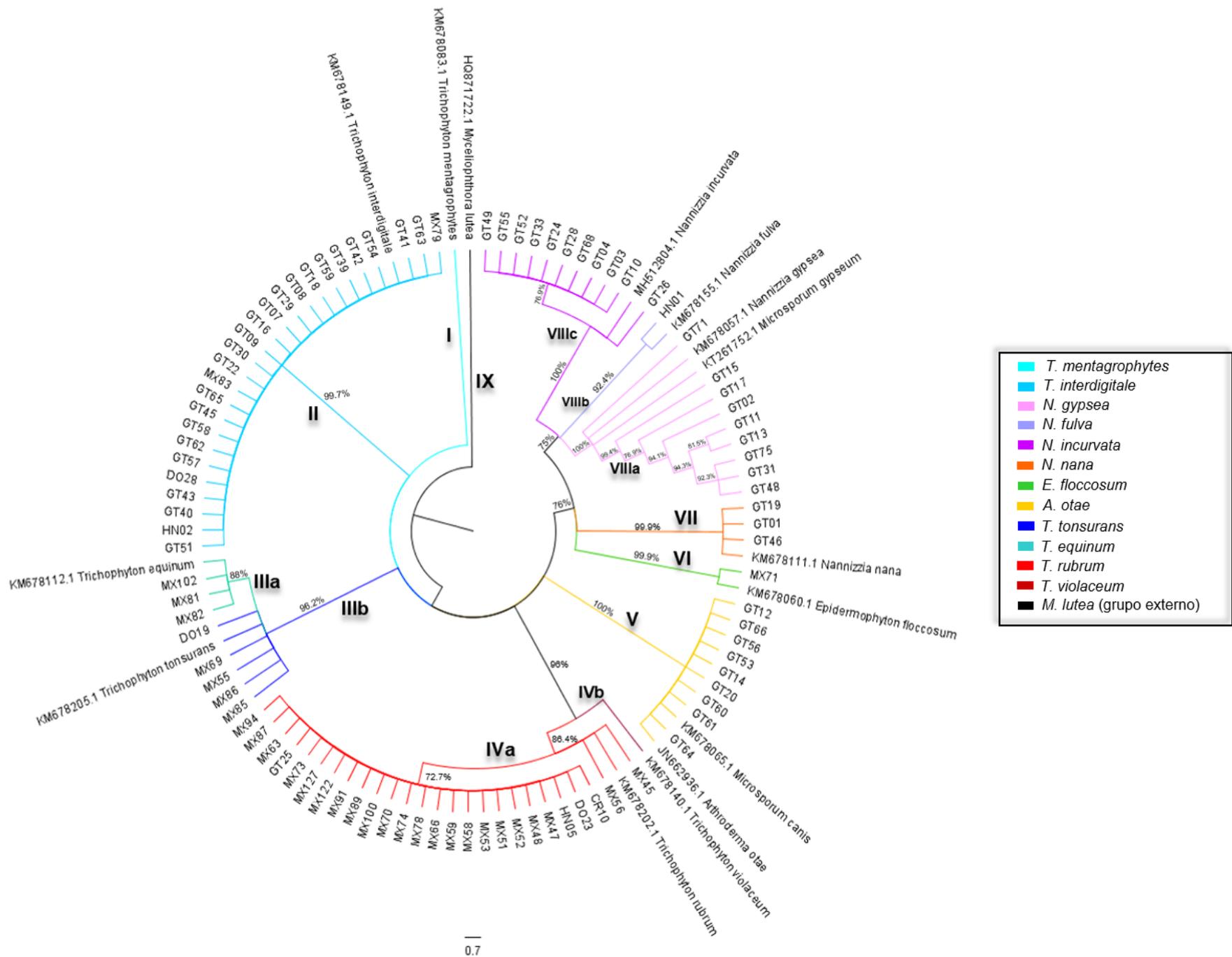


Figura 7. Árbol filogenético de dermatofitos construido a partir de las secuencias del gen *Tef-1α*, con base el método de Máxima Verosimilitud utilizando el programa MEGAX. Los valores de soporte de bootstrap se muestran en los nodos.

Para lograr el pleno aprovechamiento de la información obtenida a partir de los tres marcadores, se construyó un árbol con las secuencias concatenadas. En este árbol se distinguieron diez grupos (Figura 8). El grupo **I**, lo integraron 26 aislados identificados como *T. mentagrophytes* y *T. interdigitale*, los cuales se relacionaron con las secuencias de referencia de *T. interdigitale* (No. Acceso: JN134005.1, JF731043.1 y KM678149.1). El valor de bootstrap fue de 99.6%. El grupo **II**, lo conformaron dos subgrupos. El subgrupo **Ila**, lo constituyeron tres aislados, los cuales se agruparon con las secuencias de referencia de *T. equinum* (No. Acceso: JN134108.1, JF731092.1 y KM678112.1), con un valor de bootstrap de 89.9%. El subgrupo **Ilb**, incluyó a los cuatro aislados, cuya asociación fue con las secuencias de referencia de *T. tonsurans* (No. Acceso: JN134084.1, JF731074.1 y KM678205.1), presentando un bootstrap del 88.9%.

El grupo **III** lo integró el aislado MX55, el cual no se agrupó con ninguna secuencia de referencia. El grupo **IV**, lo constituyeron 26 aislados, los cuales se agruparon con las secuencias de referencia de *T. violaceum* (No. Acceso: JN134104.1, JF731090.1 y KM678140.1) y *T. rubrum* (No. Acceso: JN134037.1, JF731058.1 y KM678202.1), con un bootstrap de 73.6%. El grupo **V**, solo incluyó las secuencias de referencia de *T. mentagrophytes* (No. Acceso: Z98000.1, KT155546.1 y KM678083.1).

El grupo **VI**, lo conformaron nueve aislados, los cuales se relacionaron con las secuencias de referencia de *A. otae* (No. Acceso: AB193632.1, JF731100.1 y JN662936.1), con un valor de bootstrap de 100%. El grupo **VII**, lo formó el aislado MX71 identificado como *E. floccosum*, asociándose con las secuencias de

referencia de dicha especie (No. Acceso: JN134157.1, JF731127.1 y KM678060.1), con un valor de bootstrap de 100%. El grupo **VIII**, integrado por los tres aislados identificados como *N. nana*, coincidiendo con las secuencias de referencia de la misma especie (No. Acceso: JN134095.1, KT55593.1 y KM678111.1), presentando un valor de bootstrap de 100%.

El grupo **IX**, lo conformaron tres subgrupos. El subgrupo **IXa**, lo formaron nueve aislados, asociados con las secuencias de referencia de *M. gypseum* (No. Acceso: GU291264.1, JF731093.1 y KT261752.1) y *N. gypsea* (No. Acceso: JN134132.1, KT155427.1 y KM678057.1), obteniendo un valor de bootstrap de 100%. El subgrupo **IXb**, lo integró el aislado HN01, agrupándose con las secuencias de referencia de *N. fulva* (No. Acceso: EF078472.1, KT155473.1 y KM678155.1), con un bootstrap de 99.6%. El subgrupo **IXc**, incluyó a 11 aislados, los cuales se relacionaron con las secuencias de referencia de *N. incurvata* (No. Acceso: MH378242.1, KT155503.1 y MH512804.1), el valor de bootstrap fue de 100%. Por último, el grupo **X**, incluyó las secuencias de referencia de *Myceliophthora lutea* (No. Acceso: KM655312.1, KX977026.1 y HQ871722.1), seleccionado como grupo externo. El soporte de todos los grupos tuvo un intervalo de bootstrap de 70-100%, el cual es considerado aceptable (Kasuga *et al.*, 1999).

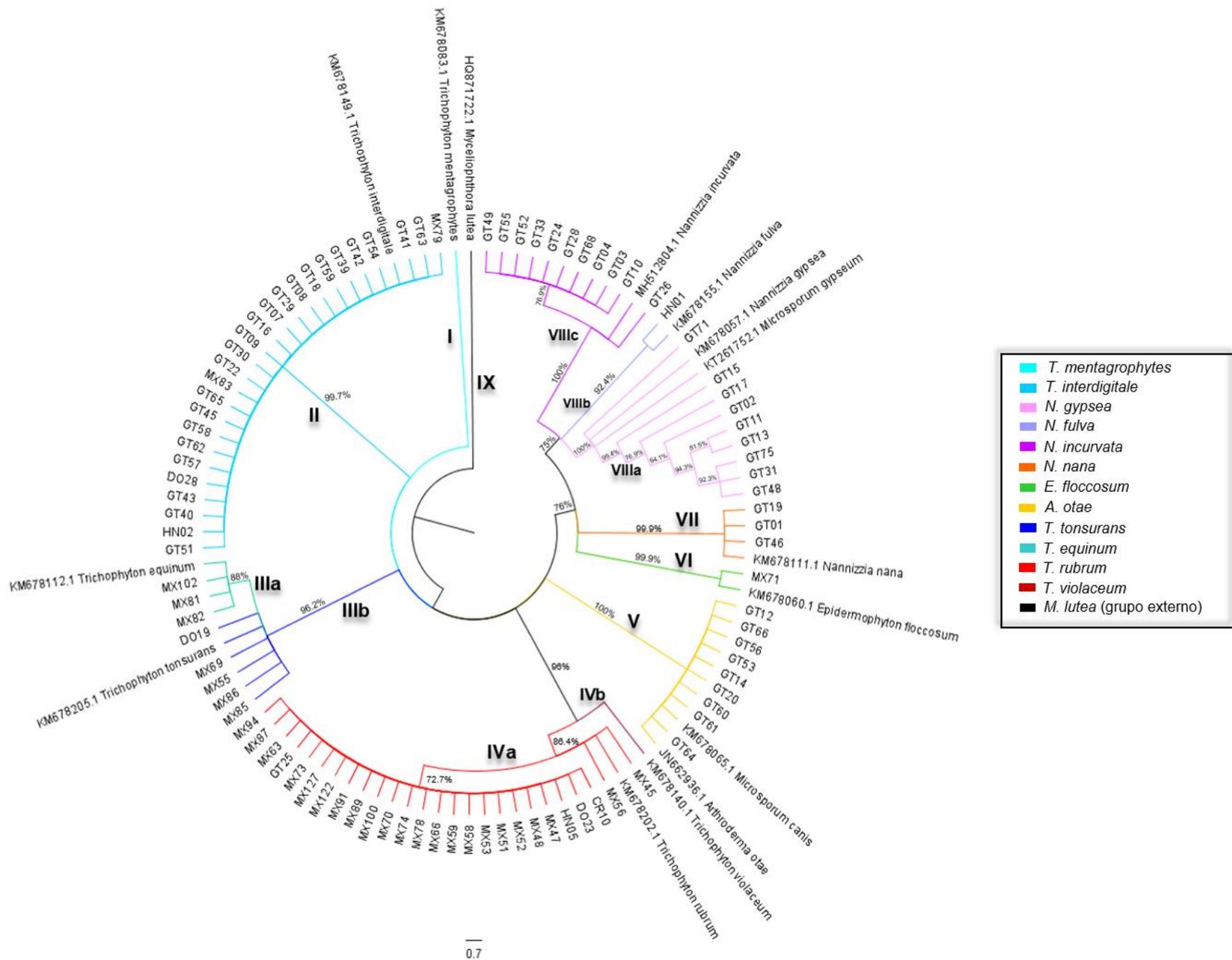


Figura 8. Árbol filogenético construido a partir de secuencias de DNA concatenadas de los marcadores ITS, *BT2* y *Tef-1α*, de las especies de dermatofitos, con base en el método de Máxima Verosimilitud utilizando el programa MEGA X. Los valores de soporte de bootstrap se muestran en los nodos.

Finalmente, en la Tabla 9, se presenta una comparación entre los diferentes marcadores empleados, así como, lo identificado por métodos fenotípicos. Por ejemplo, el aislado GT03 fue identificado por métodos fenotípicos como *M. gypseum*, mientras que al utilizar los métodos moleculares la identificación cambió a *N. incurvata*.

Tabla 9. Comparación de métodos fenotípicos y genotípicos para la identificación de dermatofitos

Identificación fenotípica		Relación filogenética (Máxima Verosimilitud)							
		Región ITS		Gen <i>BT2</i>		Gen <i>Tef-1α</i>		Concatenado	
Especie	Aislados	Secuencia de referencia	Aislados	Secuencia de referencia	Aislados	Secuencia de referencia	Aislados	Secuencia de referencia	Aislados
<i>T. mentagrophytes</i>	DO28, GT07, GT08, GT09, GT16, GT18, GT22, GT29, GT30, GT39, GT40, GT41, GT42, GT43, GT45, GT51, GT54, GT57, GT58, GT59, GT62, GT63, GT65, HN02, MX69 , MX79, MX83	<i>T. interdigitale</i>	DO28, GT07, GT08, GT09, GT16, GT18, GT22, GT29, GT30, GT39, GT40, GT41, GT42, GT43, GT45, GT51, GT54, GT57, GT58, GT59, GT62, GT63, GT65, HN02, MX79, MX83	<i>T. interdigitale</i>	DO28, GT07, GT08, GT09, GT16, GT18, GT22, GT29, GT30, GT39, GT40, GT41, GT42, GT43, GT45, GT51, GT54, GT57, GT58, GT59, GT62, GT63, GT65, HN02, MX79, MX83	<i>T. interdigitale</i>	DO28, GT07, GT08, GT09, GT16, GT18, GT22, GT29, GT30, GT39, GT40, GT41, GT42, GT43, GT45, GT51, GT54, GT57, GT58, GT59, GT62, GT63, GT65, HN02, MX79, MX83	<i>T. interdigitale</i>	DO28, GT07, GT08, GT09, GT16, GT18, GT22, GT29, GT30, GT39, GT40, GT41, GT42, GT43, GT45, GT51, GT54, GT57, GT58, GT59, GT62, GT63, GT65, HN02, MX79, MX83
<i>T. tonsurans</i>	MX55, MX81, MX82, MX85, MX86, MX102	<i>T. tonsurans</i>	DO19, MX48, MX55, MX69, MX81, MX82, MX85, MX86, MX102	<i>T. tonsurans</i>	DO19, MX59, MX69, MX81, MX82, MX85, MX86, MX102, MX127	<i>T. tonsurans</i>	DO19, MX69, MX55, MX86, MX85	<i>T. tonsurans</i>	DO19, MX69, MX85, MX86
		<i>T. equinum</i>		<i>T. equinum</i>		<i>T. equinum</i>	MX81, MX82, MX102	<i>T. equinum</i>	MX81, MX82, MX102
<i>T. rubrum</i>	CR10, DO19 , DO23, GT25, HN05, MX45, MX47, MX48 , MX51, MX52, MX53, MX56, MX58, MX59 , MX63, MX66, MX70, MX73, MX74, MX78, MX87, MX89, MX91, MX94, MX100, MX122, MX127	ND	CR10, DO23, GT25, HN05, MX45, MX47, MX51, MX52, MX53, MX56, MX58, MX59 , MX63, MX66, MX70, MX73, MX74, MX78, MX87, MX89, MX91, MX94, MX100, MX122, MX127	<i>T. rubrum</i> <i>T. violaceum</i>	CR10, DO23, GT25, HN05, MX45, MX47, MX48 , MX51, MX52, MX53, MX55 , MX56, MX58, MX63, MX66, MX70, MX73, MX74, MX78, MX87, MX89, MX91, MX94, MX100, MX122	<i>T. rubrum</i>	CR10, DO23, GT25, HN05, MX45, MX47, MX48 , MX51, MX52, MX53, MX56, MX58, MX59 , MX63, MX66, MX70, MX73, MX74, MX78, MX87, MX89, MX91, MX94, MX100, MX122, MX127	<i>T. rubrum</i> <i>T. violaceum</i>	CR10, DO23, GT25, HN05, MX45, MX47, MX48 , MX51, MX52, MX53, MX56, MX58, MX59 , MX63, MX66, MX70, MX73, MX74, MX78, MX87, MX89, MX91, MX94, MX100, MX122, MX127
<i>M. gypseum</i>	GT02, GT03, GT04, GT10 , GT11, GT13, GT15, GT17, GT24, GT26, GT28 , GT31, GT33 , GT48, GT49, GT52, GT55, GT68 , GT71, GT75, HN01	<i>N. fulva</i>	HN01	<i>N. fulva</i>	HN01	<i>N. fulva</i>	HN01	<i>N. fulva</i>	HN01
		<i>N. gypsea</i> <i>M. gypseum</i>	GT02, GT11, GT13, GT15, GT17, GT31, GT48, GT71, GT75	<i>N. gypsea</i> <i>M. gypseum</i>	GT02, GT11, GT13, GT15, GT48, GT17, GT31, GT71, GT75	<i>N. gypsea</i> <i>M. gypseum</i>	GT02, GT11, GT13, GT15, GT31, GT48, GT17, GT71, GT75	<i>N. gypsea</i> <i>M. gypseum</i>	GT02, GT11, GT13, GT15, GT17, GT31, GT48, GT71, GT75
		<i>N. incurvata</i>	GT03, GT04, GT10, GT24, GT26, GT28, GT33, GT49, GT52, GT55, GT68	<i>N. incurvata</i>	GT03, GT04, GT10, GT24, GT26, GT28, GT33, GT49, GT52, GT55, GT68	<i>N. incurvata</i>	GT03, GT04, GT10, GT24, GT26, GT28, GT33, GT49, GT52, GT55, GT68	<i>N. incurvata</i>	GT03, GT04, GT10, GT24, GT26, GT28, GT33, GT49, GT52, GT55, GT68
<i>M. canis</i>	GT12, GT14, GT20, GT53, GT56, GT60, GT61, GT64, GT66	<i>A. otae</i> <i>M. canis</i>	GT12, GT14, GT20, GT53, GT56, GT60, GT61, GT64, GT66	<i>A. otae</i>	GT12, GT14, GT20, GT53, GT56, GT60, GT61, GT64, GT66	<i>A. otae</i> <i>M. canis</i>	GT12, GT14, GT20, GT53, GT56, GT60, GT61, GT64, GT66	<i>A. otae</i>	GT12, GT14, GT20, GT53, GT56, GT60, GT61, GT64, GT66
<i>M. nanum</i>	GT01 , GT19, GT46	<i>N. nana</i>	GT19, GT46	<i>A. obtusum</i> <i>N. nana</i>	GT01 , GT19, GT46	<i>N. nana</i>	GT01 , GT19, GT46	<i>N. nana</i>	GT01 , GT19, GT46
		ND	GT01						
<i>E. floccosum</i>	MX71	<i>E. floccosum</i>	MX71	<i>E. floccosum</i>	MX71	<i>E. floccosum</i>	MX71	<i>E. floccosum</i>	MX71

Los aislados marcados en color rojo denotan un cambio en su identificación en el análisis de alguno de los marcadores, con respecto a la identificación fenotípica. ND: No Definido. En los cuadros correspondientes a las secuencias de referencia, cuando aparecen dos especies, se debe a que el marcador no logra definir bien entre ellas.

Inferencia Bayesiana. El árbol filogenético inferido a partir de las secuencias de la región ITS, mostró nueve grupos principales (Figura 9). El grupo **I**, se formó por dos subgrupos. El subgrupo **la**, lo integraron tres aislados identificados como *T. tonsurans*, que se asociaron con la secuencia de referencia de dicha especie (*T. tonsurans*, No. Acceso JN134084.1), presentando una probabilidad posterior de 0.89. En el subgrupo **lb**, se asoció la secuencia de referencia de *T. equinum* (No. Acceso JN134108.1) con seis aislados identificados como *T. equinum* y *T. tonsurans*, los cuales obtuvieron una probabilidad posterior de 1.

El grupo **II**, lo constituyeron 26 aislados identificados como *T. interdigitale* y *T. mentagrophytes*, estos se relacionaron con la secuencia de referencia de *T. interdigitale* (No. Acceso JN134005.1), con una probabilidad posterior de 0.93. El grupo **III**, incluyó solo a la secuencia de referencia de *T. mentagrophytes* (No. Acceso KZ98000.1).

El grupo **IV**, lo integraron tres subgrupos. El subgrupo **IVa**, formado por nueve aislados, que se asociaron con las secuencias de referencia de *M. gypseum* (No. Acceso GU291264.1) y *N. gypsea* (No. Acceso JN134132.1), presentando una probabilidad posterior de 1. El subgrupo **IVb**, lo formó el aislado HN01 junto con la secuencia de referencia de *N. fulva* (No. Acceso EF078472.1), obteniendo una probabilidad posterior de 1. El subgrupo **IVc**, lo integraron 11 aislados, estos se relacionaron con la secuencia de referencia de *N. incurvata* (No. Acceso MH378242.1), la probabilidad posterior tuvo un valor de 1.

El grupo **V**, lo constituyeron dos subgrupos. El subgrupo **Va**, se formó por dos aislados GT19 y GT46, los cuales se asociaron con la secuencia de referencia de *N. nana* (No. Acceso JN134095.1), con una probabilidad posterior de 1. El subgrupo **Vb**, lo integró el aislado MX71, el cual se agrupó con la secuencia de referencia de *E. floccosum* (No. Acceso JN134157.1), presentando una probabilidad posterior de 1. El grupo **VI** incluyó a nueve aislados, los cuales se asociaron a la secuencia de referencia de *A. otae* (No. Acceso AB193632.1), obteniendo una probabilidad posterior de 1. En los grupos **VII** y **VIII**, están conformados cada uno por dos aislados identificados como *T. rubrum*, sin embargo, no se agruparon con ninguna secuencia de referencia. Solo el grupo **VII** presentó una probabilidad posterior de 0.7. El grupo **IX**, correspondió a la secuencia de referencia de *Myceliophthora lutea* (No. Acceso KM655312.1). Cabe destacar que el aislado GT01 identificado como *N. nana* y 21 aislados identificados como *T. rubrum* no lograron definirse en algún grupo. El soporte de todos los grupos tuvo un rango de probabilidad posterior entre 0.7 y 1.

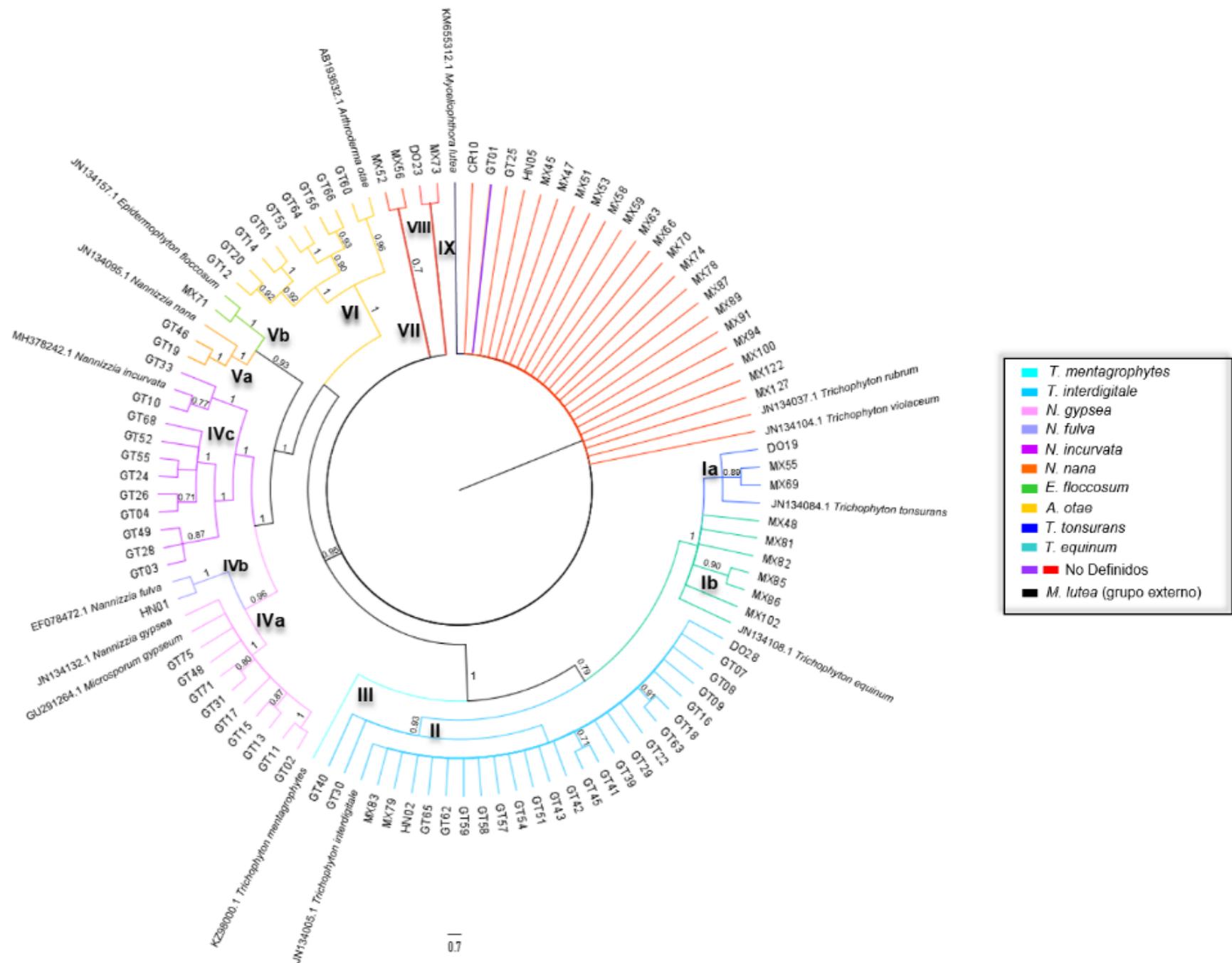


Figura 9. Árbol filogenético construido a partir de las secuencias de la región ITS, con base en el método de Inferencia Bayesiana, utilizando el programa Mr. Bayes a partir de un millón de repeticiones. Los valores de soporte de la probabilidad posterior se muestran en los nodos.

Por otra parte, el árbol filogenético construido a partir de las secuencias del gen *BT2*, se dividió en nueve grupos (Figura 10). El grupo **I**, incluyó a 25 aislados identificados como *T. rubrum*, estos se asociaron con las secuencias de referencia de *T. rubrum* (No. Acceso JF731058.1) y *T. violaceum* (No. Acceso JF731090.1), presentando una probabilidad posterior de 1. El grupo **II**, se dividió en dos subgrupos. El subgrupo **Ila**, se formó por siete aislados identificados como *T. tonsurans*, los cuales se agruparon con la secuencia de referencia de *T. tonsurans* (No. Acceso JF731074.1). El valor de la probabilidad posterior fue de 0.70. El subgrupo **Iib**, lo integraron dos aislados identificados como *T. equinum*, coincidiendo con la secuencia de referencia de dicha especie (No. Acceso JF731092.1), obteniendo una probabilidad posterior de 1.

El grupo **III**, lo constituyeron 26 aislados identificados como *T. mentagrophytes* y *T. interdigitale*, junto con la secuencia de referencia de *T. interdigitale* (No. Acceso JF731043.1), la probabilidad posterior fue de 0.94. El grupo **IV**, solo incluyó a la secuencia de referencia de *T. mentagrophytes* (No. Acceso KT55546.1). En el grupo **V**, se agruparon los tres aislados identificados como *A. obtusum*, cuya asociación corresponde a la secuencia de referencia de *N. nana* (No. Acceso KT55593.1), con una probabilidad posterior de 0.90.

El grupo **VI**, se dividió en tres subgrupos. En el subgrupo **Via** lo formaron nueve aislados identificados como *M. gypseum*, los cuales se relacionaron con las secuencias de referencias de *N. gysea* (No. Acceso KT55427.1) y *M. gypseum* (No. Acceso JF731093.1), presentando una probabilidad posterior de 1. El subgrupo **Vib**, se formó con 11 aislados identificados como *Microsporum* sp., estos se agruparon

con la secuencia de referencia de *N. incurvata* (No. Acceso KT55503.1), obteniendo una probabilidad posterior de 1. El subgrupo **Vlc**, lo integraron el aislado HN01 identificado como *Microsporum* sp. y la secuencia de referencia de *N. fulva* (No. Acceso KT155473.1), el valor de probabilidad posterior fue de 0.95.

El grupo **VII**, lo formó el aislado MX71 y la secuencia de referencia de *E. floccosum* (No. Acceso JF731127.1), la probabilidad posterior presentada fue de 1. El grupo **VIII**, lo constituyó el grupo externo, *Myceliophthora lutea* (No. Acceso KX977026.1). Finalmente, el grupo **IX** lo integraron nueve aislados identificados como *A. otae*, asociándose con la secuencia de referencia de la misma especie (No. Acceso JF731100.1), la probabilidad posterior obtenida fue de 1. El soporte de todos los grupos tuvo un rango de probabilidad posterior entre 0.7 y 1.

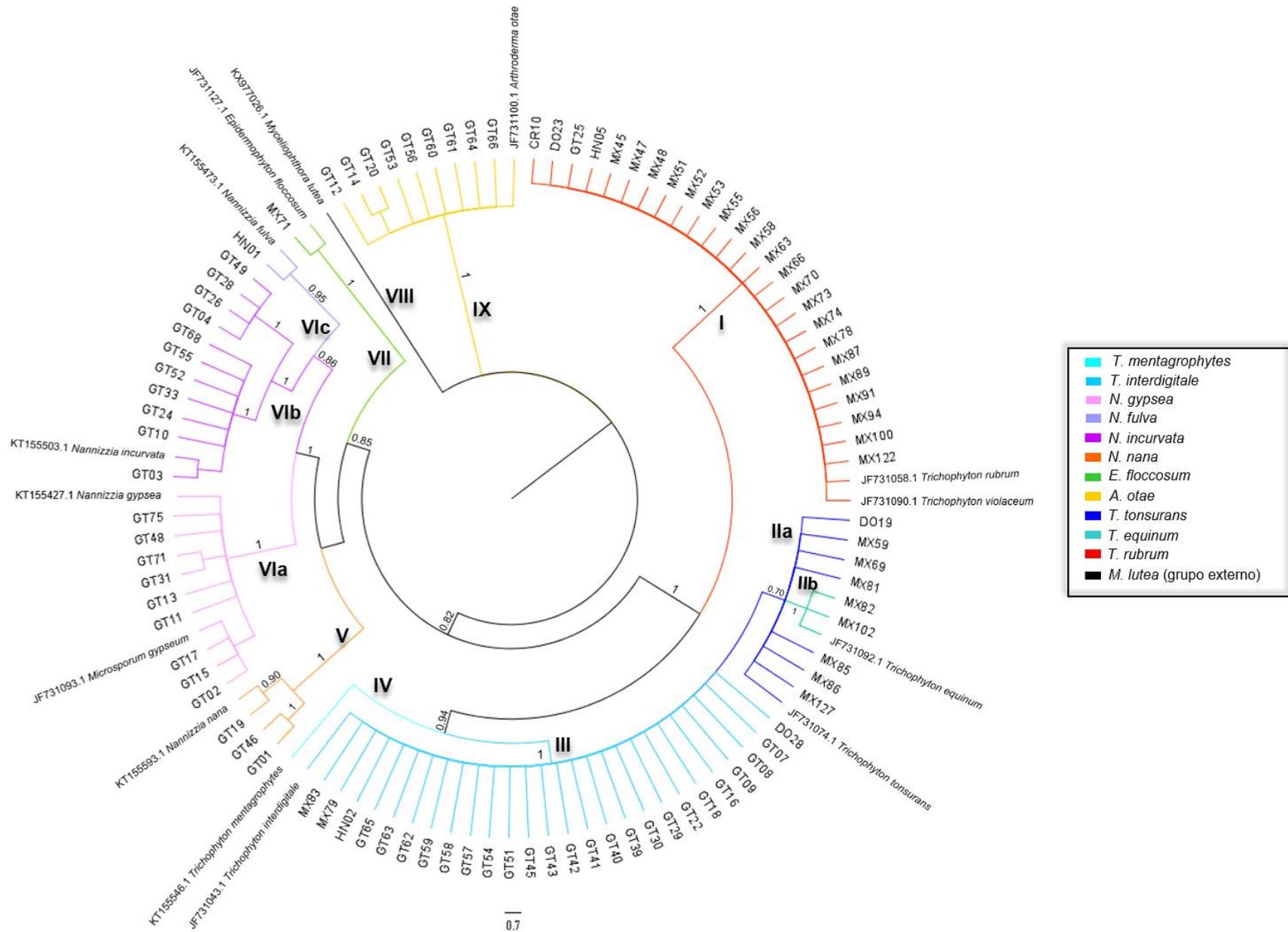


Figura 10. Árbol filogenético construido a partir de secuencias del gen de *BT2*, con base en el método de Inferencia Bayesiana, utilizando el programa Mr. Bayes a partir de un millón de repeticiones. Los valores de soporte de la probabilidad posterior se muestran en los nodos.

Con respecto al árbol filogenético generado a partir de las secuencias del gen *Tef-1α*, se dividió en ocho grupos (Figura 11). El grupo **I**, se formó con dos subgrupos. El subgrupo **Ia**, agrupó 26 aislados identificados como *T. rubrum* y *T. tonsurans* (aislado MX127), los cuales se relacionaron con la secuencia de referencia de *T. rubrum* (No. Acceso KM678202.1), presentando una probabilidad posterior de 0.96. El subgrupo **Ib**, lo integró la secuencia de referencia de *T. violaceum* (No. Acceso KM678140.1).

El grupo **II**, se separó en dos subgrupos. En el subgrupo **Ila**, se ubicaron cinco aislados identificados como *T. tonsurans*, estos se asociaron con la secuencia de referencia de *T. tonsurans* (No. Acceso KM678205.1), la probabilidad posterior obtenida fue de 1. El subgrupo **Ilb** lo constituyeron los tres aislados identificados como *T. equinum*, los cuales se agruparon con la secuencia de referencia de la misma especie (No. Acceso KM678112.1), presentando una probabilidad posterior de 0.96. El grupo **III** lo forman dos subgrupos. El subgrupo **IIIa** lo integraron 26 aislados identificados como *T. mentagrophytes*, estos se relacionaron con la secuencia de referencia de *T. interdigitale* (No. Acceso KM678149.1), con una probabilidad posterior de 0.95. El subgrupo **IIIb** lo integró la secuencia de referencia de *T. mentagrophytes* (No. Acceso KM678083.1).

El grupo **IV**, correspondió a tres aislados identificados como *N. nana*, los cuales se agruparon con la secuencia de referencia de *N. nana* (No. Acceso KM678111.1). La probabilidad posterior fue de 0.75. El grupo **V**, se dividió en tres grupos. El subgrupo **Va**, lo constituyeron nueve aislados identificados como *N. gypsea*, que se asociaron con la secuencia de referencia de la misma especie (No. Acceso KM678057.1),

obteniendo una probabilidad posterior de 1. El subgrupo **Vb**, incluyó a 11 aislados identificados como *N. incurvata*, estos se asociaron con la secuencia de referencia de dicha especie (No. Acceso MH512804.1), con un valor de probabilidad posterior de 1. El subgrupo **Vc**, lo constituyó el aislado HN01 identificado como *N. fulva*, el cual se agrupó con la secuencia de referencia de *N. fulva* (No. Acceso KM678060.1).

El grupo **VI** integró al aislado MX71 y la secuencia de referencia de *E. floccosum* (No. Acceso KM678060.1), cuya probabilidad posterior fue de 1. El grupo **VII**, corresponde a la secuencia de referencia de *Myceliophthora lutea* (No. Acceso HQ871722.1), seleccionado como grupo externo. Por último, el grupo **VIII** lo conforma nueve aislados identificados como *M. canis*, los cuales se relacionaron con la secuencia de referencia de *A. otae*, presentando una probabilidad posterior de 1. El soporte de todos los grupos tuvo un rango de probabilidad posterior entre 0.7 y 1.

Así mismo, con el fin de obtener el pleno aprovechamiento de la información obtenida a partir de los tres genes nucleares, se construyó un árbol con las secuencias concatenadas. En el árbol se distinguieron nueve grupos (Figura 12). El grupo **I**, solo incluyó las secuencias de referencia de *T. mentagrophytes* (No. Acceso: Z98000.1, KT155546.1 y KM678083.1). El grupo **II**, lo integraron 26 aislados identificados como *T. rubrum*, los cuales se relacionaron con las secuencias de referencia de *T. rubrum* (No. Acceso: JN134037.1, JF731058.1 y KM678202.1) y *T. violaceum* (No. Acceso: JN134194.1, JF731090.1 y KM678140.1), el valor de la probabilidad posterior fue de 0.99. Cabe destacar que el aislado MX55 identificado como *T. tonsurans*, se asoció con el grupo **II**.

El grupo **III**, lo conformaron dos grupos. El subgrupo **IIIa** lo constituyeron cinco aislados, los cuales se agruparon con las secuencias de referencia de *T. tonsurans* (No. Acceso: JN134084.1, JF731074.1 y KM678205.1). El subgrupo incluyó a dos aislados, cuya asociación fue con las secuencias de referencia de *T. equinum* (No. Acceso: JN134108.1, JF731092.1 y KM678112.1), presentando una probabilidad posterior de 0.97.

El grupo **IV**, lo integraron 26 aislados identificados como *T. mentagrophytes* y *T. interdigitale*, estos se agruparon con las secuencias de referencia de *T. interdigitale* (No. Acceso: JN134005.1, JF731043.1 y KM678149.1), obteniendo una probabilidad posterior de 0.87. El grupo **V** lo formaron nueve aislados, los cuales se relacionaron con las secuencias de referencia de *A. otae* (No. Acceso: AB193632, JF731100.1 y JN662936.1), con una probabilidad posterior de 1. El grupo **VI**, formado por los tres aislados identificados como *N. nana*, se asociaron con las

secuencias de referencia de *N. nana* (No. Acceso: JN134095.1, KT55593.1 y KM678111.1), presentando una probabilidad posterior de 1.

El grupo **VII**, lo formaron tres subgrupos. El subgrupo **VIIa**, lo constituyeron el aislado HN01 y las secuencias de referencia de *N. fulva* (No. Acceso: EF078472.1, KT155473.1 y KM678155.1), con una probabilidad posterior de 1. El subgrupo **VIIb**, lo integraron 11 aislados, agrupándose con las secuencias de referencia de *N. incurvata* (No. Acceso: MH378242.1, KT155503.1 y MH512804.1), obteniendo una probabilidad posterior de 1. El subgrupo **VIIc**, incluyó a nueve aislados, los cuales se relacionaron con las secuencias de *M. gypseum* (No. Acceso: GU291264.1, JF731093.1 y KT261752.1) y *N. gypsea* (No. Acceso: JN134132.1, KT155427.1 y KM678057.1), el valor de probabilidad posterior fue de 1.

El grupo **VIII**, lo formó el aislado MX71 identificado como *E. floccosum*, coincidiendo con las secuencias de referencia de la misma especie (No. Acceso: JN134157.1, JF731127 y KM678060.1), presentando una probabilidad posterior de 1. Por último, el grupo **IX**, incluyó las secuencias de referencia de *Myceliophthora lutea* (No. Acceso: KM655312.1, KX977026.1 y HQ871722.1), seleccionado como grupo externo. El soporte de todos los grupos tuvo un rango de probabilidad posterior entre 0.7 y 1.

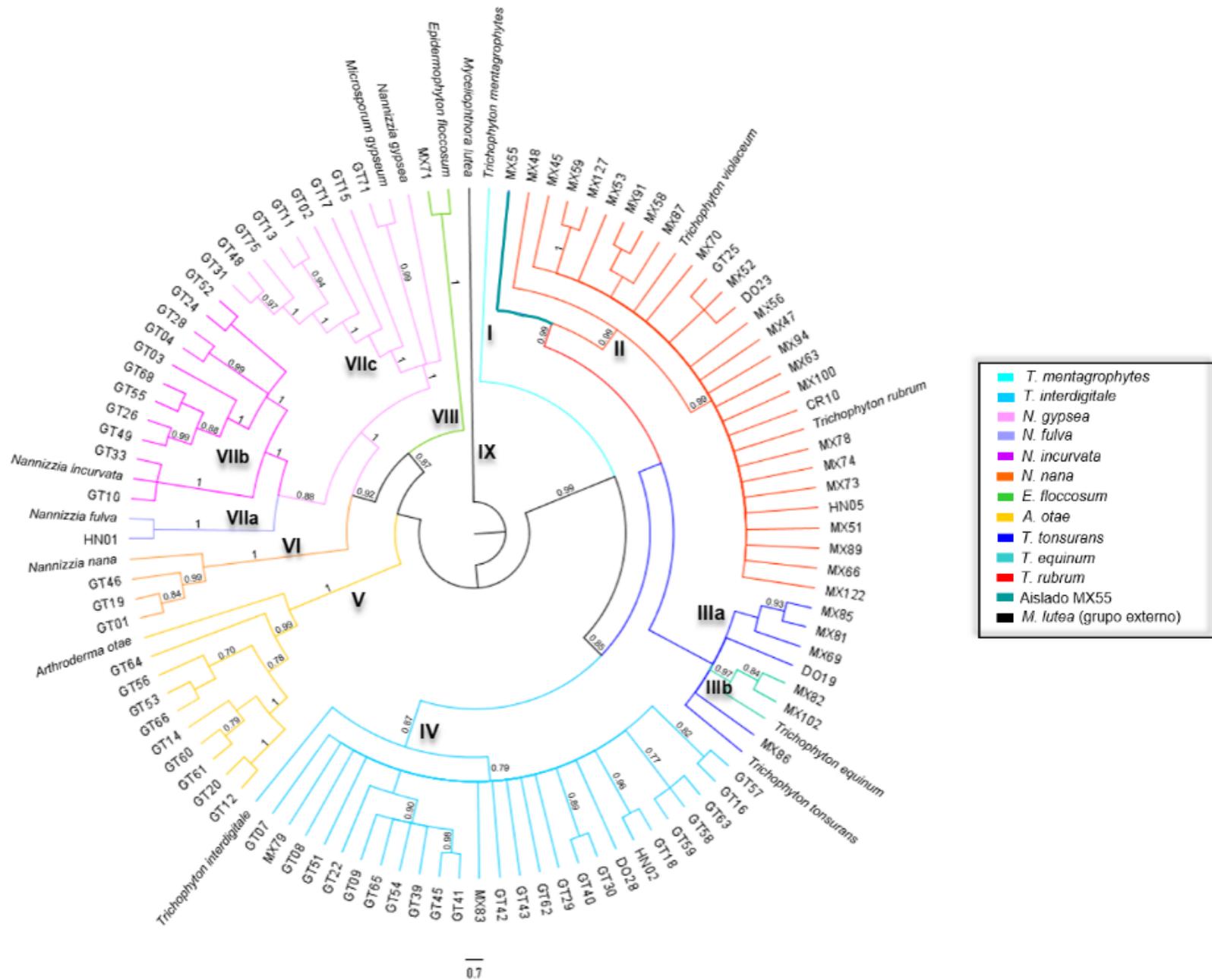


Figura 12. Árbol filogenético construido a partir de secuencias de DNA concatenadas de los marcadores ITS, *BT2* y *Tef-1α*, de las especies de dermatofitos, con base en el método de Inferencia Bayesiana, utilizando el programa Mr Bayes a partir de un millón de repeticiones. Los valores de soporte de la probabilidad posterior se muestran en los nodos.

Finalmente, en la Tabla 10, se presenta una comparación entre los métodos fenotípicos y genotípicos empleados para la identificación de los dermatofitos. Por ejemplo, el aislado HN01 fue identificado por métodos fenotípicos como *M. gypseum*, mientras que al utilizar los métodos moleculares la identificación cambió a *N. fulva*. En la Tabla 11 se realiza una comparación entre los árboles construidos, a través de los métodos de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana, junto con la identificación fenotípica. Por ejemplo, el aislado MX69 fue identificado por métodos fenotípicos como *T. mentagrophytes*, mientras que al utilizar los métodos moleculares la identificación cambió a *T. tonsurans*.

Tabla 10. Comparación de métodos fenotipo y genotípicos para la identificación de dermatofitos.

Identificación fenotípica		Relación filogenética (Inferencia Bayesiana)							
		Región ITS		Gen <i>BT2</i>		Gen <i>Tef-1α</i>		Concatenado	
Especie	Aislados	Secuencia de referencia	Aislados	Secuencia de referencia	Aislados	Secuencia de referencia	Aislados	Secuencia de referencia	Aislados
<i>T. mentagrophytes</i>	DO28, GT07, GT08, GT09, GT16, GT18, GT22, GT29, GT30, GT39, GT40, GT41, GT42, GT43, GT45, GT51, GT54, GT57, GT58, GT59, GT62, GT63, GT65, HN02, MX69, MX79, MX83	<i>T. interdigitale</i>	DO28, GT07, GT08, GT09, GT16, GT18, GT22, GT29, GT30, GT39, GT40, GT41, GT42, GT43, GT45, GT51, GT54, GT57, GT58, GT59, GT62, GT63, GT65, HN02, MX79, MX83	<i>T. interdigitale</i>	DO28, GT07, GT08, GT09, GT16, GT18, GT22, GT29, GT30, GT39, GT40, GT41, GT42, GT43, GT45, GT51, GT54, GT57, GT58, GT59, GT62, GT63, GT65, HN02, MX79, MX83	<i>T. interdigitale</i>	DO28, GT07, GT08, GT09, GT16, GT18, GT22, GT29, GT30, GT39, GT40, GT41, GT42, GT43, GT45, GT51, GT54, GT57, GT58, GT59, GT62, GT63, GT65, HN02, MX79, MX83	<i>T. interdigitale</i>	DO28, GT07, GT08, GT09, GT16, GT18, GT22, GT29, GT30, GT39, GT40, GT41, GT42, GT43, GT45, GT51, GT54, GT57, GT58, GT59, GT62, GT63, GT65, HN02, MX79, MX83
<i>T. tonsurans</i>	MX55, MX81, MX82, MX85, MX86, MX102	<i>T. tonsurans</i>	DO19, MX55, MX69	<i>T. tonsurans</i>	DO19, MX59, MX69, MX81, MX85, MX86, MX127	<i>T. tonsurans</i>	DO19, MX55, MX69, MX85, MX86	<i>T. tonsurans</i>	DO19, MX69, MX81, MX85, MX86
		<i>T. equinum</i>	MX48, MX81, MX82, MX85, MX86, MX102	<i>T. equinum</i>	MX82, MX102	<i>T. equinum</i>	MX81, MX82, MX102	<i>T. equinum</i>	MX82, MX102
<i>T. rubrum</i>	CR10, DO19, DO23, GT25, HN05, MX45, MX47, MX48, MX51, MX52, MX53, MX56, MX58, MX59, MX63, MX66, MX70, MX73, MX74, MX78, MX87, MX89, MX91, MX94, MX100, MX122, MX127	ND	CR10, DO23, GT25, HN05, MX45, MX47, MX51, MX52, MX53, MX56, MX58, MX59, MX63, MX66, MX70, MX73, MX74, MX78, MX87, MX89, MX91, MX94, MX100, MX122, MX127	<i>T. rubrum</i> <i>T. violaceum</i>	CR10, DO23, GT25, HN05, MX45, MX47, MX48, MX51, MX52, MX53, MX55, MX56, MX58, MX63, MX66, MX70, MX73, MX74, MX78, MX87, MX89, MX91, MX94, MX100, MX122	<i>T. rubrum</i>	CR10, DO23, GT25, HN05, MX45, MX47, MX48, MX51, MX52, MX53, MX56, MX58, MX59, MX63, MX66, MX70, MX73, MX74, MX78, MX87, MX89, MX91, MX94, MX100, MX122, MX127	<i>T. rubrum</i> <i>T. violaceum</i>	CR10, DO23, GT25, HN05, MX45, MX47, MX48, MX51, MX52, MX53, MX56, MX58, MX59, MX63, MX66, MX70, MX73, MX74, MX78, MX87, MX89, MX91, MX94, MX100, MX122, MX127
<i>M. gypseum</i>	GT02, GT03, GT04, GT10, GT11, GT13, GT15, GT17, GT24, GT26, GT28, GT31, GT33, GT48, GT49, GT52, GT55, GT68, GT71, GT75, HN01	<i>N. gypsea</i>	GT02, GT11, GT13, GT15, GT17, GT31, GT48, GT71, GT75	<i>N. gypsea</i>	GT02, GT11, GT13, GT15, GT48, GT17, GT31, GT71, GT75	<i>N. gypsea</i>	GT02, GT11, GT13, GT15, GT17, GT31, GT48, GT71, GT75	<i>N. gypsea</i>	GT02, GT11, GT13, GT15, GT17, GT31, GT48, GT71, GT75
		<i>M. gypseum</i>	GT03, GT04, GT10, GT24, GT26, GT28, GT33, GT49, GT52, GT55, GT68	<i>M. gypseum</i>	GT03, GT04, GT10, GT24, GT26, GT28, GT33, GT49, GT52, GT55, GT68	<i>M. gypseum</i>	GT03, GT04, GT10, GT24, GT26, GT28, GT33, GT49, GT52, GT55, GT68	<i>M. gypseum</i>	GT03, GT04, GT10, GT24, GT26, GT28, GT33, GT49, GT52, GT55, GT68
		<i>N. incurvata</i>	GT03, GT04, GT10, GT24, GT26, GT28, GT33, GT49, GT52, GT55, GT68	<i>N. incurvata</i>	GT03, GT04, GT10, GT24, GT26, GT28, GT33, GT49, GT52, GT55, GT68	<i>N. incurvata</i>	GT03, GT04, GT10, GT24, GT26, GT28, GT33, GT49, GT52, GT55, GT68	<i>N. incurvata</i>	GT03, GT04, GT10, GT24, GT26, GT28, GT33, GT49, GT52, GT55, GT68
<i>M. canis</i>	GT12, GT14, GT20, GT53, GT56, GT60, GT61, GT64, GT66	<i>A. otae</i>	GT12, GT14, GT20, GT53, GT56, GT60, GT61, GT64, GT66	<i>A. otae</i>	GT12, GT14, GT20, GT53, GT56, GT60, GT61, GT64, GT66	<i>A. otae</i>	GT12, GT14, GT20, GT53, GT56, GT60, GT61, GT64, GT66	<i>A. otae</i>	GT12, GT14, GT20, GT53, GT56, GT60, GT61, GT64, GT66
<i>M. nanum</i>	GT01, GT19, GT46	<i>N. nana</i>	GT19, GT46	<i>N. nana</i>	GT01, GT19, GT46	<i>N. nana</i>	GT01, GT19, GT46	<i>N. nana</i>	GT01, GT19, GT46
		ND	GT01						
<i>E. floccosum</i>	MX71	<i>E. floccosum</i>	MX71	<i>E. floccosum</i>	MX71	<i>E. floccosum</i>	MX71	<i>E. floccosum</i>	MX71

Los aislados marcados en color rojo denotan un cambio en su identificación en el análisis de alguno de los marcadores, con respecto a la identificación fenotípica. ND: No Definido. En los cuadros correspondientes a las secuencias de referencia, cuando aparecen dos especies, se debe a que el marcador no logra definir bien entre ellas.

Tabla 11. Comparación de los métodos para identificación fenotípica y genotípica de los dermatofitos.

Identificación fenotípica		Relación filogenética			
		Árbol concatenado Máxima Verosimilitud		Árbol concatenado Inferencia Bayesiana	
Especie	Aislados	Secuencia de referencia	Aislados	Secuencia de referencia	Aislados
<i>T. mentagrophytes</i>	DO28, GT07, GT08, GT09, GT16, GT18, GT22, GT29, GT30, GT39, GT40, GT41, GT42, GT43, GT45, GT51, GT54, GT57, GT58, GT59, GT62, GT63, GT65, HN02, MX69 , MX79, MX83	<i>T. interdigitale</i>	DO28, GT07, GT08, GT09, GT16, GT18, GT22, GT29, GT30, GT39, GT40, GT41, GT42, GT43, GT45, GT51, GT54, GT57, GT58, GT59, GT62, GT63, GT65, HN02, MX79, MX83	<i>T. interdigitale</i>	DO28, GT07, GT08, GT09, GT16, GT18, GT22, GT29, GT30, GT39, GT40, GT41, GT42, GT43, GT45, GT51, GT54, GT57, GT58, GT59, GT62, GT63, GT65, HN02, MX79, MX83
<i>T. tonsurans</i>	MX55 , MX81 , MX82 , MX85, MX86, MX102	<i>T. tonsurans</i>	DO19 , MX69 , MX85, MX86	<i>T. tonsurans</i>	DO19 , MX69 , MX81, MX85, MX86
		<i>T. equinum</i>	MX81 , MX82 , MX102	<i>T. equinum</i>	MX82 , MX102
		ND	MX55	ND	MX55
<i>T. rubrum</i>	CR10, DO19 , DO23, GT25, HN05, MX45, MX47, MX48 , MX51, MX52, MX53, MX56, MX58, MX59 , MX63, MX66, MX70, MX73, MX74, MX78, MX87, MX89, MX91, MX94, MX100, MX122, MX127	<i>T. rubrum</i> <i>T. violaceum</i>	CR10, DO23, GT25, HN05, MX45, MX47, MX48 , MX51, MX52, MX53, MX56, MX58, MX59 , MX63, MX66, MX70, MX73, MX74, MX78, MX87, MX89, MX91, MX94, MX100, MX122, MX127	<i>T. rubrum</i> <i>T. violaceum</i>	CR10, DO23, GT25, HN05, MX45, MX47, MX48 , MX51, MX52, MX53, MX56, MX58, MX59 , MX63, MX66, MX70, MX73, MX74, MX78, MX87, MX89, MX91, MX94, MX100, MX122, MX127
<i>M. gypseum</i>	GT02, GT03 , GT04 , GT10 , GT11, GT13, GT15, GT17, GT24 , GT26 , GT28 , GT31, GT33 , GT48, GT49 , GT52 , GT55 , GT68 , GT71, GT75, HN01	<i>N. fulva</i>	HN01	<i>N. fulva</i>	HN01
		<i>N. gypsea</i> <i>M. gypseum</i>	GT02, GT11, GT13, GT15, GT17, GT31, GT48, GT71, GT75	<i>N. gypsea</i> <i>M. gypseum</i>	GT02, GT11, GT13, GT15, GT17, GT31, GT48, GT71, GT75
		<i>N. incurvata</i>	GT03 , GT04 , GT10 , GT24 , GT26 , GT28 , GT33 , GT49 , GT52 , GT55 , GT68	<i>N. incurvata</i>	GT03 , GT04 , GT10 , GT24 , GT26 , GT28 , GT33 , GT49 , GT52 , GT55 , GT68
<i>M. canis</i>	GT12, GT14, GT20, GT53, GT56, GT60, GT61, GT64, GT66	<i>A. otae</i>	GT12, GT14, GT20, GT53, GT56, GT60, GT61, GT64, GT66	<i>A. otae</i>	GT12, GT14, GT20, GT53, GT56, GT60, GT61, GT64, GT66
<i>M. nanum</i>	GT01, GT19, GT46	<i>N. nana</i>	GT01, GT19, GT46	<i>N. nana</i>	GT01, GT19, GT46
<i>E. floccosum</i>	MX71	<i>E. floccosum</i>	MX71	<i>E. floccosum</i>	MX71

Los aislados marcados en color rojo denotan un cambio en su identificación en el análisis de alguno de los marcadores, con respecto a la identificación fenotípica. ND: No Definido. En los cuadros correspondientes a las secuencias de referencia, cuando aparecen dos especies, se debe a que el marcador no logra definir bien entre ellas.

DISCUSIÓN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la dermatofitosis afecta cerca del 25% de la población mundial, no obstante, su incidencia es mayor en los países tropicales debido a las altas temperaturas y la humedad (Petrucci *et al.*, 2020). El aumento de las especies causantes de dermatofitosis puede variar en función de la ubicación geográfica, la migración hacia y desde diferentes continentes, cambios en el estilo de vida del ser humano y el enfoque médico de las dermatofitosis en los diferentes sistemas sanitarios, todos estos factores influyen en la predisposición de las infecciones por dermatofitos (Bontems *et al.*, 2020).

En México y países de Centroamérica, la identificación de los dermatofitos generalmente se realiza por métodos fenotípicos, sin embargo, para la identificación de las especies se requiere de los métodos genotípicos, ya que en la actualidad la taxonomía de los dermatofitos ha cambiado. Por lo que en este estudio se analizaron 94 muestras clínicas de dermatofitos procedentes de Costa Rica, Guatemala, Honduras, México y República Dominicana, para identificar los dermatofitos por métodos fenotípicos y genotípicos.

Se sabe que los dermatofitos presentan una gran variabilidad en su morfología macroscópica, como son la producción de pigmentos, aspecto y consistencia de la colonia, además de una diversidad micromorfológica que incluye, la disposición típica de los conidios, diferentes modalidades de hifas; todas éstas, características elementales para la identificación de las especies. Con el fin de visualizar la variabilidad macro y micromorfológica que presentan los dermatofitos, se utilizaron

medios APD y Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol, los cuales permitieron visualizar los pigmentos producidos por algunos de los aislados estudiados (Robert y Pihet, 2008).

Es importante señalar que los aislados que presentaron pigmento rojo-vino al reverso de la colonia, fueron identificados como *T. rubrum*. Asimismo, el crecimiento de estos hongos fue mayor, cuando se sembraron en medio APD, en comparación con el medio Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol. Con respecto al estudio de la micromorfología, en medio APD se observó una gran variedad de estructuras, tanto en el micelio vegetativo como en el reproductivo, los microconidios en forma de lágrima fueron los que predominaron en esta especie, en tanto que las especies del complejo *T. mentagrophytes*, los microconidios globosos fueron los más abundantes, sin embargo, algunos aislados mostraron ambos tipos de microconidios, con similares proporciones, en esos casos, no fue útil esta característica para diferenciar entre especies del mismo complejo. De igual manera, en los aislados identificados como *T. tonsurans* se observó una mayor presencia de conidios, cuando estos fueron sembrados en medios APD, a diferencia de cuando fueron sembrados en medio Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol.

Los aislados de las especies *M. gypseum* y *M. nanum*, compartieron características morfológicas como colonias con abundante crecimiento, aspecto pulverulento, en su mayoría el color de las colonias fue ante o marrón, mientras que los aislados de *M. canis*, desarrollaron colonias algodonosas de color blanco, con crecimiento limitado. Microscópicamente los aislados de *M. gypseum* y *M. canis* mostraron macroconidios en forma de huso, en tanto los *M. nanum* presentaron macroconidios

en forma de pera. La principal diferencia entre las tres especies es la cantidad de lóculos que presentan los macroconidios, *M. canis* presentó 10 lóculos, mientras que *M. nanum* presentó 2 lóculos.

Epidermophyton floccosum, en medio APD mostró abundantes macroconidios en forma de bastón, sin embargo, en medio Sabouraud con cicloheximida y cloranfenicol, se observó una mayor cantidad de clamidioconidios. Una de las principales características de esta especie es la ausencia de microconidios. En cuanto a los aislados CR10, GT64, MX56 y MX86, perdieron la habilidad para esporular, por lo tanto, solo se describió su morfología colonial, de manera que este hecho resalta la importancia de la identificación genotípica. Además, se ha comprobado que la identificación morfológica de los dermatofitos y otros métodos convencionales, pueden ser insuficientes y propensos a errores (Robert y Pihet, 2008), como es el caso de *T. interdigitale* y *T. rubrum*, quienes son muy similares fenotípicamente (Abdel-Rahman, 2008; Gräser *et al.*; 2000; Weitzman y Summerbell, 1995).

Asimismo, durante los últimos años, los análisis moleculares han permitido una mejor comprensión de las relaciones taxonómicas y filogenéticas, para estos análisis se han usado varios marcadores moleculares, entre ellos la región nuclear del rDNA que ha sido muy utilizada en estudios filogenéticos moleculares porque es multicopia y contiene genes altamente conservados 18S, 5.8S y 28S, así como los dominios variables de ITS1 e ITS2, y la región IGS no transcrita. Además, las regiones 18S y 28S a menudo albergan intrones, insertados en posiciones altamente conservadas, contribuyendo a más información con respecto a esta

región. Las propiedades de estos marcadores han sido explotadas extensamente en estudios de especies de *Aspergillus* (Peterson, 2000; Samson *et al.*, 2011a; Varga *et al.*, 2007) u otros géneros fúngicos (Neueglise *et al.*, 1997; Pantou *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2003). De estas regiones del rDNA, la región ITS fue la primera que se utilizó en la construcción de filogenias para la identificación de los dermatofitos, lo que mostró un avance en la taxonomía de éstos, sin embargo, la confirmación y distinción de las especies se ha llevado a cabo utilizando otros genes. La utilización del marcador *BT2* para la construcción de filogenias de dermatofitos, mostró la topología del árbol es muy similar a la obtenida con el marcador ITS, solo con pequeñas inconsistencias (Rezaei-Matehkolaei *et al.*, 2014). Otro marcador que se ha utilizado es el *Tef-1 α* , y se ha comparado con el marcador ITS, los resultados evidenciaron que hay consistencia entre las topologías de los árboles obtenidos con estos marcadores, sin embargo, la especificidad y el poder discriminatorio de *Tef-1 α* fue más alto que con ITS, por lo que es particularmente útil en algunos grupos de especies estrechamente interrelacionados (Mirhendi *et al.*, 2015). Dadas las características de estos marcadores, se consideraron para realizar la caracterización genotípica de los dermatofitos incluidos en este estudio.

No obstante, la filogenia fúngica con base en criterios morfológicos o con genes individuales como las secuencias del gen rRNA, no siempre determinan el nivel taxonómico de los organismos examinados (Samson *et al.*, 2014). Además, los estudios con base en un solo marcador no siempre representan fielmente la historia de todo el genoma que lo contiene y las comparaciones pueden dar conclusiones

erróneas sobre la relación de un hongo con miembros de la misma especie o incluso del mismo género (Lang *et al.*, 1999).

Por lo que en este estudio se utilizaron las secuencias de los marcadores anteriormente descritos, para la construcción de filogenias individuales para cada uno de los marcadores y para los marcadores concatenados. Además, se tomaron en cuenta secuencias de referencia (RefSeq) reportadas en la literatura actual, ya que en el GenBank se han depositado numerosas secuencias con diferentes nombres para este conjunto de hongos, lo que dificulta la identificación de una cepa determinada de este grupo de dermatofitos mediante el programa BLASTn del NCBI (Symoens *et al.*, 2011).

La construcción filogenética elaborada con los tres marcadores individuales y concatenados, a través de Máxima Verosimilitud e Inferencia Bayesiana mostró concordancia en la topología de los árboles. De los 27 aislados identificados fenotípicamente como *T. mentagrophytes*, 26 fueron reubicados como *T. interdigitale* al asociarse con la RefSeq de dicha especie, mientras que solo uno (MX69) se relacionó con la secuencia de referencia *T. tonsurans*.

Por otro lado, de los seis aislados identificados fenotípicamente como *T. tonsurans*, a través del marcador ITS, cuatro se reubicaron como *T. equinum* y solo uno conservó su identificación inicial (MX55), mientras que con el marcador *BT2*, un aislado (MX55) se asoció con la RefSeq de *T. rubrum*, dos aislados (MX82 y MX102) se reubicaron como *T. equinum* y tres aislados conservaron su identificación inicial. Además, con el marcador *Tef-1 α* , el aislado MX81 también se reubicó como *T.*

equinum. Sin embargo, la filogenia obtenida con los marcadores concatenados, dos aislados (MX82, MX102) se reubicaron con la RefSeq de *T. equinum*, cuatro aislados conservaron su identificación inicial y solo el aislado MX55 no se definió con un grupo.

La mayoría de los aislados identificados fenotípicamente como *T. rubrum*, con el marcador ITS no se incluyeron en un mismo grupo, ya que los aislados DO19 y MX48, fueron reubicados como *T. tonsurans* y *T. equinum*, respectivamente. No obstante, con el marcador *BT2*, 24 aislados mantuvieron su identificación inicial y tres aislados (DO19, MX59 y MX127), se asociaron con la RefSeq de *T. tonsurans*, mientras que con el marcador *Tef-1 α* , 25 aislados mantuvieron su identificación inicial y dos aislados (DO19 y MX59) se reubicaron como *T. tonsurans*. Mientras que la filogenia obtenida con los marcadores concatenados, sólo el aislado DO19 se reubicó como *T. tonsurans* y el resto se mantuvo en su identificación inicial.

En relación con los aislados del género *Microsporum*, se observaron similitudes entre las filogenias obtenidas con los tres marcadores individuales y concatenados. El aislado HN01 se reubicó como *N. fulva*, nueve aislados se asociaron con las RefSeq de *M. gypseum* y *N. gypsea* (fase sexual), en tanto que 11 aislados se reubicaron con la RefSeq de *N. incurvata*.

Todos los aislados identificados como *M. canis*, se asociaron con la RefSeq de *A. otae* (fase sexual). En el caso de los tres aislados identificados fenotípicamente como *M. nanum*, con el marcador ITS, dos se reubicaron como *N. nana* (fase sexual) y el tercero no se relacionó con ninguna de las RefSeq; sin embargo, en la filogenia

obtenida con los marcadores *BT2*, *Tef-1α* y la obtenida con los marcadores concatenados, los tres aislados se relacionaron con la RefSeq de *N. nana*. El aislado identificado fenotípicamente como *E. floccosum*, concordó con la identificación genotípica.

Es importante resaltar que al comparar los métodos utilizados para la construcción de los árboles filogenéticos, el método de Inferencia Bayesiana fue el que tuvo mayor poder discriminatorio, ya que logró distinguir el complejo de *T. mentagrophytes* del complejo *T. tonsurans*, asimismo, ubicó de manera adecuada las especies en cada complejo.

El método de Máxima Verosimilitud utilizando los marcadores ITS y *BT2*, solo discriminó a nivel de complejo, dejando a las especies del complejo *T. tonsurans* como un subgrupo del complejo *T. mentagrophytes*. Lo mismo sucedió con la especie *N. fulva*, ya que ésta no se separa notoriamente de la especie *M. gypseum*, pues, se ubica entre las especies *N. incurvata* y *N. gypsea* o bien solo forma un subgrupo dentro del complejo *M. gypseum*. El marcador *Tef-1α* mostró un mayor poder discriminatorio entre las especies del complejo *M. gypseum*, ya que discrimina claramente los grupos de las tres especies, lo que no sucede con el método de Inferencia Bayesiana, debido a que mantiene a *N. fulva* en el grupo de *M. gypseum*. Del mismo modo, el método de Máxima Verosimilitud logra separar y definir las especies del complejo *T. tonsurans*, sin embargo, las mantiene como un subgrupo del complejo *T. mentagrophytes*.

No obstante, al comparar los árboles obtenidos con los marcadores concatenados construidos con ambos métodos, el método de Máxima Verosimilitud tiene mayor ventaja cuando se trata de las especies del género *Trichophyton*, debido a que separa mejor los complejos de las tres especies principales, al igual que con las especies principales del género *Microsporum*. Cabe destacar que, en todos los árboles, *E. floccosum* se mantuvo separado de los otros géneros; sin embargo, se muestra una relación más estrecha con el género *Microsporum*, especialmente con la especie *M. nanum*. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Rezaei-Matehkolaie *et al.* (2014), quienes mencionan que el género *Epidermophyton* formó un grupo paralelo con *Microsporum* al utilizar los marcadores ITS y *BT2*. Sin embargo, existen trabajos que sugieren que *E. floccosum* se encuentra estrechamente relacionado con las especies antropofílicas de *Trichophyton* (Gräser *et al.*, 1998). Además, el aislado MX55 con los marcadores ITS y *Tef-1α* se identificó como *T. tonsurans*, mientras que con el marcador *BT2* se identificó como *T. rubrum*, no obstante, al realizar el análisis concatenado, no se logra definir en un grupo por lo que se propone que este aislado sea un nuevo genotipo.

En este trabajo se obtuvieron datos epidemiológicos importantes, ya que éstos mejoran el conocimiento básico de los dermatofitos, así como lo es su propagación. Entre ellos se encontró que el 63.8% de los casos analizados fueron causados por las especies del género *Trichophyton*, el 25.5% por las especies del género *Nannizzia*, 9.6% por el género *Arthroderma* y el 1.1% por el género *Epidermophyton*. Asimismo, *T. rubrum* y *T. interdigitale* fueron los agentes etiológicos de mayor frecuencia, con 26 aislados cada uno (27.6%), seguido de *N. incurvata* (11 casos,

11.7%); *N. gypsea* y *A. otae* (9 casos, 9.6%); *T. tonsurans* (4 casos, 4.2%); *T. equinum* y *N. nana* (3 casos, 3.2%); *N. fulva*, *E. floccosum* y *Trichophyton* sp. (1 caso, 1.1%). Estos hallazgos, concuerdan con datos aportados por Borman *et al.* (2007), quienes realizaron una revisión de las tendencias mundiales de los dermatofitos en las últimas tres décadas y a menos que los autores de cada estudio hagan una diferenciación específica, todos los aislados de *T. mentagrophytes* notificados, los consideraron como *T. interdigitale*, por lo que a partir de ello, mencionan que *T. rubrum* es uno de los agentes etiológicos principales en la mayoría de los países desarrollados, seguido de *T. interdigitale* para centro y sur de Europa y *T. tonsurans* para el continente americano.

Por otro lado, se ha demostrado que la prevalencia de *M. gypseum* a nivel mundial es baja, por ejemplo, en Siena, Italia, esta especie representa un 6.8% de todas las infecciones dermatofíticas (Romano *et al.*, 2009), mientras que para Brasil la frecuencia va del 0.8-2.5% (Dolenc-Voljč y Gasparič, 2017), no obstante, los resultados obtenidos en el presente estudio difieren de manera relevante, ya que, *N. gypsea* representa el 9.6% del total de aislados. Por otra parte, Ebrahimi *et al.* (2019), analizaron 79 muestras clínicas provenientes de Mashhad, Iran y encontraron que *M. canis* representó un 10.1% de todos los agentes causales, además se ha reportado que para el continente americano su frecuencia es del 7.0% de las micosis más comunes (Havlickova *et al.*, 2008), lo que coincide con nuestros resultados.

Asimismo, Spiewak y Szostak (2000) evaluaron la frecuencia de las infecciones por dermatofitos de 190 agricultores en un periodo de 1997-2000 e identificaron un caso

provocado por *M. nanum*, representando el 0.53% del total de las especies identificadas. Por otro lado, Saghrouni *et al.* (2011), realizaron un estudio retrospectivo de 26 años (1983-2008) sobre los aspectos epidemiológicos de la *tinea capitis* notificados en un laboratorio de micología situado en la región de Sousse (Túnez central). Analizaron 5,562 casos de los cuales *M. nanum* representó el 0.01% de los agentes etiológicos, sin embargo, el porcentaje obtenido para esta especie en este estudio fue significativamente mayor (3.2%). En el caso de *E. floccosum*, solo identificamos un caso (1.1%), esto difiere con algunas publicaciones, donde reportan una frecuencia superior, en un rango de 31.4% a 32.8% en lugares como Tehran y Qazvin en Iran, respectivamente (Aghmirian y Ghiasian SA, 2008; Falahati *et al.*, 2003).

La muestra única de Costa Rica analizada en el presente trabajo, procedente de Costa Rica, fue identificada como *T. rubrum*, aunque se trata de una sola muestra, el resultado concuerda con lo reportado por De Mata y Mata (1959), quienes reportaron que una de las especies con mayor frecuencia en Costa Rica fue *T. rubrum*, y la segunda especie con alta frecuencia fue *M. gypseum*. En otro trabajo publicado por Mata y Mayorga (1966), demuestran que *M. gypseum* es uno de los agentes causales predominantes en este país. Sin embargo, es pertinente mencionar que hubiera sido interesante incluir un mayor número de aislados para corroborar estos hallazgos.

En relación con las 55 muestras de Guatemala, el agente etiológico con mayor presencia fue *T. interdigitale* (40.0%), seguido de *N. incurvata* (20.0%), *N. gypsea* y *A. otae* (16.4%), *M. nanum* (5.4%) y *T. rubrum* (1.8%). Estos datos no coinciden con

lo reportado en el trabajo de Martínez *et al.* (2009b), quienes mencionan que el dermatofito más común es *T. rubrum*. Asimismo, Frías de León *et al.* (2017) realizaron una investigación sobre el estado epidemiológico de la *tinea capitis* en una región subtropical de Mesoamérica (Guatemala) en los últimos 12 años y encontraron que los dermatofitos aislados con mayor frecuencia fueron: *M. canis* (82%), *M. gypseum* (6%) y *T. rubrum* (5%).

Con respecto a los tres aislados procedentes de Honduras, estos fueron identificados como *N. fulva*, *T. rubrum* y *T. interdigitale*, lo que coincide parcialmente con los datos obtenidos por Mejía de Calona *et al.* (1991), quienes mencionan que *T. rubrum*, *M. canis* y *T. mentagrophytes* son los agentes más frecuentes causantes de dermatomicosis. Además, García y Meléndez (2012) analizaron 110 casos de *tinea capitis* en niños menores de 18 años y reportaron que los agentes etiológicos más frecuentes fueron *M. canis* y *T. tonsurans*, datos que son completamente diferentes a lo obtenido en nuestro estudio, ya que, de 32 muestras clínicas de México, el 68.8% fueron identificadas como *T. rubrum*, 9.4% como *T. tonsuran*, 9.4% como *T. equinum*, 6.2% como *T. interdigitale* y 6.2% como *E. floccosum* y 3.1% como *Trichophyton* sp, sin embargo, estos datos coinciden con el trabajo de Welsh *et al.* (2006), quienes evaluaron la frecuencia de cada variante clínica, así como la distribución de los agentes etiológicos en el estado de Monterrey, México, encontrando que el agente predominante es *T. rubrum* con un 45%, sin embargo, el segundo agente con mayor frecuencia es *T. mentagrophytes*, lo que difiere con nuestros resultados, ya que en nuestro análisis *T. tonsurans* se aisló en un mayor número de casos. No obstante, López Martínez *et al* (2010), examinaron 15,101

muestras biológicas provenientes de la ciudad de México y concluyeron que las especies más comunes fueron *T. rubrum* (71.2%), seguido de *T. tonsurans* (6.9%), *T. mentagrophytes* (5.5%), *M. canis* (4.5%), *E. floccosum* (1.3%), *M. gypseum* (0.4%), *M. audouinii* (0.05%), *T. verrucosum* (0.05%) y *Trichophyton* spp. (10.1%). Estos resultados tienen mayor similitud a los datos obtenidos en el presente estudio.

Finalmente, los tres aislados procedentes de República Dominicana, fueron identificados como *T. rubrum*, *T. interdigitale* y *T. tonsurans*. En contraste, Espinal *et al.* (2010), estudiaron 265 muestras en República Dominicana con diagnóstico de *tinea capitis* y ellos reportaron a *M. canis* y *M. audouinii* como los agentes causales de la mayoría de los casos. Asimismo, en otro trabajo realizado en por Arenas *et al.* (2010b) demostraron que *T. tonsurans* y *M. audouinii* son los principales responsables de *tinea capitis*. Ambos trabajos coinciden en la especie *M. audouinii*; sin embargo, esto ha ido cambiando a lo largo de los años, en este trabajo *T. rubrum* y *T. interdigitale* son agentes etiológicos relevantes. La no coincidencia de los dermatofitos identificados en este trabajo con otros trabajos publicados puede ser explicada por la evolución de las poblaciones urbanas y rurales, el creciente número de animales de compañía, así como la humedad, temperatura, entre otros, que influye en la diversidad fenotípica y genotípica de los dermatofitos en las diferentes zonas geográficas (Bontems *et al.*, 2020).

CONCLUSIÓN

La morfología de los dermatofitos es muy variable, es decir, no siempre las colonias de una misma especie desarrollan las mismas características, en cuanto a las características microscópicas presentan conidios similares cuando se habla del género o bien pueden presentar pleomorfismo. Además, estos métodos requieren un tiempo largo para un crecimiento adecuado de las colonias, lo que complica su identificación. Es por ello, que se utilizaron los métodos moleculares, como es la tipificación de secuencias multilocus, en donde se ocuparon marcadores moleculares, que aclaran en gran parte la taxonomía de los dermatofitos, ya que los dermatofitos son una familia estrechamente relacionada y altamente conservada de hongos, por lo que el enfoque molecular ha sido muy exitoso en la determinación de los principales clados de la familia de dermatofitos, así como complejos de especies problemáticas. Todos los marcadores moleculares utilizados, en el presente trabajo contribuyeron claramente a la resolución de las relaciones filogenéticas en los dermatofitos, independientemente de las diferentes formas en que se procesaron los datos filogenéticos. El locus más informativo fue el *Tef-1 α* . Sin embargo, los análisis con base en un solo gen no resuelven todas las ambigüedades y no siempre representan la historia evolutiva de las especies. Sin lugar a duda, los dermatofitos son géneros muy diversos y no siempre es fácil determinar las relaciones filogenéticas entre especies. Por lo tanto, la combinación de información de secuencias de genes nucleares resuelve varias acotaciones y relaciones de especies de los dermatofitos y demuestra las ventajas de este enfoque multigénico.

PERSPECTIVAS

Llevar a cabo un estudio filogenético con un mayor número de aislados de dermatofitos tanto de los países ya estudiados como de nuevos países de Centroamérica, aumentando el número de marcadores como DNA topoisomerasa II (*TOP-II*), el gen de calmodulina, actina (*ACT*) y quitina-sintasa-1 (*CHS1*), con el propósito de obtener clados bien definidos para la identificación de especies de dermatofitos. Realizar un estudio de estructura de poblaciones, para conocer la diversidad genotípica de la especies de dermatofitos. Asimismo, realizar más estudios para la caracterización del aislado MX55 con sospecha nuevo genotipo. Finalmente, realizar estudios de susceptibilidad de antifúngica, para conocer el comportamiento de estos hongos frente a diversos tratamientos y en un futuro planear el desarrollo de nuevos blancos terapéuticos.

REFERENCIAS

1. Abdel-Rahman SM. Strain differentiation of dermatophytes. *Mycopathologia*. 2008; 166 (5-6): 319-33. DOI:10.1007/s11046-008-9108-1.
2. Aghamirian MR, Ghiasian SA. Dermatophytoses in outpatients attending the dermatology center of Avicenna hospital in Qazvin, Iran. *Mycoses* 2008; 51: 155–160. DOI:10.1111/j.1439-0507.2007.01450.x.
3. Ahmadi B, Mirhendi H, Makimura K, de Hoog GS, Shidfar MR, Nouripour-Sisakht S, Jalalizand N. Phylogenetic analysis of dermatophyte species using DNA sequence polymorphism in calmodulin gene. *Med Mycol*. 2016; 54 (5): 500-514. DOI:10.1093/mmy/myw004.
4. Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res*. 1997; 25 (17): 3389-3402. DOI:10.1093/nar/25.17.3389.
5. Ameen M. Epidemiology of superficial fungal infections. *Clin Dermatol*. 2010; 28 (2): 197-201. DOI:10.1016/j.clindermatol.2009.12.005.
6. Arenas R. Dermatofitosis en México. *Rev Iberoam Micol*. 2002; 19 (2): 63-67.
7. Arenas R, Bonifaz A, Padilla MC, Arce M, Atoche C, Barba J, Campos P, Fernández R, Mayorga J, Nazar D, Ocampo J. Onychomycosis. A Mexican survey. *Eur J Dermatol*. 2010a; 20 (5): 611-614. DOI:10.1684/ejd.2010.1023.
8. Arenas R, Torres E, Amaya M, Rivera ER, Espinal A, Polanco M, Fernández R, Isa-Isa R. Tinea capitis. Emergencia de *Microsporum audouinii* y *Trichophyton tonsurans* en República Dominicana. *Actas Dermosifilogr*. 2010b; 101(4): 330-335. DOI:10.1016/j.ad.2009.12.004.
9. Balajee SA, Kano R, Baddley JW, Moser SA, Marr KA, Alexander BD, Andes D, Kontoyiannis DP, Perrone G, Peterson S, Brandt ME, Pappas PG, Chiller T. Molecular identification of

- Aspergillus* species collected for the Transplant-Associated Infection Surveillance Network. J Clin Microbiol. 2009; 47 (47): 3138-3141. DOI:10.1128/JCM.01070-09.
10. Bao YQ, Wan Z, Li RY. In vitro antifungal activity of micafungin and caspofungin against dermatophytes isolated from China. Mycopathologia. 2013; 175 (1-2): 141-145. DOI:10.1007/s11046-012-9571-6.
 11. Bassiri-Jahromi S, Khaksari AA. Epidemiological survey of dermatophytosis in Tehran, Iran, from 2000 to 2005. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2009; 75 (2): 142-147. DOI:10.4103/0378-6323.48658.
 12. Berbee ML, Yoshimura A, Sugiyama J, Taylor JW. Is *Penicillium* monophyletic? An evaluation of phylogeny in the family Trichocomaceae from 18S, 5.8S and ITS ribosomal DNA sequence data. Mycologia. 1995; 87 (2): 210-222. DOI: 10-1080/00275514.1995.12026523.
 13. Bontems O, Fratti M, Salamin K, Guenova E, Monod M. Epidemiology of Dermatophytoses in Switzerland According to a Survey of Dermatophytes Isolated in Lausanne between 2001 and 2018. J Fungi (Basel). 2020; 6 (2): 95. DOI:10.3390/jof6020095.
 14. Borman AM, Campbell CK, Fraser M, Johnson EM. Analysis of the dermatophyte species isolated in the British Isles between 1980 and 2005 and review of worldwide dermatophyte trends over the last three decades. Med Mycol. 2007; 45 (2): 131-141. DOI: 10.1080/13693780601070107.
 15. Cafarchia C, Otranto D, Weigl S, Campbell BE, Parisi A, Cantacessi C, Mancianti F, Danesi P, Gasser RB. Molecular characterization of selected dermatophytes and their identification by electrophoretic mutation scanning. Electrophoresis. 2009; 30 (20): 3555-3564. DOI:10.1002/elps.200900313.

16. Carbone I, Kohn LM. Ribosomal DNA sequence divergence within internal transcribed spacer 1 of the Sclerotiniaceae. *Mycologia*. 1993; 85 (3): 415-427. DOI:10.1080/00275514.1993.12026293.
17. Choi JS, Gräser Y, Walther G, Peano A, Symoens F, Hoog S. *Microsporium mirabile* and its teleomorph *Arthroderma mirabile*, a new dermatophyte species in the *M. cookei* clade. *Med Mycol*. 2012; 50 (2): 161-169. DOI:10.3109/13693786.2011.594456.
18. Coelho LM, Aquino-Ferreira R, Maffei CML, Martinez-Rossi NM. In vitro antifungal drug susceptibilities of dermatophytes microconidia and arthroconidia. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62 (4): 758-761. DOI:10.1093/jac/dkn245.
19. Davidson FD, Mackenzie DWR, Owen RJ. Deoxyribonucleic acid base compositions of dermatophytes. *J Gen Microbiol*. 1980; 118 (2): 465-470. DOI:10.1099/00221287-118-2-465.
20. Davidson FD, Mackenzie DWR. DNA homology studies in the taxonomy of dermatophytes. *Sabouraudia*. 1984; 22 (2): 117-123. DOI:10.1080/00362178485380191.
21. de Bièvre C, Dauguet C, Nguyen VH, Ibrahim-Granet O. Polymorphism in mitochondrial DNA of several *Trichophyton rubrum* isolates from clinical specimens. *Ann Inst Pasteur Microbiol*. 1987; 138 (6): 719-727. DOI:10.1016/0769-2609(87)90149-9.
22. de Hoog GS, Dukik K, Monod M, Packeu A, Stubbe D, Hendrickx M, Kupsch C, Stielow JB, Freeke J, Göker M, Rezaei-Matehkolaei A, Mirhendi H, Gräser Y. Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. *Mycopathologia*. 2017; 182 (1-2): 5-31. DOI:10.1007/s11046-016-0073-9.
23. De Mata GG y Mata L. Dermatofitosis en Costa Rica. *Rev Biol Trop*. 1959; 7(2): 157-189.

24. Dolenc-Voljč M, Gasparič J. Human Infections with *Microsporum gypseum* Complex (*Nannizzia gypsea*) in Slovenia. *Mycopathologia*. 2017; 182 (11-12): 1069-1075. DOI:10.1007/s11046-017-0194-9.
25. Ebrahimi M, Zarrinfar H, Naseri A, Najafzadeh MJ, Fata A, Parian M, Khorsand I, Novak Babič M. Epidemiology of dermatophytosis in northeastern Iran; A subtropical region. *Curr Med Mycol*. 2019; 5 (2): 16-21. DOI:10.18502/cmm.5.2.1156.
26. Espinal A, Herrera MC, Sánchez E, Isa R, Miniño M, Cruz AC, Arenas R. Tiña de la cabeza en República Dominicana. Estudio de 285 casos en encuestas epidemiológicas en diferentes zonas geográficas que incluyeron zona urbana, rural y rural marginal. *Rev Dom Dermatol*. 2010; 37 (1): 11-15.
27. Falahati M, Akhlaghi L, Lari AR, Alaghebandan R. Epidemiology of dermatophytoses in an area South of Tehran, Iran. *Mycopathologia* 2003; 156 (4): 279–287. DOI:10.1023/b:myco.0000003560.65857.cf.
28. Frías-De León MG, Zavala-Ramírez M, Córdoba S, Zúñiga G, Duarte-Escalante E, Pérez-Torres A, Zepeda-Rodríguez A, López-Martínez I, Buitrago MJ, Reyes-Montes MR. Phenotypic characteristics of isolates of *Aspergillus* section *Fumigati* from different geographic origins and their relationships with genotypic characteristics. *BMC Infect Dis*. 2011; 11: 116. DOI:10.1186/1471-2334-11-116.
29. Frías-De-León MG, Porrás-López C, Martínez-Villarreal JD, Villagómez-Figueroa O, Acosta-Altamirano G, Arenas R, Martínez-Herrera E. Tinea capitis. Current epidemiological data in a subtropical region of Mesoamerica (Guatemala). *Dermatol Rev Mex* 2017; 61 (5): 371–378.
30. García D y Melendez V. Caracterización clínico epidemiológica de *tinea capitis* en pacientes atendidos en consulta externa de dermatología pediátrica del Hospital Escuela, Tegucigalpa, Honduras. 2012.

31. Gilgado F, Cano J, Gené J, Guarro J. Molecular phylogeny of the *Pseudallescheria boydii* species complex: proposal of two new species. J Clin Microbiol. 2005; 43 (10): 4930-4942. DOI:10.1128/JCM.43.10.4930-4942.2005.
32. Glass NL, Donaldson GC. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. Appl Environ Microbiol. 1995; 61 (14): 1323–1330. DOI:10.1128/aem.61.4.1323-1330.1995.
33. Gräser Y, el Fari M, Presber W, Sterry W, Tietz HJ. Identification of common dermatophytes (*Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*) using polymerase chain reactions. Br J Dermatol. 1998; 138 (4): 576-582. DOI:10.1046/j.1365-2133.1998.02165.x
34. Gräser Y, Kuijpers AF, Presber W, de Hoog GS. Molecular taxonomy of *Trichophyton rubrum* complex. J Clin Microbiol. 2000; 38: 3329-3336. DOI:10.1128/jcm.38.9.3329-3336.2000.
35. Gräser Y, De Hoog S, Summerbell R. Dermatophytes: recognizing species of clonal fungi. Med Mycol. 2006; 44 (3): 199–209. DOI:10.1080/13693780600606810.
36. Gräser Y, Scott J, Summerbell R. The new species concept in dermatophytes-a polyphasic approach. Mycopathologia. 2008; 166 (5-6): 239–256. DOI:10.1007/s11046-008-9099-y..
37. Guarro J, Gené J, Stchigel AM. Developments in fungal taxonomy. Clin Microbiol Rev. 1999; 12 (3): 454–500. DOI:10.1128/CMR.12.3.454.
38. Hall TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symp Ser. 1999; 41: 95-98.
39. Harmsen D, Schwinn A, Weig M, Bröcker E.-B, Heesemann J. Phylogeny and dating of some pathogenic keratinophilic fungi using small subunit ribosomal RNA. J Med Vet Mycol. 1995; 33 (5): 299–303. DOI:10.1080/02681219580000611.
40. Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. Mycoses. 2008; 51 Suppl 4: 2-15. DOI:10.1111/j.1439-0507.2008.01606.x.

41. Hirai A, Kano R, Nakamura Y, Watanabe S, Hasegawa A. Molecular taxonomy of dermatophytes and related fungi by chitin synthase 1 (*CHS1*) gene sequences. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2003; 83 (1): 11-20. DOI:10.1023/a: 1022928811306.
42. Hubka V, Cmokova A, Skorepova M, Mikula P, Kolarik M. *Trichophyton onychocola* sp. nov. isolated from human nail. *Med Mycol*. 2014a; 52 (3): 285–292. DOI:10.1093/mmy/myt010.
43. Hubka V, Dobiášová S, Dobiáš R, Kolarík M. *Microsporum aenigmaticum* sp. nov. from *M. gypseum* complex, isolated as a cause of tinea corporis. *Med Mycol*. 2014b; 52 (2): 387–396. DOI:10.1093/mmy/myt033.
44. Huelsenbeck JP, Ronquist F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* (Oxford, England) 2001; 17(8): 754-755. DOI:10.1093/bioinformatics/17.8.754.
45. Huelsenbeck JP, Rannala B. Frequentist Properties of Bayesian Posterior Probabilities of Phylogenetic Trees Under Simple and Complex Substitution Models. *Syst Biol*. 2004; 53 (6): 904-913. DOI:10.1080/10635150490522629.
46. Kac G. Molecular approaches to the study of dermatophytes. *Med Mycol*. 2000; 38 (5): 329–336. DOI:10.1080/mmy.38.5.329.336.
47. Kanbe T. Molecular approaches in the diagnosis of dermatophytosis. *Mycopathologia*. 2008; 166 (5-6): 307-317. DOI:10.1007/s11046-008-9107-2.
48. Kano R, Nakamura Y, Watari T, Watanabe S, Takahashi H, Tsujimoto H, Hasegawa A. Identification of clinical isolates of *Microsporum canis* and *M. gypseum* by random amplification of polymorphic DNA(RAPD) and Southern hybridization analysis. *Mycoses*. 1998; 41(3-4): 139–143. DOI:10.1111/j.1439-0507.1998.tb00315.x.

49. Kasuga T, Taylor J, White TJ. Phylogenetic relationships of varieties and geographical groups of the human pathogenic fungus *Histoplasma capsulatum* Darling. *J Clin Microbiol.* 1999; 37 (3): 653-663. DOI: 10.1128/JCM.37.3.653-663.1999.
50. Kawasaki M, Aoki M, Ishizaki H, Nishimura K, Miyaji M. Phylogeny of *Epidermophyton floccosum* and other dermatophytes. *Mycopathologia.* 1996; 134 (3): 121–128. DOI:10.1007/BF00436718.
51. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol.* 2016; 33 (7): 1870-1874. DOI:10.1093/molbev/msw054.
52. Lang BF, Gray MW, Burger G. Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes. *Annual Reviews Genetic.* 1999; 33: 351-397. DOI:10.1146/annurev.genet.33.1.351.
53. Leclerc MC, Philippe H, Guého E. Phylogeny of dermatophytes and dimorphic fungi based on large subunit ribosomal RNA sequence comparisons. *J Med Vet Mycol.* 1994; 32 (5): 331–341. DOI:10.1080/02681219480000451.
54. Liu D, Coloe S, Baird R, Pedersen J. Rapid differentiation of *Microsporium* dermatophytes based on arbitrarily primed PCR amplification. *Opportun Pathogens.* 1997; 9 (1): 36.
55. Lobuglio K, Pitt JI, Taylor JW. Phylogenetic analysis of two ribosomal DNA regions indicates multiple independent losses of a sexual *Talaromyces* state among asexual *Penicillium* species in subgenus *Biverticillium*. *Mycologia.* 1993; 85 (4): 592–604. DOI: 10.1080/00275514.1993.12026313.
56. López-Martínez R, Macotela-Ruíz E, Mariat F, Motta CN. Dermatofitosis. Algunos de sus aspectos epidemiológicos. *Rev Med IMSS (Mex).* 1972; 11 (2): 242–247.

57. López-Martínez R, Manzano-Gayosso P, Hernández-Hernández F, Bazán-Mora E, Méndez-Tovar LJ. Dynamics of dermatophytosis frequency in Mexico: an analysis of 2084 cases. *Med Mycol.* 2010; 48 (3): 476–479. DOI:10.3109/13693780903219006.
58. Makimura K, Murayama SY, Yamaguchi H. Detection of a wide range of medically important fungi by the polymerase chain reaction. *J Med Microbiol.* 1994; 40 (5): 358–364. DOI:10.1099/00222615-40-5-358.
59. Makimura K, Mochizuki T, Hasegawa A, Uchida K, Saito H, Yamaguchi H. Phylogenetic classification of *T. mentagrophytes* complex stains based on DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 regions. *J Clin Microbiol.* 1998; 36 (9): 2629-2633. DOI:10.1128/JCM.36.9.2629-2633.1998.
60. Makimura K, Tamura Y, Mochizuki T, Hasegawa A, Tajiri Y, Hanazawa R, Uchida K, Saito H, Yamaguchi H. Phylogenetic classification and species identification of dermatophyte strains based on DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 regions. *J Clin Microbiol.* 1999; 37 (4): 920-924. DOI:10.1128/JCM.37.4.920-924.1999.
61. Manzano-Gayosso P, Méndez-Tovar LJ, Hernández-Hernández F, López-Martínez R. Dermatophytoses in Mexico City. *Mycoses.* 1994; 37 (1-2): 49–52. DOI:10.1111/j.1439-0507.1994.tb00285.x.
62. Martínez E, Tejada D, Rivas E, Arenas R. Onicomycosis en niños y adolescentes. Informe de 78 casos estudiados en un año en Guatemala. *Dermatología CMQ.* 2009a; 7 (4):243-246.
63. Martínez E, de León S, Pérez E, Pacheco A, Rivas E, Borjas C, Arenas R. *Tinea capitis*. Informe de 60 casos con parasitación pilar y/o agente causal confirmado. *Dermatología CMQ.* 2009b; 7 (2): 98-101.
64. Mata LJ y Mayorga R. Dermatofitosis por *Microsporium gypseum* en Costa Rica y Guatemala. *Rev Lat Amer Microbiol Parasitol.* 1966; 8: 139-145.

65. Mejta de Calona A, de Sierra O y de Navarro F. Micosis Superficiales en el Hospital Escuela. Revista Médica Hondureña. 1991; 59: 8-13.
66. Mirhendi H, Makimura K, de Hoog GS, Rezaei-Matehkolaei A, Najafzadeh MJ, Umeda Y, Ahmadi B. Translation elongation factor 1- α gene as a potential taxonomic and identification marker in dermatophytes. Med Mycol. 2015; 53 (3): 215-224. DOI:10.1093/mmy/myu088.
67. Mirzahoseini H, Omidinia E, Shams-Ghahfarokhi M, Sadeghi G, Razzaghi-Abyaneh M. Application of PCR-RFLP to rapid identification of the main pathogenic dermatophytes from clinical specimens. Iran J Public Health. 2009; 38 (1): 18-24.
68. Mochizuki T, Takada K, Watanabe S, Kawasaki W, Ishizaki H. Taxonomy of *Trichophyton interdigitale* (*Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*) by restriction enzyme analysis of mitochondrial DNA. J Med Vet Mycol. 1990; 28 (3): 191–196. DOI:10.1080/02681219080000251.
69. Mochinzuki T, Sugie N, Uehara M. Random amplification of polymorphic DNA is useful for the differentiation of several anthropophilic dermatophytes. Mycoses. 1997; 40 (11-12): 405-409. DOI:10.1111/j.1439-0507.1997.tb00175.x.
70. Morales-Mendoza Y, Arenas-Guzmán R. Onicomicosis en pacientes pediátricos: un giro epidemiológico y un reto terapéutico. Dermatol Rev Mex. 2012; 56 (2): 115-118.
71. Mostert L, Groenewald JZ, Summerbell RC Robert V, Sutton DA, Padhye AA, Crous PW. Species of *Phaeoacremonium* associated with infections in humans and environmental reservoirs in infected woody plants. J Clin Microbiol. 2005; 43 (4): 1752-1767. DOI:10.1128/JCM.43.4.1752-1767.2005.
72. Neuvéglise C, Brygoo Y, Riba G. 28s rDNA group-I introns: a powerful tool for identifying strains of *Beauveria brongniartii*. Mol Ecol. 1997; 6 (4): 373-381. DOI:10.1046/j.1365-294x.1997.00202.x.

73. Nishio K, Kawasaki M, Ishizaki H. Phylogeny of the genera *Trichophyton* using mitochondrial DNA analysis. *Mycopathologia*. 1992; 117 (3): 127-132. DOI:10.1007/BF00442772.
74. Nyilasi I, Kocsubé S, Krizsán K, Galgóczy L, Papp T, Pesti M, Nagy K, Vágvölgyi C. Susceptibility of clinically important dermatophytes against statins and different statin-antifungal combinations. *Med Mycol*. 2014; 52 (2): 140-148. DOI:10.3109/13693786.2013.828160.
75. O'Donnell K, Cigelnik E. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Mol Phylogenet Evol*. 1997; 7 (1): 103–116. DOI:10.1006/mpev.1996.0376.
76. O'Donnell K, Kistler HC, Cigelnik E, Ploetz RC. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proc Natl Acad Sci*. 1998; 95 (5): 2044–2049. DOI:10.1073/pnas.95.5.2044.
77. O'Donnell K. Molecular phylogeny of the *Nectria haematococca-Fusarium solani* species complex. *Mycologia*. 2000; 92 (5): 919–938. DOI:10.1080/00275514.2000.12061237.
78. Padilla MC, Alfaro L, Cardona MA. Tiña por *Trichophyton tonsurans* en diversas topografías. *Rev Cent Dermatol Pascua*. 2011; 20 (2): 46-53.
79. Panasiti V, Devirgiliis V, Borroni RG, Mancini M, Curzio M, Rossi M, Bottoni U, Calvieri S. Epidemiology of dermatophytic infections in Rome, Italy: a retrospective study from 2002 to 2004. *Med Mycol*. 2007; 45 (1): 57-60. DOI:10.1080/13693780601028683.
80. Pantou MP, Mavridou A, Typas MA. IGS sequence variation, group-I introns and the complete nuclear ribosomal DNA of the entomopathogenic fungus *Metarhizium*: excellent tools for isolate detection and phylogenetic analysis. *Fungal Genet Biol*. 2003; 38 (2): 159-74. DOI:10.1016/s1087-1845(02)00536-4.

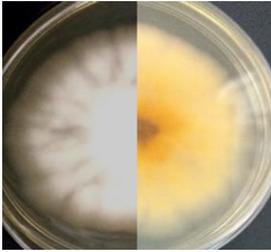
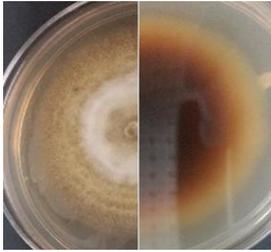
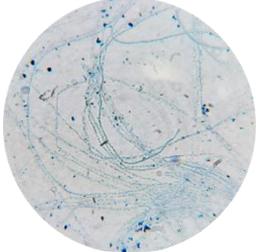
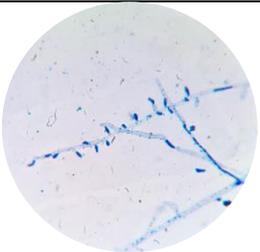
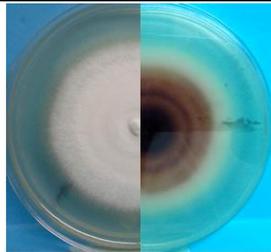
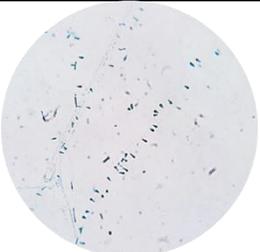
81. Peterson SW, Samson RA, Pitt JL. Phylogenetic relationships in *Aspergillus* based on rDNA sequence analysis, in *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Systematic*. Amsterdam Harwood Academic Publishers. 2000: 323-355.
82. Petrucelli MF, Abreu MH, Cantelli B, Segura GG, Nishimura FG, Bitencourt T A, Marins M, Fachin AL. Epidemiology and Diagnostic Perspectives of Dermatophytoses. *J Fungi (Basel)*. 2020; 6 (4), 310. DOI:10.3390/jof6040310.
83. Philpot CM. Geographical distribution of the dermatophytes: a review. *J Hyg (Lond)*. 1978; 80 (2): 301-313. DOI:10.1017/s0022172400053663.
84. Rezaei-Matehkolaei A, Makimura K, Shidfar MR, Zaini F, Eshraghian MR, Jalalizand N, Nouripour-Sisakht S, Hosseinpour L, Mirhendi H. Use of single-enzyme PCR-restriction digestion barcode targeting the internal transcribed spacers (ITS rDNA) to identify dermatophyte species. *Iran J Public Health*. 2012; 41 (3): 82-94.
85. Rezaei-Matehkolaei A, Makimura K, de Hoog S, Shidfar MR, Zaini F, Eshraghian M, Naghan PA, Mirhendi H. Molecular epidemiology of dermatophytosis in Tehran, Iran, a clinical and microbial survey. *Med Mycol*. 2013; 51 (2): 203-207. DOI:10.3109/13693786.2012.686124.
86. Rezaei-Matehkolaei A, Mirhendi H, Makimura K, de Hoog GS, Satoh K, Najafzadeh MJ, Shidfar MR. Nucleotide sequence analysis of beta tubulin gene in a wide range of dermatophytes. *Med Mycol*. 2014; 52 (7): 674-688. DOI:10.1093/mmy/myu033.
87. Ridell R. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycology*. 1950; 42 (2): 265-270. DOI:10.1080/00275514.1950.1201783.
88. Robert R, Pihet M. Conventional methods for the diagnosis of dermatophytosis. *Mycopathologia*. 2008; 166 (5-6): 295-306. DOI:10.1007/s11046-008-9106-3.
89. Romano C, Massai L, Gallo A, Fimiani M. *Microsporum gypseum* infection in the Siena area in 2005-2006. *Mycoses*. 2009; 52 (1): 67-71. DOI:10.1111/j.1439-0507.2008.01543.x.
90. Saghrouni F, Bougmiza I, Gheith S, Yaakoub A, Gaïed-Meski S, Fathallah A, Mtiraoui A, Ben Saïd M. Aspects mycologiques et épidémiologiques des teignes du cuir chevelu dans la

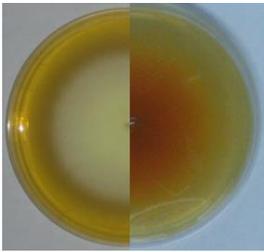
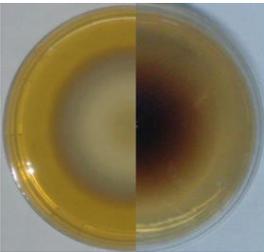
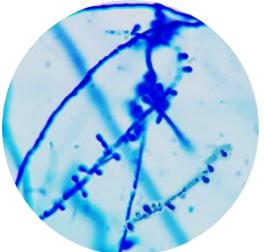
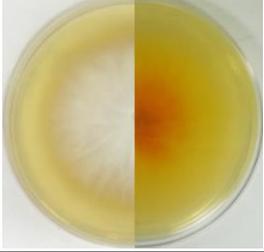
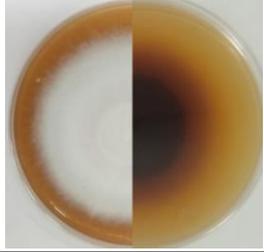
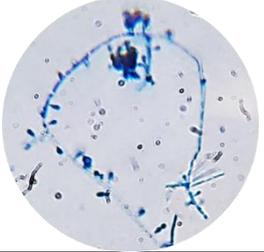
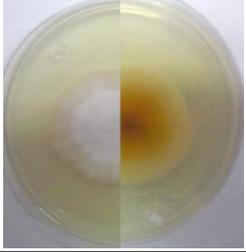
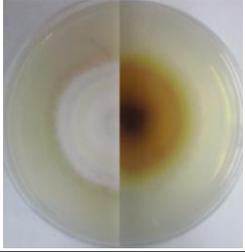
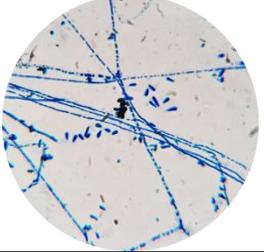
- région de Sousse (Tunisie) [Mycological and epidemiological aspects of tinea capitis in the Sousse region of Tunisia]. *Ann Dermatol Venereol*. 2011; 138 (8-9): 557-563. DOI:10.1016/j.annder.2011.02.027.
91. Samson RA, Peterson SW, Frisvad JC, Varga J. New species in *Aspergillus* section *Terrei*. *Studies in Mycology*. 2011; 69; 39-55. DOI:10.3114/sim.2011.69.04.
92. Samon RA, Varga J, Meijer, Frisvad JC. New taxa in *Aspergillus* section *Usti*. *Studies in Mycology*. 2011a; 69: 81-97. DOI:10.3114/sim.2011.69.06.
93. Serra R, Peterson SW. *Penicillium astrolabium* and *Penicillium neocrassum*, two new species isolated from grapes and their phylogenetic placement in the *P. olsonii* and *P. brevicompactum* clade. *Mycologia*. 2007; 99 (1): 78-87. DOI:10.3852/mycologia.99.1.78.
94. Symoens F, Jousson O, Planard C, Fratti M, Staib P, Mignon B, Monod M. Molecular analysis and mating behaviour of the *Trichophyton mentagrophytes* species complex. *Int J Med Microbiol*. 2011; 301 (3): 260-6. DOI:10.1016/j.ijmm.2010.06.001.
95. Soltis PS, Soltis DE. Applying the Bootstrap in Phylogeny Reconstruction. *Statist Sci*- 2003; 18 (2): 256-267. DOI: 10.1214/ss/1063994980.
96. Spiewak R, Szostak W. Zoophilic and geophilic dermatophytoses among farmers and non-farmers in Eastern Poland. *Ann Agric Environ Med*. 2000; 7 (2): 125-129.
97. Takashio M. The *Trichophyton mentagrophytes* complex. In *Recent advances in medical and veterinary mycology* (Iwata K ed). University of Tokyo Press, Tokyo, Japan 1977; 271-276.
98. Uijthof JMJ, van Belkum A, de Hoog GS, Haase G. *Exophiala dermatitidis* and *Sarcinomyces phaeomuriformis*: ITS1-sequencing and nutritional physiology. *Med Mycol*. 1998; 36 (3): 143–151.
99. Varga J, Kocsubé S, Tóth B, Frisvad JC, Perrone G, Susca A, Meijer M, Samson RA. *Aspergillus brasiliensis* sp. nov., a biseriate black *Aspergillus* species with world-wide distribution. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2007; 57 (8): 1925-1932. DOI:10.1099/ijms.0.65021-0.

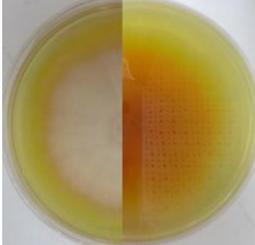
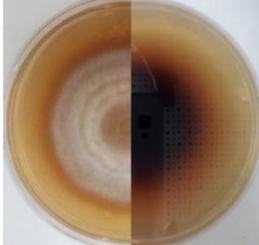
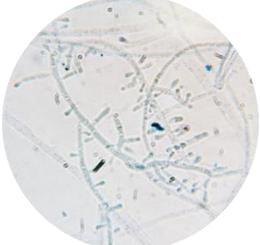
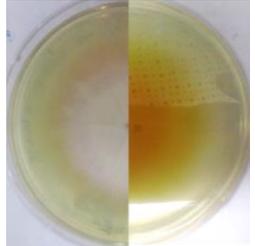
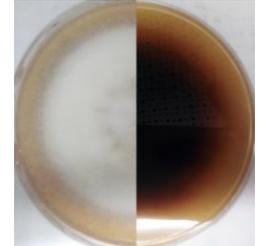
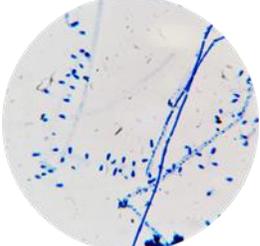
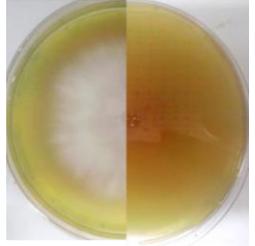
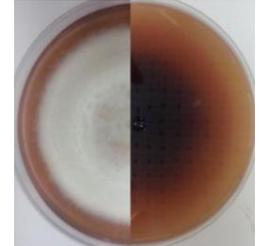
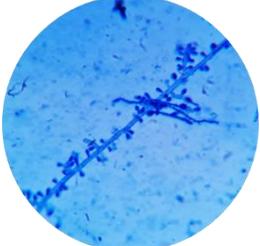
100. Vena GA, Chieco P, Posa F, Garofalo A, Bosco A, Cassano N. Epidemiology of dermatophytoses: retrospective analysis from 2005 to 2010 and comparison with previous data from 1975. *New Microbiol.* 2012; 35 (2): 207–213.
101. Wang C, Zengzhi I, Typas MA, Butt TM. Nuclear large subunit rDNA group I intron distribution in a population of *Beauveria bassiana* strains: phylogenetic implication. *Mycological Research.* 2002; 107 (10): 1189-1200. DOI:10.1017/s0953756203008505.
102. Wedde M, Müller D, Tintelnot K, de Hoog GS, Stahl U. PCR-based identification of clinically relevant *Pseudallescheria/Scedosporium* strains. *Med Mycol.* 1998; 36 (2): 61–67.
103. Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. *Clin Microbiol Rev.* 1995; 8 (2): 240-259. DOI:10.1128/cmr.8.2.240.
104. Welsh O, Welsh E, Ocampo-Candiani J, Gomez M, Vera-Cabrera L. Dermatophytoses in monterrey, méxico. *Mycoses.* 2006; 49 (2):119-123. DOI:10.1111/j.1439-0507.2006.01199.x.
105. White TJ, Bruns T, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA (ed), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications.* London: AcademicPress. 1990; 315-322. DOI:10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1.
106. Williams RH, Ward E, McCartney HA. Methods for integrated air sampling and DNA analysis for the detection of airborne fungal spores. *Appl Environ Microbiol.* 2001; 67 (6): 2453-2459. DOI:10.1128/AEM.67.6.2453-2459.2001.

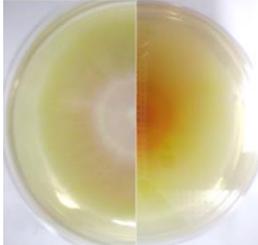
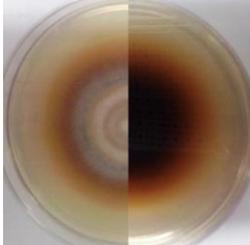
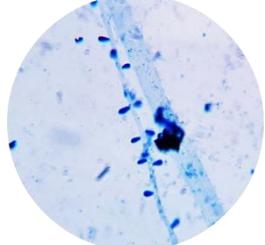
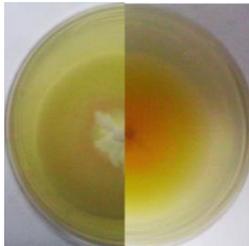
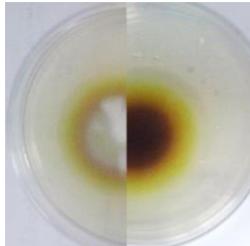
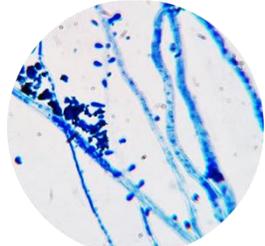
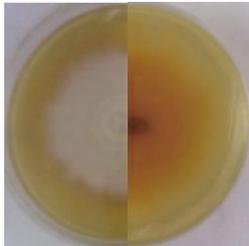
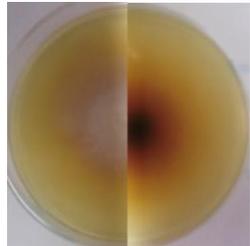
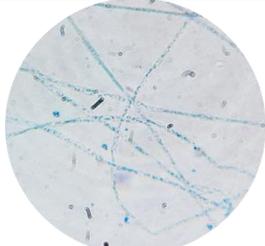
ANEXO 1

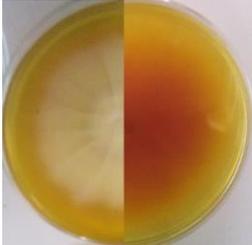
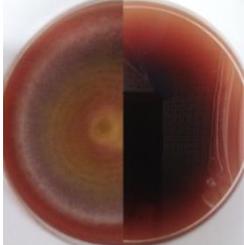
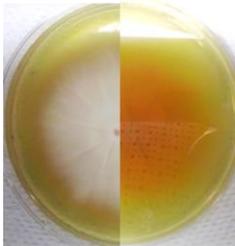
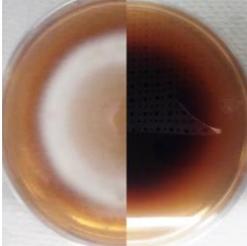
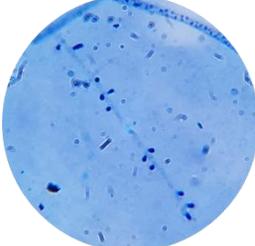
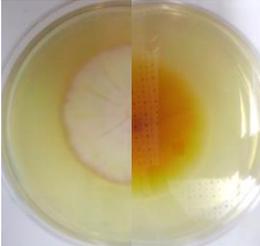
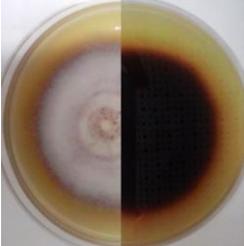
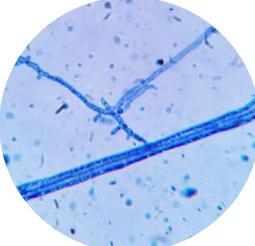
DESCRIPCIÓN MORFOLOGÍA

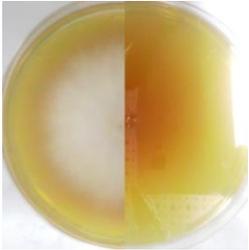
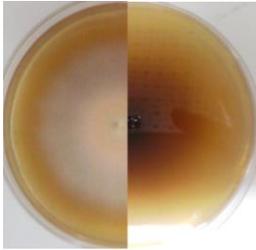
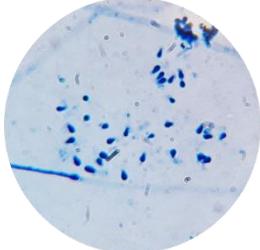
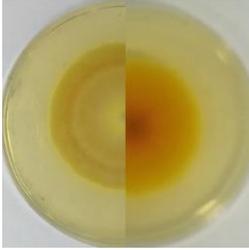
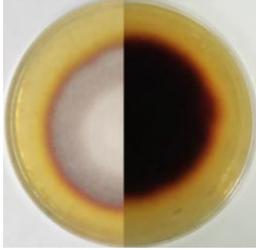
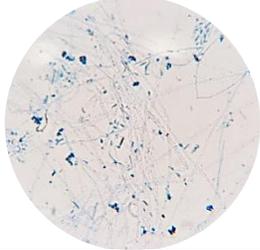
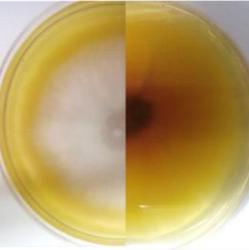
Aislado	Agar Sabouraud con Cicloheximida y Cloranfenicol	Agar papa dextrosa	Micromorfología
<i>Trichophyton rubrum</i>			
CR10			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: producción de pigmento amarillo pálido, no difusible al medio.	Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido. Reverso: producción de pigmento rojo-café, no difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio cenocítico y estéril; ausencia de conidios.
DO19			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco, parte del crecimiento dentro del medio. Reverso: ligera producción de pigmento café claro, no difusible al medio.	Desarrollo de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios piriformes y redondos; libres y dispuestos alternadamente a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 4.5 x 2.3 μ m
DO23			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y	Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios

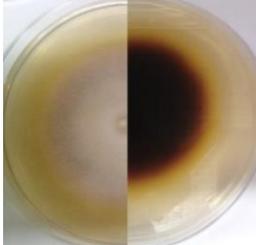
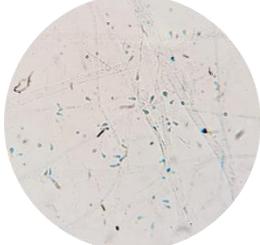
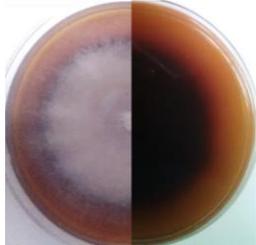
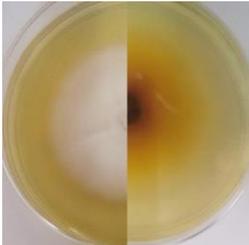
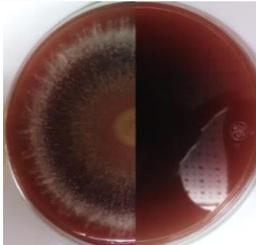
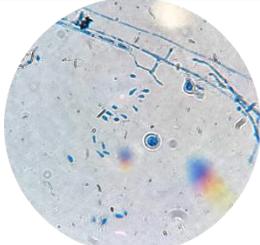
	regular, de color blanco, centro umbilicado. Reverso: pigmentación ausente.	limitado y regular, de color blanco. Reverso: producción de pigmento rojo-café, no difusible al medio.	piriformes; libres y dispuestos alternadamente a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.6 x 1.9 μ m.
GT25			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color amarillo pálido. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.	Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color amarillo pálido con ligero tono rosa. Reverso: producción de pigmento café, no difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia de microconidios piriformes dispuestos alternadamente a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.8 x 1.3 μ m.
HN05			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.	Anverso: superficie algodonosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco con ligero tono rosa. Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia microconidios piriformes dispuestos a lo largo del micelio; en menor proporción situados en forma de "cruz de Lorena". Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.5 x 1.2 μ m
MX45			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco.	Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia de microconidios piriformes; libres y a lo largo del micelio.

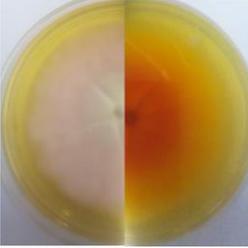
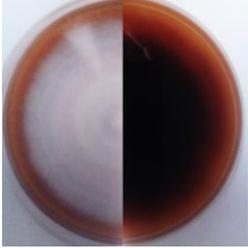
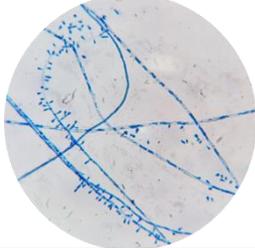
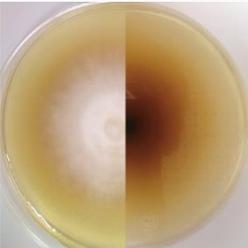
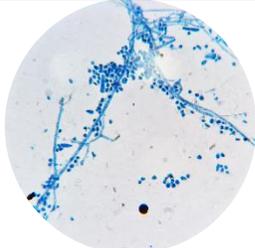
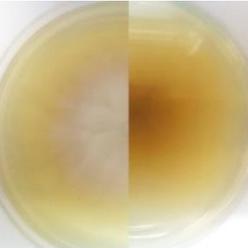
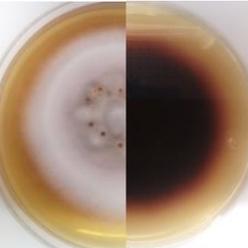
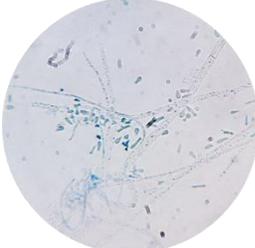
	Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.	Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.	Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.8 x 1.7 μ m.
MX47			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio.	Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color amarillo pálido. Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia de microconidios piriformes; dispuestos a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.8 x 1.9 μ m.
MX48			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento crateriforme, borde limitado y regular, de color amarillo pálido. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.	Anverso: superficie algodonosa, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco con ligero tono rosa. Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios piriformes; libres y en menor proporción dispuestos alternadamente a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.6 x 1.8 μ m.
MX51			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio.	Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco con ligero tono rosa, producción de metabolitos al centro.	Desarrollo escaso de micelio tabicado. Escasa presencia de microconidios piriformes; dispuestos paralelamente a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.5 x 1.7 μ m.

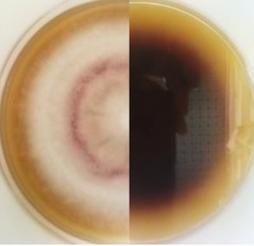
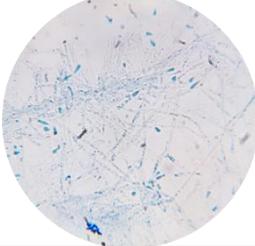
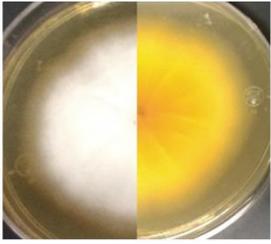
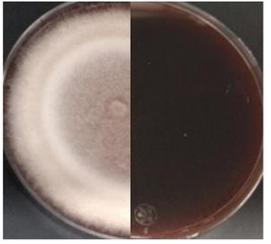
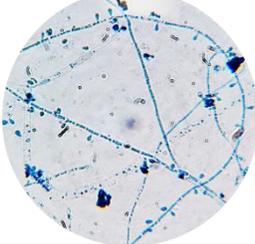
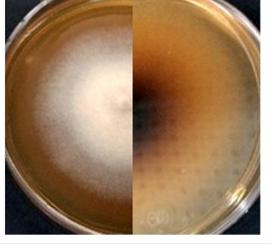
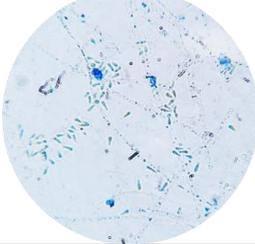
		Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.	
MX52			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco, parte del crecimiento dentro del medio. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.	Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color amarillo pálido con ligero tono rosa. Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio cenocítico. Escasa presencia de microconidios piriformes; libres y dispuestos paralelamente a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.5 x 1.7 μ m.
MX53			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco, parte del crecimiento dentro del medio, centro crateriforme. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.	Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido. Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia de microconidios piriformes; dispuestos paralelamente a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.9 x 2.0 μ m.
MX56			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco.	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco, parte del crecimiento dentro del medio.	Desarrollo abundante de micelio cenocítico y estéril; ausencia de conidios.

	Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.	Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.	
MX58			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color amarillo pálido. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio.	Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de colores rosa claro, verde y amarillo pálido. Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios piriformes; libres y dispuestos paralelamente a lo largo del micelio; en menor proporción situados en forma de “cruz de Lorena”. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.7 x 1.4 μ m.
MX59			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color amarillo pálido. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.	Anverso: superficie algodonosa, con crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco, centro vellosa, de color amarillo pálido. Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio	Desarrollo abundante de micelio cenocítico. Escasa presencia de microconidios piriformes; dispuestos a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.4 x 1.7 μ m.
MX63			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color amarillo pálido.	Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco con ligero tono rosa, centro	Desarrollo abundante de micelio cenocítico. Escasa presencia de microconidios piriformes; dispuestos a lo largo del micelio.

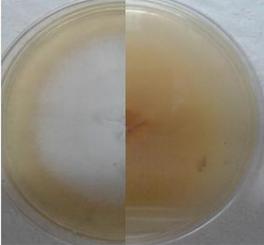
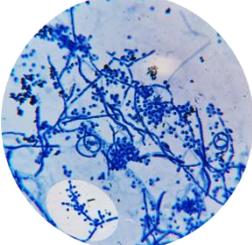
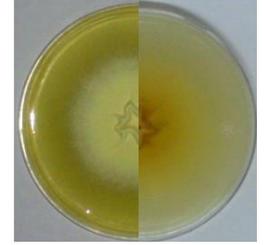
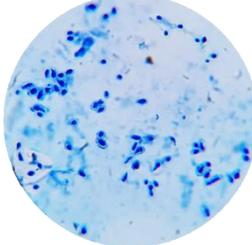
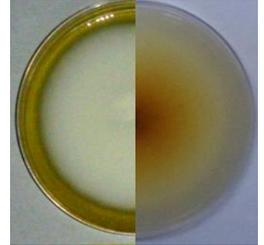
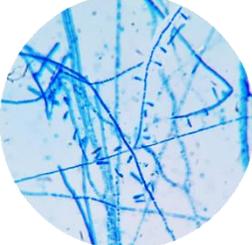
	Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio.	umbilicado, producción de metabolitos. Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.	Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.5 x 1.5 μ m.
MX66			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio.	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color rosa claro. Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio cenocítico. Escasa presencia de microconidios piriformes; libres y dispuestos a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.7 x 1.6 μ m.
MX70			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color amarillo pálido, parte del crecimiento dentro del medio. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco con ligero tono rosa. Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio cenocítico. Presencia de numerosos microconidios piriformes libres; en menor proporción dispuestos a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.5 x 1.5 μ m.
MX73			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco.	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color rosa claro.	Desarrollo abundante de micelio cenocítico. Presencia de numerosos microconidios piriformes; libres y dispuestos a lo largo del micelio.

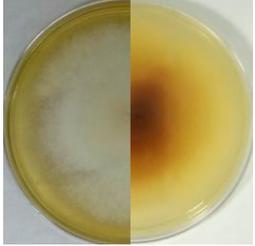
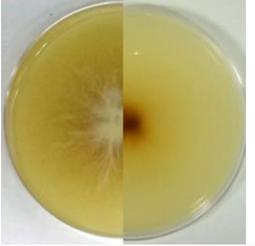
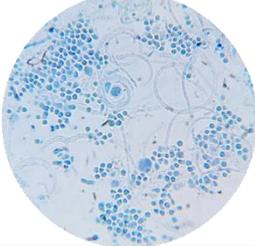
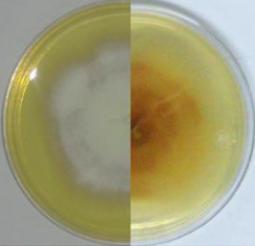
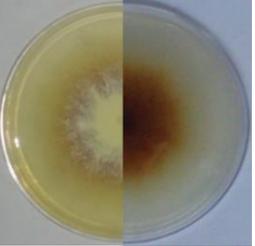
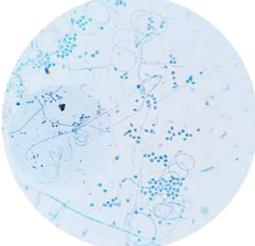
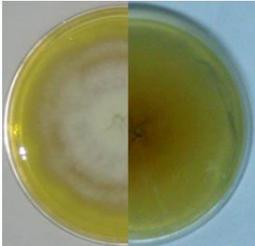
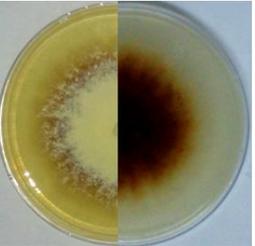
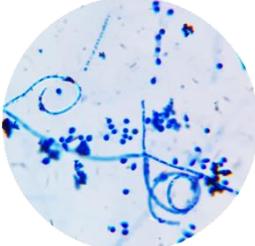
	Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.	Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.	Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.7 x 1.4 μ m.
MX74			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco con ligero tono rosa. Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio cenocítico. Presencia de numerosos microconidios piriformes dispuestos a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.0 x 1.6 μ m.
MX78			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color rosa claro. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio	Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color rosa claro. Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio cenocítico. Presencia de numerosos microconidios piriformes dispuestos a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.7 x 1.6 μ m.
MX87			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.	Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de colores rosa claro, verde y amarillo pálido. Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios piriformes; libres y dispuestos a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 4.0 x 2.0 μ m.

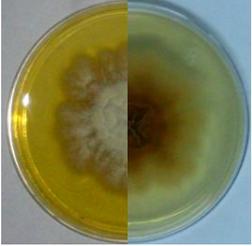
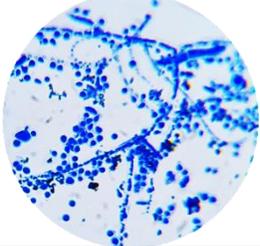
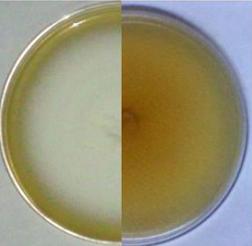
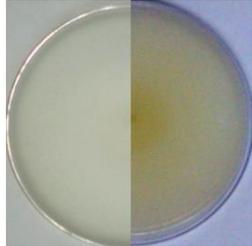
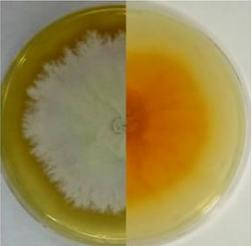
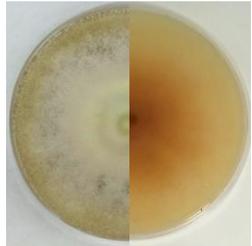
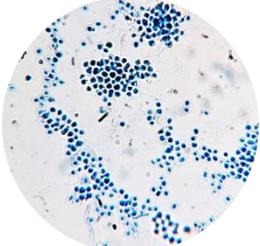
MX89			
Descripción	<p>Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color amarillo pálido con ligero tono rosa.</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco con ligero tono rosa.</p> <p>Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio cenocítico. Presencia de abundantes microconidios piriformes; libres y dispuestos alternadamente a lo largo del micelio.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.6 x 1.7μm.</p>
MX91			
Descripción	<p>Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color amarillo pálido.</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo de micelio cenocítico. Presencia de numerosos microconidios redondos; en menor proporción piriformes; libres.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.1 x 1.7μm.</p>
MX94			
Descripción	<p>Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco con ligero tono rosa, centro umbilicado, producción de metabolitos.</p> <p>Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo de micelio cenocítico. Presencia de microconidios piriformes; libres y dispuestos a lo largo del micelio.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.9 x 1.6μm.</p>

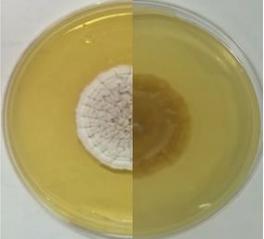
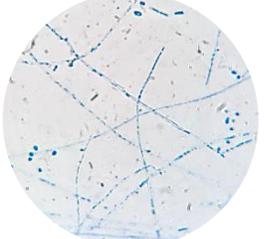
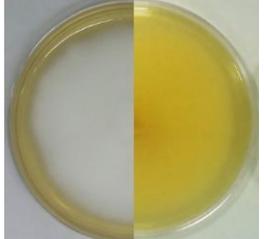
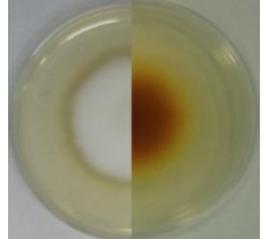
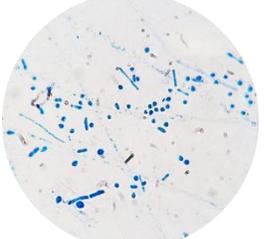
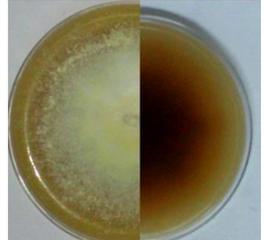
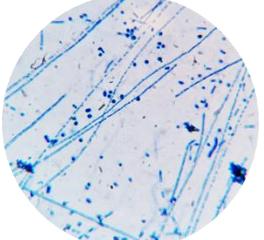
MX100			
Descripción	<p>Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color amarillo pálido, parte del crecimiento dentro del medio, presencia de formación algodonosa.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo.</p>	<p>Anverso: superficie algodonosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco con ligero tono rosa, centro crateriforme, producción de metabolitos.</p> <p>Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios piriformes; libres y dispuestos a lo largo del micelio.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 4.0 x 1.8μm.</p>
MX122			
Descripción	<p>Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco con ligero tono rosa, producción de metabolitos al centro.</p> <p>Reverso: producción de pigmento rojo-vino, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo de micelio cenocítico. Escasa presencia de microconidios piriformes dispuestos a lo largo del micelio.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.2 x 2.0μm.</p>
MX127			
Descripción	<p>Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco con ligero tono rosa.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante micelio cenocítico. Presencia de abundantes microconidios piriformes; libres y dispuestos a lo largo del micelio.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.1 x 1.7μm.</p>

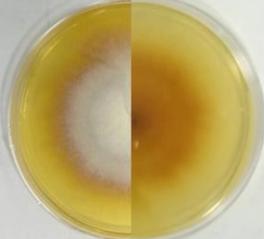
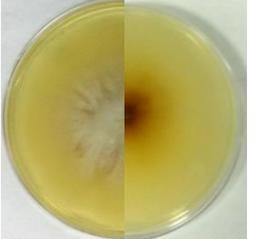
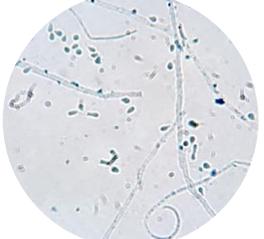
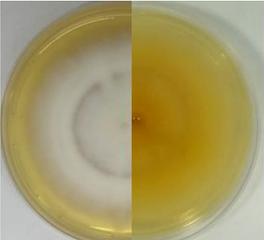
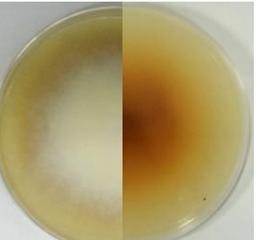
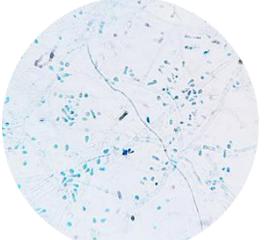
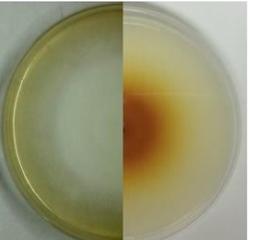
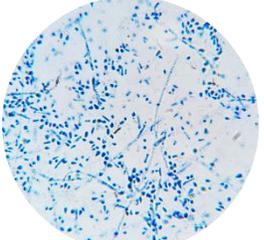
Trichophyton mentagrophytes

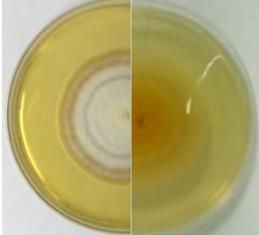
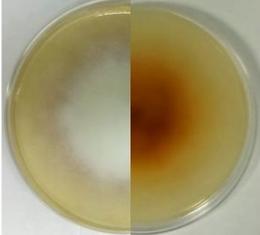
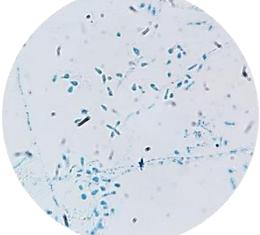
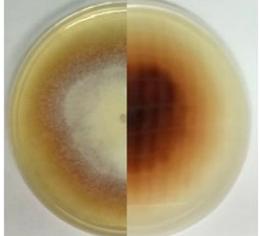
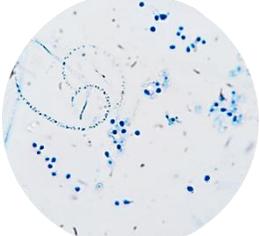
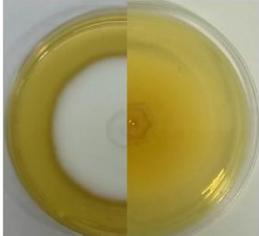
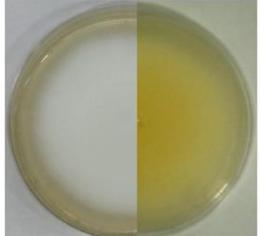
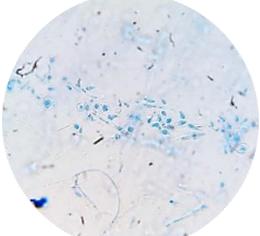
DO28			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: producción de pigmento café, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: pigmentación ausente.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado; con formación de zarcillos. Presencia de numerosos microconidios redondos libres; en menor proporción piriformes dispuestos a lo largo del micelio o en forma de “cruz de Lorena”. Tamaño microconidios (\bar{x}): 1.9 x 1.5μm.</p>
GT07			
Descripción	<p>Anverso: superficie vellosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color amarillo a blanco, centro crateriforme. Reverso: producción de pigmento naranja, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color amarillo pálido, formación de pliegues al centro. Reverso: producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo escaso de micelio cenocítico. Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes libres. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.0 x 2.3μm.</p>
GT08			
Descripción	<p>Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco, centro crateriforme. Reverso: ligera producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia de microconidios piriformes dispuestos a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.0 x 1.6μm.</p>

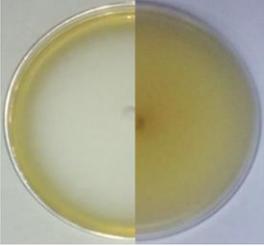
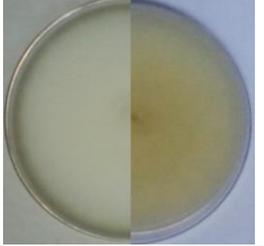
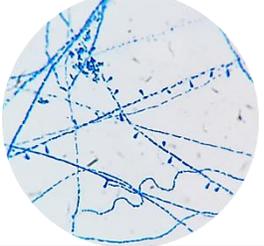
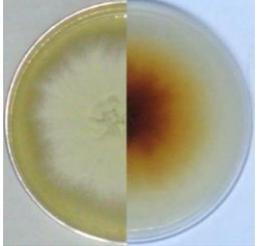
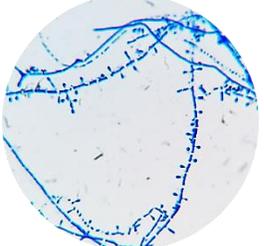
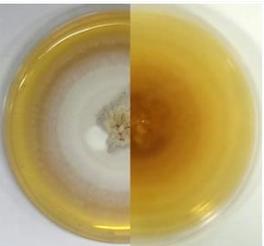
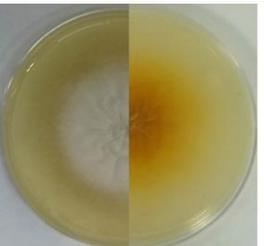
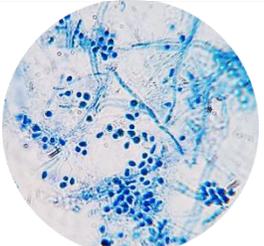
GT09			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde irregular, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie aterciopelada, borde limitado e irregular, de color blanco, crecimiento dentro del medio.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado; con formación de zarcillos.</p> <p>Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes libres.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.0 x 2.4μm.</p>
GT16			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento café claro, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color amarillo pálido.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-rojizo, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado; con formación de zarcillos.</p> <p>Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes libres.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.9 x 2.3μm.</p>
GT18			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café claro, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color amarillo pálido.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-rojizo, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado; con formación de zarcillos.</p> <p>Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes; libres y dispuestos a lo largo del micelio.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.2 x 1.7μm.</p>

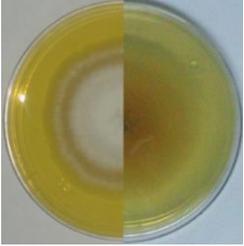
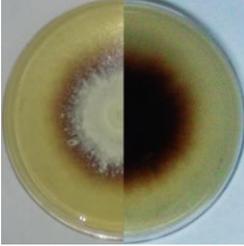
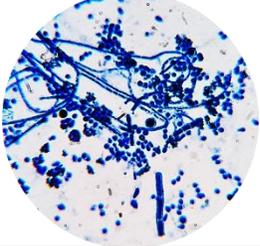
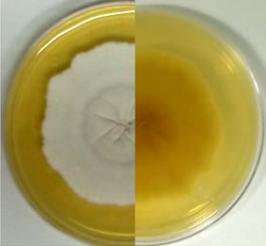
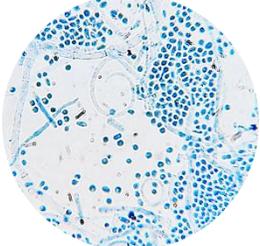
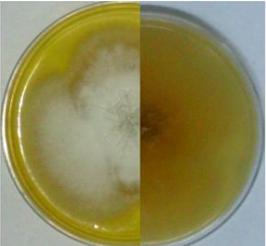
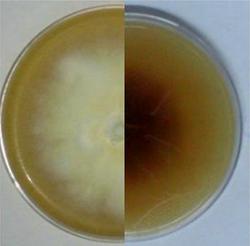
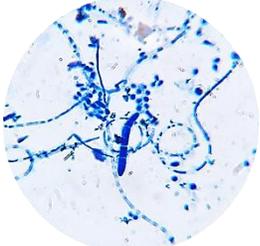
GT22			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color blanco, formación de pliegues al centro.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café claro, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color amarillo pálido, centro crateriforme.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-rojizo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio cenocítico. Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes libres; escasa presencia de macroconidios en forma de puro, de paredes lisas con 2 a 3 lóculos.</p> <p>Tamaño (\bar{x}):</p> <p>Microconidios: 3.1 x 2.3μm.</p> <p>Macroconidios: 17.8 x 3.4μm.</p>
GT29			
Descripción	<p>Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco, ligera formación de pliegues al centro.</p> <p>Reverso: pigmentación ausente.</p>	<p>Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio cenocítico. Presencia de numerosos microconidios piriformes; dispuestos alternadamente a lo largo del micelio.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}):</p> <p>2.9 x 1.9μm.</p>
GT30			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color amarillo pálido a blanco, centro crateriforme.</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color amarillo pálido a blanco, centro umbilicado.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café claro, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo escaso de micelio cenocítico. Presencia de numerosos microconidios libres; redondos y en menor proporción piriformes.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}):</p> <p>2.9 x 2.8μm.</p>

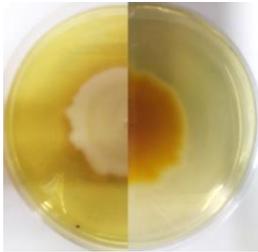
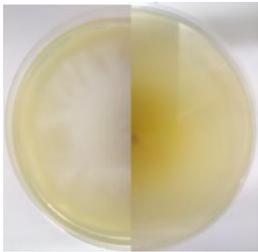
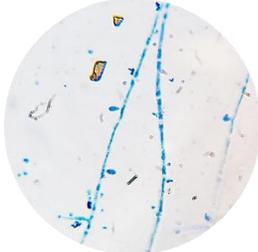
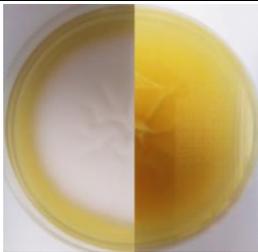
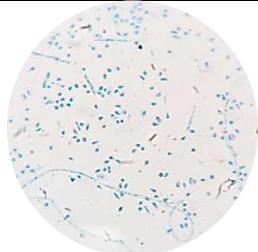
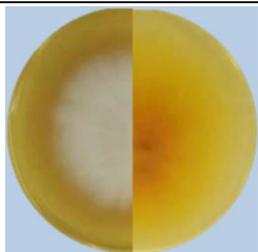
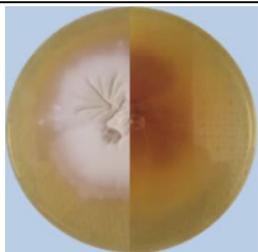
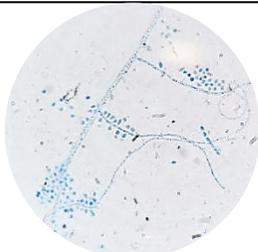
GT39			
Descripción	<p>Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento cerebriforme, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: pigmentación ausente.</p>	<p>Anverso: superficie flocosa (peluda), borde limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido, centro umbilicado.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-rojizo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios libres; redondos y en menor proporción piriformes.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.6 x 2.3μm.</p>
GT40			
Descripción	<p>Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: pigmentación ausente.</p>	<p>Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes libres; escasa presencia de macroconidios en forma de puro, de paredes lisas con 2 a 5 lóculos.</p> <p>Tamaño (\bar{x}):</p> <p>Microconidios: 2.5 x 2.2μm.</p> <p>Macroconidios: 28.4 x 4.3μm.</p>
GT41			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color amarillo pálido.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-rojizo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios libres; redondos y piriformes.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.3 x 2.1μm.</p>

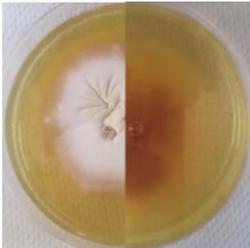
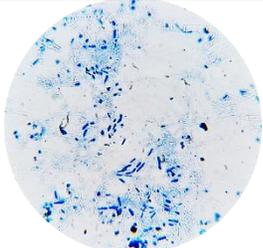
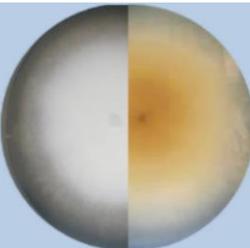
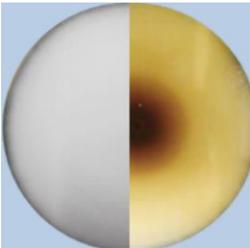
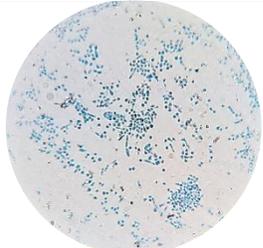
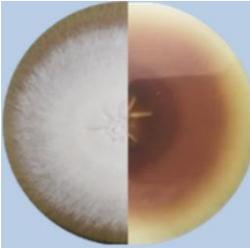
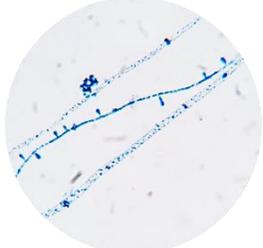
GT42			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie aterciopelada, borde limitado e irregular, de color blanco, parte del crecimiento dentro del medio.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado; con formación de zarcillos.</p> <p>Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes; libres y dispuestos a lo largo del micelio.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.6 x 2.3μm.</p>
GT43			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado; con formación de zarcillos.</p> <p>Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes; libres y dispuestos a lo largo del micelio.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.3 x 2.0μm.</p>
GT45			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: pigmentación ausente.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido.</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo escaso de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes libres.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.9 x 2.1μm.</p>

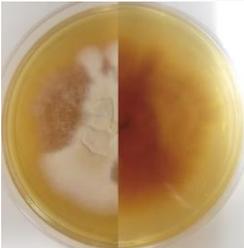
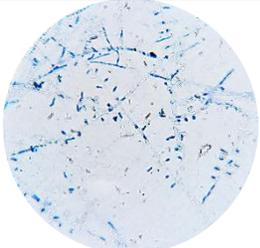
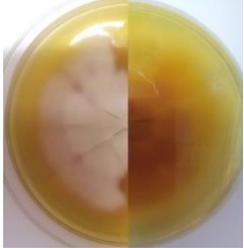
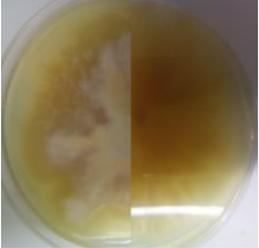
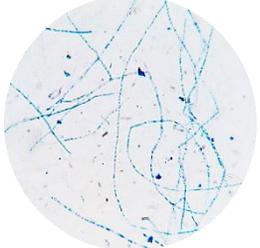
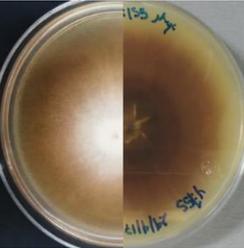
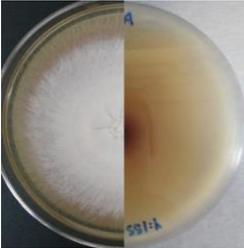
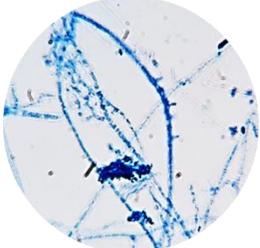
GT51			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo escaso de micelio cenocítico. Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes libres.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.3 x 1.7μm.</p>
GT54			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado e irregular, de color blanco.</p> <p>Reverso: pigmentación ausente.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-rojizo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo de micelio tabicado; con formación de zarcillos. Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes libres.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.5 x 2.5μm.</p>
GT57			
Descripción	<p>Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco, centro umbilicado.</p> <p>Reverso: pigmentación ausente.</p>	<p>Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo escaso de micelio tabicado; con formación de zarcillos. Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes libres.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.5 x 2.0μm.</p>

GT58			
Descripción	Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: pigmentación ausente.	Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: pigmentación ausente.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios redondos libres y piriformes dispuestos a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.0 x 1.6 μ m.
GT59			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, borde limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido, centro ligeramente crateriforme. Reverso: pigmentación ausente	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color amarillo pálido, centro crateriforme. Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios piriformes, dispuestos a lo largo del micelio y en menor proporción formando una "cruz de Lorena". Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.4 x 1.1 μ m.
GT62			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco, centro cerebriforme, presencia de formación algodonosa. Reverso: ligera producción de pigmento café claro, no difusible al medio.	Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: producción de amarillo-naranja, no difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios libres; redondos y en menor proporción piriformes. Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.5 x 2.2 μ m.

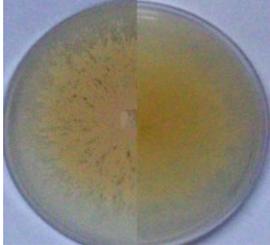
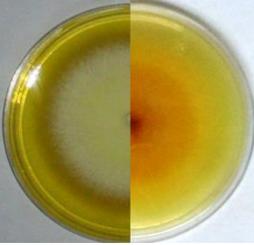
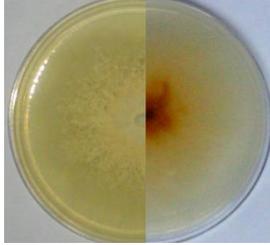
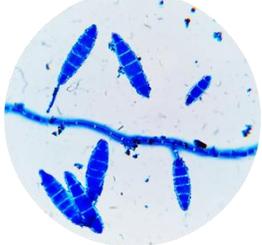
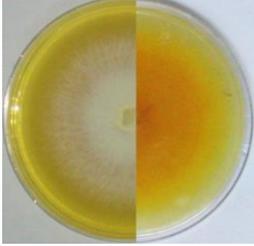
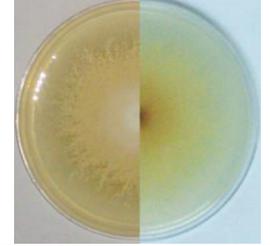
GT63			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: pigmentación ausente</p>	<p>Anverso superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado e irregular, de color amarillo pálido.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-rojizo, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo de micelio tabicado; con formación de zarcillos. Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes libres; escasa presencia de macroconidios en forma de puro, de paredes lisas con 2 a 3 lóculos.</p> <p>Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 2.6 x 1.9μm. Macroconidios: 14.0 x 2.6μm.</p>
GT65			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado e irregular, de color blanco, centro crateriforme.</p> <p>Reverso: pigmentación ausente.</p>	<p>Anverso: superficie flocosa (peluda), borde limitado y regular, de color blanco, centro umbilicado, presencia de formaciones algodonosas.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-rojizo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado; con formación de zarcillos. Presencia de numerosos microconidios piriformes libres.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.7 x 2.3μm.</p>
HN02			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular de, color blanco, centro cerebriforme.</p> <p>Reverso: pigmentación ausente.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color amarillo pálido, presencia de formaciones algodonosas.</p>	<p>Desarrollo de micelio cenocítico; con formación de zarcillos. Presencia de numerosos microconidios redondos libres; escasa presencia de macroconidios</p>

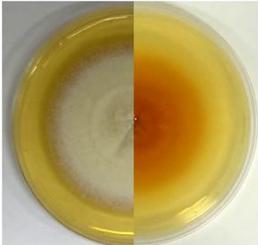
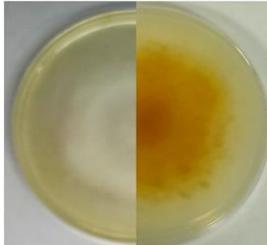
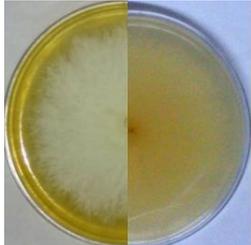
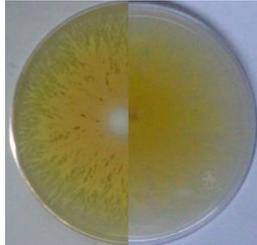
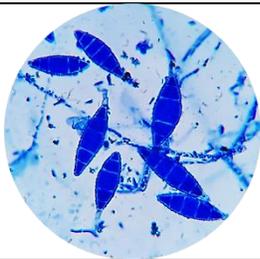
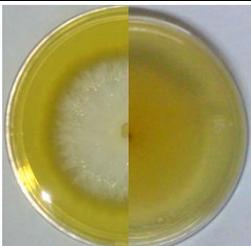
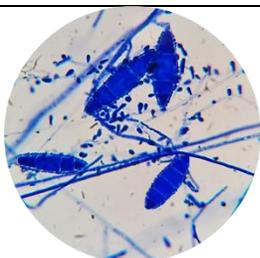
		Reverso: producción de pigmento de color café-rojizo, no difusible al medio.	en forma de puro, de paredes lisas con 2 a 3 lóculos. Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 2.5 x 2.0 μ m. Macroconidios: 17.9 x 3.8 μ m.
MX69			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de amarillo pálido a blanco. Reverso: producción de pigmento naranja, no difusible al medio	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: ligera producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia de microconidios piriformes, dispuestos a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.1 x 1.1 μ m.
MX79			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: ligera producción de pigmento naranja, no difusible al medio.	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color amarillo pálido Reverso: producción de pigmento café, no difusible al medio.	Desarrollo de micelio cenocítico. Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes; libres y dispuestos a lo largo del micelio; escasa presencia de macroconidios en forma de puro, de paredes lisas con 2 lóculos. Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 5.5 x 4.3 μ m. Macroconidios: 14.9 x 2.2 μ m.
MX83			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, ligero	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y	Desarrollo de micelio cenocítico; con formación de

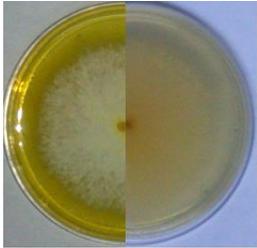
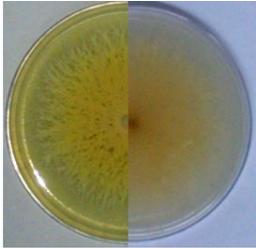
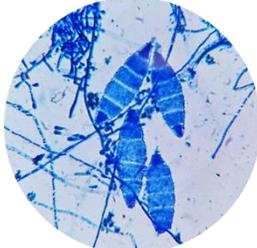
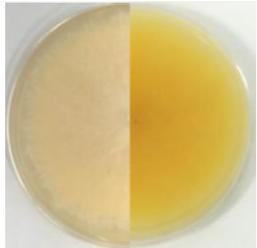
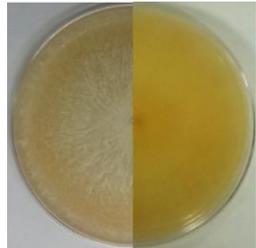
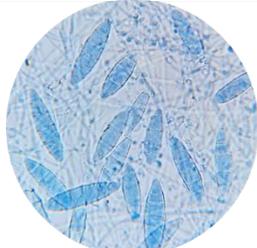
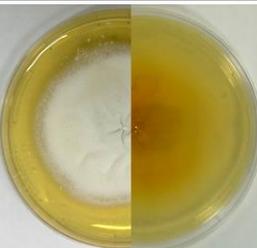
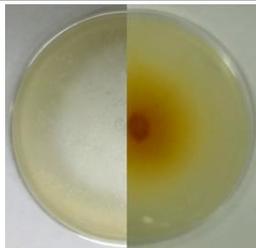
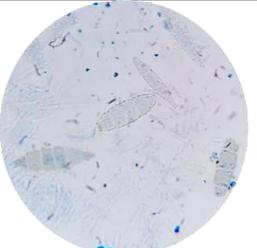
	<p>crecimiento crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento naranja, no difusible al medio.</p>	<p>regular, de color blanco, centro crateriforme.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café, no difusible al medio.</p>	<p>zarcillos. Presencia de numerosos microconidios libres; redondos y piriformes.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 2.8 x 2.1μm.</p>
<i>Trichophyton tonsurans</i>			
MX55			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color amarillo pálido a blanco, crecimiento crateriforme.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento café, no difusible al medio</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color blanco, formación de pliegues y centro umbilicado.</p> <p>Reverso: pigmentación ausente.</p>	<p>Desarrollo de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios libres; piriformes y en menor proporción redondos.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.9 x 2.1μm.</p>
MX81			
Descripción	<p>Anverso: superficie aterciopelada, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento café y amarillo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo escaso de micelio cenocítico. Presencia de numerosos microconidios libres; redondos y piriformes.</p> <p>Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.5 x 1.9μm.</p>
MX82			
Descripción	<p>Anverso: superficie aterciopelada, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento café, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco, presencia de flequillos, centro crateriforme.</p>	<p>Desarrollo de micelio cenocítico. Presencia de microconidios redondos y piriformes; dispuestos a lo largo del micelio.</p>

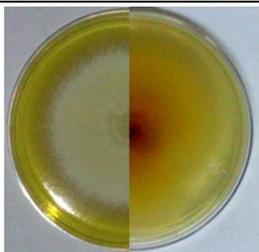
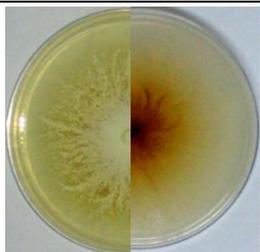
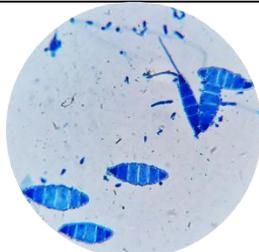
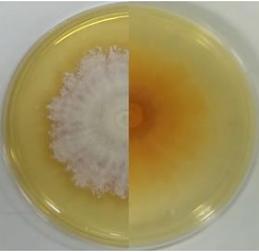
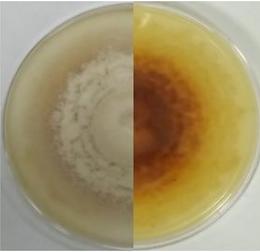
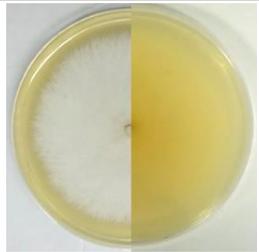
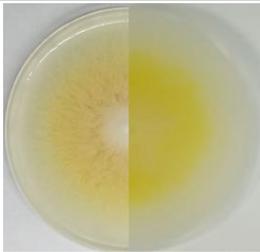
		Reverso: producción de pigmento café oscuro	Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.6 x 2.2 μ m.
MX85			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color amarillo pálido a blanco, parte del crecimiento dentro del medio, centro crateriforme. Reverso: ligera producción de pigmento café, no difusible al medio.	Anverso: superficie pulverulenta, borde irregular, de color amarillo y blanco, parte del crecimiento dentro del medio. Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.	Desarrollo de micelio tabicado. Presencia de numerosos microconidios redondos y piriformes; libres y dispuestos a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.7 x 1.8 μ m.
MX86			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado e irregular, de color blanco. Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color amarillo y blanco, parte del crecimiento dentro del medio. Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio cenocítico y estéril; ausencia de conidios.
MX102			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado, y regular, de color blanco. Reverso: producción de pigmento café, difusible al medio.	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color blanco, presencia de "fleclos". Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.	Desarrollo de micelio cenocítico. Escasa presencia de microconidios piriformes dispuestos a lo largo del micelio. Tamaño microconidios (\bar{x}): 3.8 x 1.8 μ m.

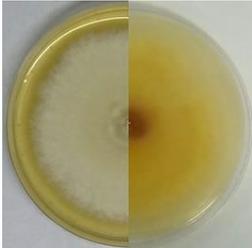
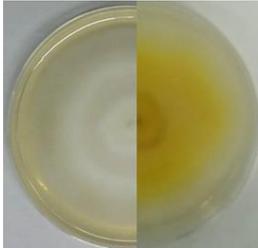
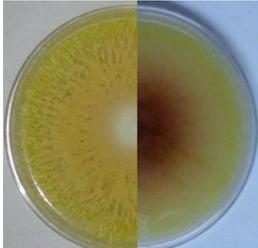
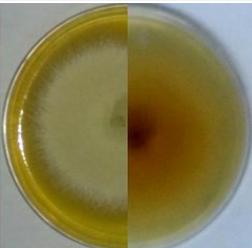
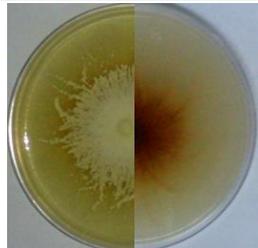
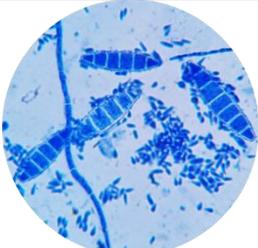
Microsporium gypseum

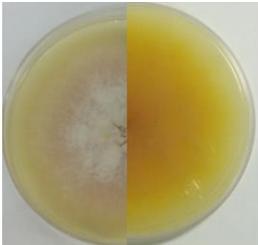
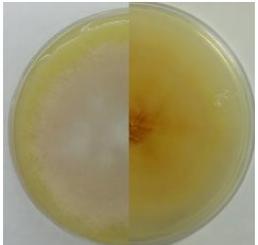
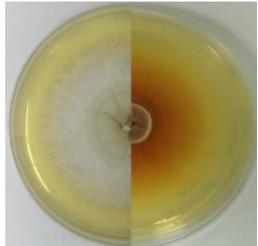
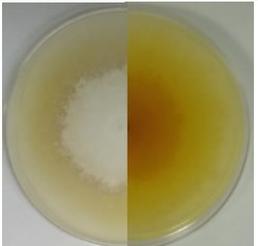
<p>GT02</p>			
<p>Descripción</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color amarillo pálido a blanco, presencia de “flecós”.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color ante-canela, presencia de ramificaciones.</p> <p>Reverso: pigmentación ausente.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia de macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 4 a 6 lóculos; escasa presencia de microconidios piriformes.</p> <p>Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 4.5 x 1.9μm. Macroconidios: 42.4 x 15.1μm.</p>
<p>GT03</p>			
<p>Descripción</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color amarillo pálido a blanco, presencia de “flecós”.</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color ante-canela.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 5 a 6 lóculos.</p> <p>Tamaño macroconidios (\bar{x}): 42.4 x 10.8μm.</p>
<p>GT04</p>			
<p>Descripción</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco, presencia de “flecós”.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde irregular, de color ante-canela, presencia de ramificaciones, centro algodonoso, de color blanco.</p>	<p>Desarrollo de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 4 a 6 lóculos; presencia de abundantes microconidios piriformes.</p>

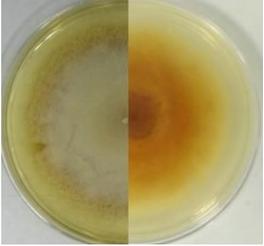
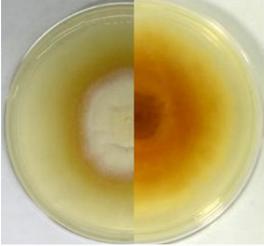
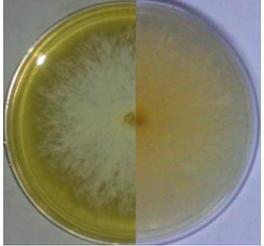
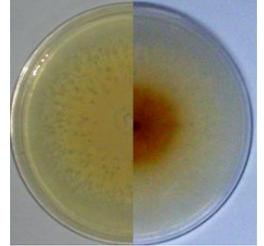
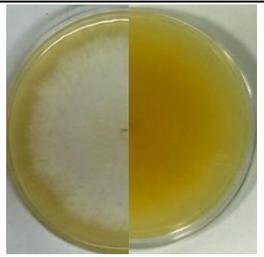
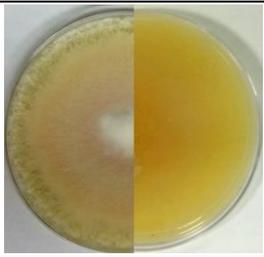
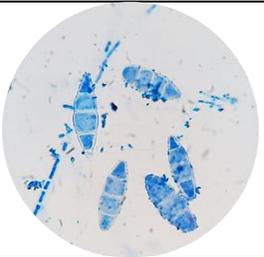
	Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio.	Reverso: ligera producción de pigmento café, no difusible al medio.	Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 4.8 x 1.8 μ m. Macroconidios: 42.6 x 9.0 μ m.
GT10			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido. Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.	Anverso: superficie algodonosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco, centro umbilicado. Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.	Desarrollo escaso de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 5 a 6 lóculos. Tamaño macroconidios (\bar{x}): 41.1 x 9.6 μ m.
GT11			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido, presencia de "flecós". Reverso: pigmentación ausente.	Anverso: superficie pulverulenta, borde irregular, de color ante-canela, presencia de ramificaciones, centro algodonoso, de color blanco. Reverso: pigmentación ausente.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia de macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 4 a 6 lóculos; presencia de microconidios piriformes. Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 4.2 x 1.6 μ m. Macroconidios: 43.3 x 15.2 μ m.
GT13			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido, presencia de "flecós".	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color ante-canela, presencia de ramificaciones, centro algodonoso, de color blanco.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 4 a 6 lóculos;

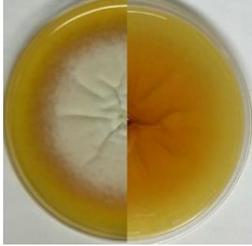
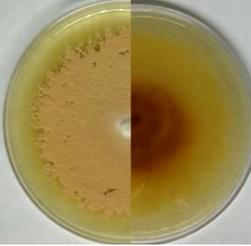
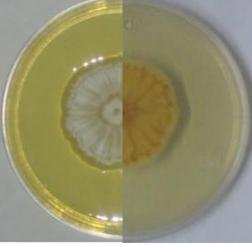
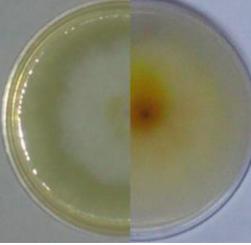
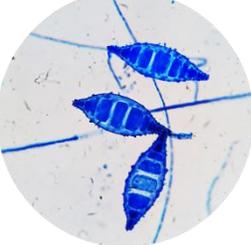
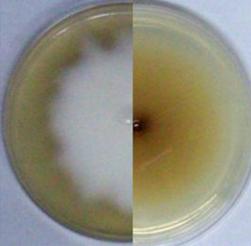
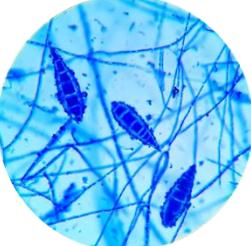
	Reverso: pigmentación ausente.	Reverso: pigmentación ausente.	presencia de microconidios piriformes. Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 5.8 x 2.3 μm . Macroconidios: 37.7 x 10.0 μm .
GT15			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color amarillo pálido a blanco, presencia de "flecós". Reverso: pigmentación ausente.	Anverso: superficie pulverulenta, borde irregular, de color ante-canela, presencia de ramificaciones. Reverso: pigmentación ausente.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 4 a 6 lóculos; escasa presencia de microconidios piriformes. Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 3.7 x 1.9 μm . Macroconidios: 43.9 x 16.0 μm .
GT17			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, borde regular, de color ante-canela. Reverso: ligera producción de pigmento amarillo, difusible al medio.	Anverso: superficie pulverulenta, borde irregular, de color blanco, presencia de ramificaciones. Reverso: pigmentación ausente.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 5 a 6 lóculos; escasa presencia de microconidios piriformes. Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 5.3 x 2.6 μm . Macroconidios: 44.8 x 11.1 μm .
GT24			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial y crateriforme, borde	Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco.	Desarrollo escaso de micelio tabicado. Presencia abundante de macroconidios

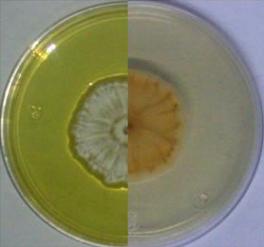
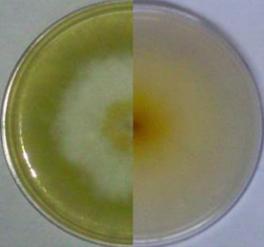
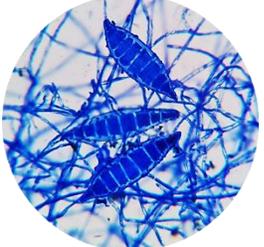
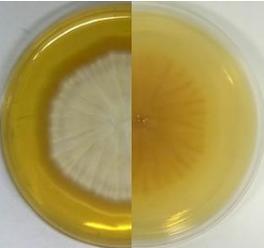
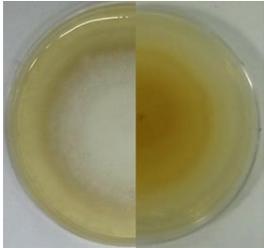
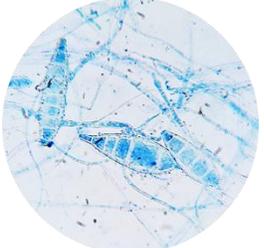
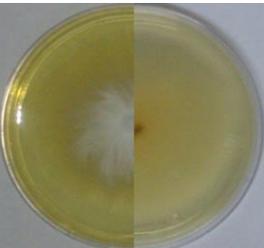
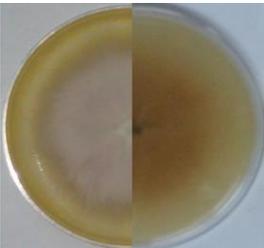
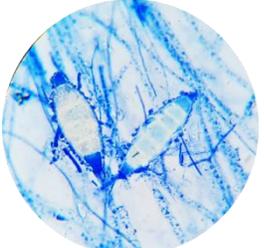
	limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido. Reverso: ligera producción pigmento café-amarilla, no difusible al medio.	Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio	fusiformes, de pared delgada; con 5 a 6 lóculos; presencia de abundantes microconidios piriformes. Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 4.1 x 1.9 μ m. Macroconidios: 38.8 x 9.1 μ m.
GT26			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color amarillo pálido a blanco, centro umbilicado. Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio.	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color ante-canela, presencia de ramificaciones, centro algodonoso, de color blanco. Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio, presencia de ramificaciones marrones.	Desarrollo escaso de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 5 a 6 lóculos; escasa presencia de microconidios piriformes. Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 3.6 x 1.6 μ m. Macroconidios: 39.8 x 10.0 μ m.
GT28			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado e irregular, de color blanco, centro umbilicado. Reverso: ligera producción de pigmento café claro, no difusible al medio.	Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado e irregular, de color ante-canela. Reverso: producción de pigmento café a amarillo, difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 5 a 6 lóculos. Tamaño macroconidios (\bar{x}): 47.1 x 9.6 μ m.
GT31			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e	Desarrollo escaso de micelio tabicado. Presencia de

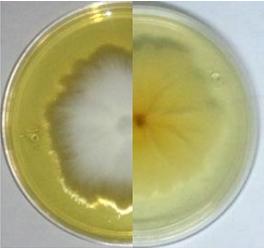
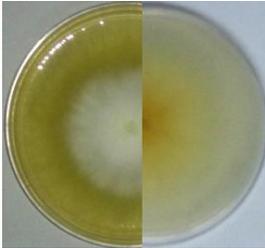
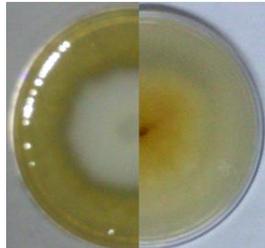
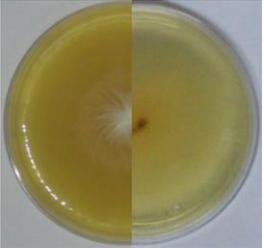
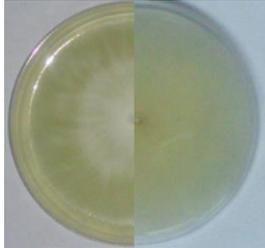
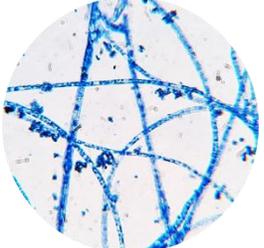
	regular, de color blanco, presencia de "flecros". Reverso: pigmentación ausente.	irregular, de color ante-canela, presencia de ramificaciones, centro algodonoso, de color blanco. Reverso: producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.	numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 3 a 6 lóculos; presencia de abundantes microconidios piriformes. Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 3.7 x 2.0 μ m. Macroconidios: 44.6 x 11.8 μ m.
GT33			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color amarillo pálido a blanco, presencia de "flecros", centro umbilicado. Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.	Anverso: superficie algodonosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.	Desarrollo de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 5 a 6 lóculos. Tamaño macroconidios (\bar{x}): 42.7 x 10.1 μ m.
GT48			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido, presencia de "flecros". Reverso: pigmentación ausente.	Anverso: superficie pulverulenta, borde irregular, de color ante-canela, presencia de ramificaciones, centro algodonoso, de color blanco. Reverso: producción de pigmento café-rojizo, no difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 4 a 6 lóculos; presencia de abundantes microconidios piriformes. Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 4.5 x 2.2 μ m. Macroconidios: 43.5 x 10.9 μ m.
GT49			

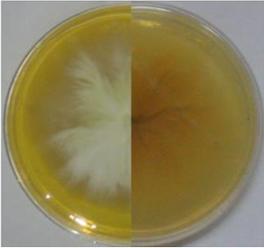
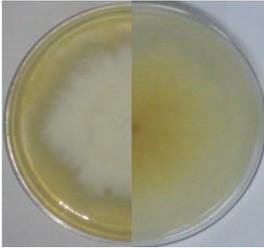
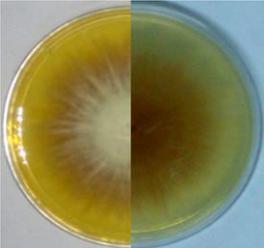
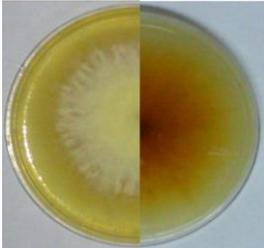
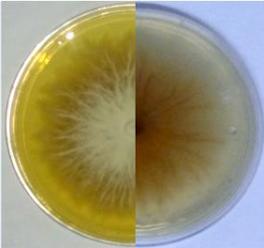
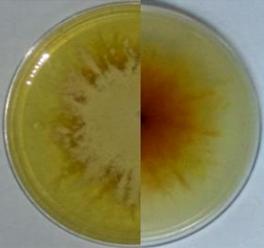
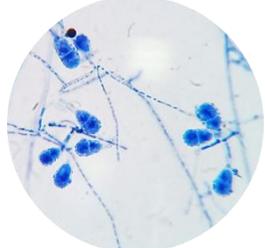
<p>Descripción</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color amarillo pálido a blanco, presencia de "flecas".</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color ante-canela, presencia de ramificaciones, centro algodonoso, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio, presencia de ramificaciones marrones.</p>	<p>Desarrollo escaso de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 4 a 6 lóculos; presencia de abundantes microconidios piriformes.</p> <p>Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 4.9 x 1.7μm. Macroconidios: 39.9 x 9.6μm.</p>
<p>GT52</p>			
<p>Descripción</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento naranja-amarilla, no difusible la medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco-ante, presencia de formaciones algodonosas, centro algodonoso, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo escaso de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 6 lóculos; escasa presencia de microconidios piriformes.</p> <p>Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 4.2 x 2.1μm. Macroconidios: 46.0 x 9.6μm.</p>
<p>GT55</p>			
<p>Descripción</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color blanco, centro umbilicado, de color amarillo pálido.</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio, en el centro se observa una especie de burbuja de aire denotada por una circunferencia de color blanco.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, bordes limitados y regulares, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento naranja-amarillo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo escaso de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 5 a 6 lóculos.</p> <p>Tamaño macroconidios (\bar{x}): 45.8 x 10.6μm.</p>

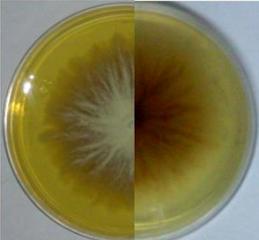
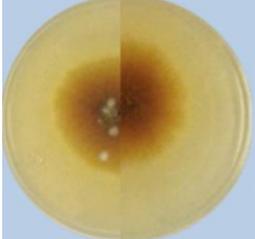
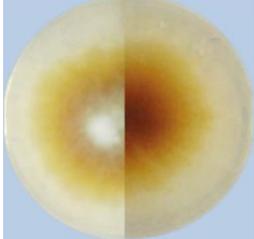
GT68			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado e irregular, de color blanco-amarillo pálido.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco-amarillo pálido, centro umbilicado.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 6 lóculos.</p> <p>Tamaño macroconidios (\bar{x}): 43.6 x 11.8μm.</p>
GT71			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde regular, de color blanco-amarillo pálido, presencia de "flecós".</p> <p>Reverso: pigmentación ausente.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color ante-canela, presencia de ramificaciones.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo escaso de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 4 a 6 lóculos; escasa presencia de microconidios piriformes.</p> <p>Tamaño (\bar{x}):</p> <p>Microconidios: 3.5 x 1.9μm.</p> <p>Macroconidios: 42.2 x 13.0μm.</p>
GT75			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado y regular, de color blanco, presencia de "flecós".</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo, difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde irregular, de color ante-canela, presencia de "flecós", centro algodonoso, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo escaso de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 3 a 4 lóculos; presencia de abundantes microconidios piriformes.</p> <p>Tamaño (\bar{x}):</p> <p>Microconidios: 4.8 x 2.1μm.</p> <p>Macroconidios: 34.7 x 11.1μm.</p>

HN01			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado e irregular, de color ante-canela, presencia de “flecós”, centro algodonoso, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared delgada; con 5 a 6 lóculos; presencia de abundantes microconidios piriformes.</p> <p>Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 3.6 x 2.0μm. Macroconidios: 41.5 x 9.1μm.</p>
<i>Microsporium canis</i>			
GT12			
Descripción	<p>Anverso: superficie aterciopelada, semejante a los gajos de toronja, un borde limitado e irregular, de color blanco, centro umbilicado.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento café, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie algodonosa, borde limitado e irregular, de color blanco, centro pulverulento, de color ante.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia de macroconidios fusiformes, de pared gruesa y equinulada; con 6 a 10 lóculos; escasa presencia de microconidios piriformes.</p> <p>Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 4.2 x 1.5μm. Macroconidios: 73.9 x 22.1μm.</p>
GT14			
Descripción	<p>Anverso: superficie flocosa (peluda), crecimiento en forma de remolino, borde limitado e irregular, de color blanco.</p>	<p>Anverso: superficie algodonosa, borde limitado e irregular, de color blanco.</p> <p>Reverso: ligera producción de pigmento café claro, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia de macroconidios fusiformes, de pared gruesa y equinulada; con 6 a 8 lóculos.</p>

	Reverso: ligera producción de pigmento café, no difusible al medio.		Tamaño macroconidios (\bar{x}): 48.1 x 12.6 μ m.
GT20			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, semejante a los gajos de toronja, borde limitado e irregular, de color blanco, centro umbilicado. Reverso: ligera producción de pigmento café, no difusible al medio.	Anverso: superficie algodonosa, borde limitado e irregular, de color blanco, centro pulverulento, de color ante. Reverso: ligera producción de pigmento amarillo-naranja, no difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia de macroconidios fusiformes, de pared gruesa y equinulada; con 6 a 10 lóculos; escasa presencia de microconidios piriformes. Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 4.2 x 2.0 μ m. Macroconidios: 67.5 x 21.1 μ m.
GT53			
Descripción	Anverso: superficie aterciopelada, crecimiento radial y crateriforme, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: pigmentación ausente.	Anverso: superficie algodonosa, crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: ligera producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios fusiformes, de pared gruesa y equinulada; con 6 a 10 lóculos. Tamaño macroconidios (\bar{x}): 57.8 x 13.5 μ m.
GT56			
Descripción	Anverso: superficie flocosa (peluda), crecimiento en forma de remolino, borde limitado e irregular, de color blanco.	Anverso: superficie flocosa (peluda), crecimiento crateriforme, borde limitado e irregular, de color rosado.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia de macroconidios fusiformes, de pared gruesa y equinulada; con 5 a 9

	Reverso: ligera producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.	Reverso: ligera producción de pigmento café claro, no difusible al medio.	lóculos; escasa presencia de microconidios piriformes. Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 4.0 x 1.4 μ m. Macroconidios: 53.7 x 20.5 μ m.
GT60			
Descripción	Anverso: superficie flocosa (peluda), crecimiento en forma de remolino, borde limitado e irregular, de color blanco. Reverso: ligera producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.	Anverso: superficie flocosa (peluda), crecimiento radial, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: ligera producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.	Desarrollo escaso de micelio tabicado. Escasa presencia de macroconidios fusiformes, de pared gruesa y equinulada; con 7 a 11 lóculos. Tamaño macroconidios (\bar{x}): 53.6 x 15.3 μ m.
GT61			
Descripción	Anverso: superficie flocosa (peluda), crecimiento en forma de remolino, borde limitado e irregular, de color blanco. Reverso: ligera producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.	Anverso: superficie algodonosa, borde limitado y regular, de color blanco. Reverso: ligera producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Escasa presencia de macroconidios fusiformes, de pared gruesa y equinulada; con 6 a 8 lóculos; escasa presencia de microconidios piriformes. Tamaño (\bar{x}): Microconidios: 3.7 x 1.2 μ m. Macroconidios: 48.8 x 16.2 μ m.
GT64			
Descripción	Anverso: superficie ligeramente flocosa (peluda), crecimiento en forma de remolino, borde limitado e	Anverso: superficie flocosa (peluda), crecimiento radial, borde limitado y regular, de	Desarrollo abundante de micelio cenocítico y estéril; ausencia de conidios.

	irregular, de color amarillo-marrón, parte del crecimiento dentro del medio, centro de color blanco. Reverso: ligera producción de pigmento amarillo, no difusible al medio.	color blanco, presencia de "flequillos". Reverso: pigmentación ausente.	
GT66			
Descripción	Anverso: superficie flocosa (peluda), crecimiento en forma de remolino, borde limitado e irregular, de color blanco-amarillo pálido. Reverso: pigmentación ausente.	Anverso: superficie flocosa (peluda), crecimiento radial, borde limitado e irregular, de color blanco-amarillo pálido. Reverso: pigmentación ausente.	Desarrollo escaso de micelio tabicado. Escasa presencia de macroconidios fusiformes, de pared gruesa y equinulada; con 4 a 10 lóculos. Tamaño macroconidios (\bar{x}): 49.8 x 18.0 μ m.
<i>Microsporium nanum</i>			
GT01			
Descripción	Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado e irregular, de color blanco-amarillo pálido, presencia de "flecós". Reverso: producción de pigmento café-amarillo, difusible al medio, presencia de ramificaciones marrones.	Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado e irregular, de color amarillo pálido, presencia de "flecós". Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio, presencia de ramificaciones marrones.	Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios en forma ovalada a elíptica, de pared delgada; con 1 a 2 lóculos. Tamaño macroconidios (\bar{x}): 14.7 x 8.9 μ m.
GT19			

Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color amarillo pálido, presencia de ramificaciones.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café, no difusible al medio, presencia de ramificaciones marrones.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado e irregular, de color ante-canela.</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio, presencia de ramificaciones marrones.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios en forma ovalada a elíptica, de pared delgada; con 2 lóculos.</p> <p>Tamaño macroconidios (\bar{x}): 16.9 x 8.2μm.</p>
GT46			
Descripción	<p>Anverso: superficie pulverulenta, borde limitado e irregular, de color amarillo pálido, presencia de ramificaciones.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café, no difusible al medio, presencia de ramificaciones marrones.</p>	<p>Anverso: superficie pulverulenta, crecimiento radial, borde limitado e irregular, de color ante-canela, presencia de formaciones algodonosas.</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo-naranja, difusible al medio, presencia de ramificaciones marrones.</p>	<p>Desarrollo abundante de micelio tabicado. Presencia de numerosos macroconidios en forma ovalada a elíptica, de pared delgada; con 1 a 2 lóculos.</p> <p>Tamaño macroconidios (\bar{x}): 15.8 x 8.4μm.</p>
<i>Epidermophyton floccosum</i>			
MX71			
Descripción	<p>Anverso: superficie aterciopelada, borde limitado y regular, de color amarillo, centro umbilicado, presencia de formaciones algodonosas.</p> <p>Reverso: producción de pigmento amarillo-verdoso, no difusible al medio.</p>	<p>Anverso: superficie aterciopelada, borde limitado y regular, de color amarillo, centro algodonoso, de color blanco.</p> <p>Reverso: producción de pigmento café-amarillo, no difusible al medio.</p>	<p>Desarrollo escaso de micelio tabicado. Presencia de macroconidios en forma clavadas, de base delgada y un extremo romo, con 2 a 4 lóculos.</p> <p>Tamaño macroconidios (\bar{x}): 22.5 x 7.6μm.</p>