

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química



"ESTUDIOS DE DOS HONGOS CAUSANTES DE MICETOMAS DE GRANOS BLANCOS"

T E S I S

Que para obtener el Título de

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
BIOQUIMICO MICROBIOLOGICO**

p r e s e n t a

Hipólito Miguel Angel

MEXICO, D. F.

1 9 8 0

M-21697



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.

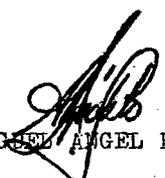
JURADO ASIGNADO

Presidente: Q.F.B. CATALINA OROZCO VICTORIA
Vocal: Q.F.B. OSCAR AMOR DODERO
Secretario Q.F.B. LEONOR MARTINEZ SOTO
1er.Suplente Q.F.B. LILIA VIERNA GARCIA
2do.Suplente . Dr. MANUEL WONG CHIO

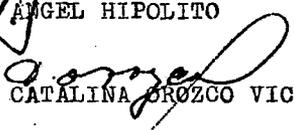
SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

Centro Dermatológico "Dr. Ladislao de la Pascua" de la
S.S.A. y Laboratorio de Microbiología Experimental de
la Facultad de Química de la U.N.A.M.

SUSTENTANTE:


MIGUEL ANGEL HIPOLITO

ASESOR DEL TEMA:


Q.F.B. CATALINA OROZCO VICTORIA

SUPERVISOR TECNICO:

DR. PEDRO LAVALLE AGUILAR

Quiero expresar mi agradecimiento al personal del Centro Dermatológico - "Dr. Ladislao de la Pascua", especialmente a las personas que de alguna forma contribuyeron para la realización de este trabajo.

Quiero expresar de una manera muy especial mi más cordial agradecimiento al Dr. Pedro Lavalle A. y a la profesora Q.F.B. Catalina Orozco V., por su orientación y - consejos que permitieron llevar a feliz término este trabajo y que han contribuido a mi realización y superación profesional.

A mis Tíos:

Amadeo Hipólito Laguna. q.e.p.d.
M. Inés Hipólito de Godínez
Carlota Hipólito Laguna
Antonio Hipólito Laguna
Hilario Hipólito Laguna
Rosa I. Hipólito de Gómez

Con todo respeto, ya que de alguna
manera contribuyeron a mi formación
de hombre y realización profesional.

Con todo cariño a mis hermanos

Rafael Hipólito y Alejandro
Horacio Hipólito.

A mi Madre

Petra Hipólito Laguna

Con todo cariño le doy las gracias por su sacrificio y apoyo que hicieron posible mis estudios hasta mi - realización profesional.

Gracias por haberme guiado por la - senda del respeto, honradez y trabajo.

A mi Abuela:

Constancia Laguna Vda. de H.

Con todo cariño le doy las gracias, por la confianza y apoyo moral que mucho contribuyeron para mis estudios y realización profesional.

A Minerva

A mis amigos

" Estudio de dos hongos causantes de Micetomas de granos
Blancos "

Introducción	1
Breve descripción de Micetoma y sus Agentes .	3
Antecedentes Históricos	6
Material	8
Método	12
Resultados	16
Comentarios	32
Conclusiones	33
Resumen	34
Bibliografía	35

I N T R O D U C C I O N

El micetoma es un padecimiento frecuente en México, dada nuestra situación geográfica, de país atravesado por el Trófico de Cáncer; situación igual a la de los países de la zona subsahariana de Africa (Somalia, Sudán, Senegal), en donde han sido descritos el mayor número de micetomas y también en la India donde se conoció inicialmente este padecimiento.

Las características de dicha zona son: Temperatura de 20-25°C., Insolación de 126-150 días al año, Presión barométrica de 760-757 mm Hg., Dos temporadas de lluvias separada por una temporada corta de sequía en la segunda quincena de Agosto (Canícula) y otra de sequía de la segunda quincena de Octubre a la primera quincena de Mayo, interrumpida en ocasiones por lluvias invernales.

Precipitación Pluvial de 750 mm., La flora está compuesta por coníferas en las partes altas, cultivos de leguminosas en las partes bajas, aunado a la presencia abundante de Aca-cias (27).

Este padecimiento afecta principalmente a la población campesina con escasos recursos económicos que efectúan labores de campo sin la debida protección en los pies (generalmente descalzos), lo cual los expone a sufrir traumatismos (espinadas, cortaduras, rozaduras, etc...), que son las causas de la penetración de los agentes etiológicos (18). Los -

campesinos que sufren este padecimiento pueden llegar a la invalidez, cuando por el abandono del tratamiento o la aplicación de tratamientos inadecuados por parte de los médicos poco informados de las características del mismo llega a lesionar el esqueleto.

Los pacientes de micetoma pueden recibir dos tipos de tratamiento; Si el agente es un actinomiceto, el tratamiento adecuado es médico a base de sulfonas (sulfas de acción lenta, bactrin u otros medicamentos similares): Si el agente etiológico es un hongo el tratamiento adecuado es generalmente quirúrgico, ya que el padecimiento no responde a tratamientos médicos, a excepción de muy raros casos.

La frecuencia de micetomas causados por actinomicetos es de 98%, mientras que los micetomas producidos por hongos son de una frecuencia del 2% (según estadística del Laboratorio de Micología del C. D. P.). Los agentes de los eumicetomas son menos conocidos y más difíciles de determinar, lo que es de importancia, no netamente teórico, sino para ensayo de posible tratamiento médico, por esta razón en esta tesis se estudian dos cepas de hongos aislados de micetomas - de granos blancos, en el laboratorio de micología del Centro Dermatológico " Pascua ".

BREVE DESCRIPCION DEL MICETOMA Y
SUS AGENTES

Micetoma es un síndrome anatómico-clínico caracterizado por aumento de volumen y deformación de la región afectada, formación de abscesos que drenan a través de fístulas una secreción seropurulenta que contiene granos (forma parasitaria).

Los granos son colonias de organismos filamentosos que pueden ser actinomicetos (bacterias) ó eumicetos (hongos verdaderos); Por lo tanto desde el punto de vista etiológico el micetoma se divide en actinomicetoma y eumicetoma.

Los granos de los actinomicetomas se caracterizan por estar constituidos por filamentos de 1 micra de ancho (microsifomados), son de color blanco amarillento y en algunas ocasiones presentan clavav (género Nocardia), algunos otros son visibles a la simple vista y blandos (A. madurae) o duros porque contienen cemento (S. somaliensis), el A. pelletieri produce granos de color rojo y son semiduros.

Los agentes de la actinomicosis (anaerobios) presentan granos blanco amarillento, con clavav, pero quedan excluidas de esta descripción, por tratarse de organismos de origen endógeno.

Los granos de los eumicetomas se caracterizan por ser de aspecto vesiculoso, generalmente visibles a la simple vista (500-2000 micras), algunos son de color blanco amarillento

y otros son de color negro. Están formados por hifas ta
bicadas, macrosifonadas (de 1 micra o más de ancho), hay -
presencia de clamidosporas, pueden o no presentar cemento.

CLASIFICACION DE MICETOMAS

		GENERO	ESPECIE	COLOR DEL GRANO
MICETOMA	Actinomycetoma	Nocardia	N. brasiliensis	Blanco Amarillento
			N. caviae	Blanco Amarillento
			N. asteroides	Blanco Amarillento
			etc.	
		Actinomadurae	A. madurae ✓	Blanco
			A. peletieri	Rojo
	Streptomyces	S. somaliensis ✓	Blanco	
		S. paraguayensis	Negro	
	Eumycetoma	Madurella	M. mycetomi ✓	Negro
			M. grisea ✓	Negro
		Pyrenochaeta	P. romeroi	Negro
		Leptosphaeria	L. senegalensis	Negro
		Phialofora	F. jeanselmei ✓	Negro
		Curvularia	C. lunata	Negro *
			C. geniculata	Negro *
		Drechslera	D. spiciferum	Negro *
		Allescheria**	+ A. boydii ✓	Blanco Amarillento
		Monosporium	+ M. apiospermum ✓	Blanco Amarillento
Neotestudina		N. rosatii	Blanco Amarillento	
Cephalosporium**		C. recifei ✓	Blanco Amarillento	
	C. falciforme ✓	Blanco Amarillento		
	C. kiliensis ✓	Blanco Amarillento		
	C. serrae ✓	Blanco Amarillento		
Fusarium	F. solani ✓	Blanco Amarillento		
	F. sp. (18) ✓	Blanco Amarillento		

* = Aislado de Animales

** = Allescheria = Petriellidium; Cephalosporium=Acromonium.(25)

ANTECEDENTES HISTORICOS

El término micetoma: micos = Hongo, oma = tumor, fué introducido a la literatura médica por Van Dyck-Carter en 1860, el autor, médico Inglés trabajó en la India (Bombay), país en el que ya era conocido este padecimiento con diferentes nombres, de los cuales el de "Pie de Madura", hace referencia a la provincia del mismo nombre donde abundan los casos, se ha conservado hasta nuestros días.

Van Dyck-Carter descubrió la etiología al llamar al proceso micetoma, considerando además que podía haber varios - agentes etiológicos, los cuales podrían dar granos blancos o bien granos negros (5).

A fines del siglo XIX y principios del siglo XX, varios médicos europeos, principalmente franceses e ingleses dieron a conocer los micetomas de Africa, encontrando diferentes agentes etiológicos que podrían ser actinomicetos u hongos verdaderos, lo que quedó precisado en la clasificación de los micetomas de Chalmers y Archibald (1916), que consideraron dos grupos:

- a).- Micetomas Actinomicóticos los producidos por actinomicetos.
- b).- Micetoma Maduromicótico los producidos por hongos verdaderos (10).

Estos términos considerados clásicos se han ido cambiando -

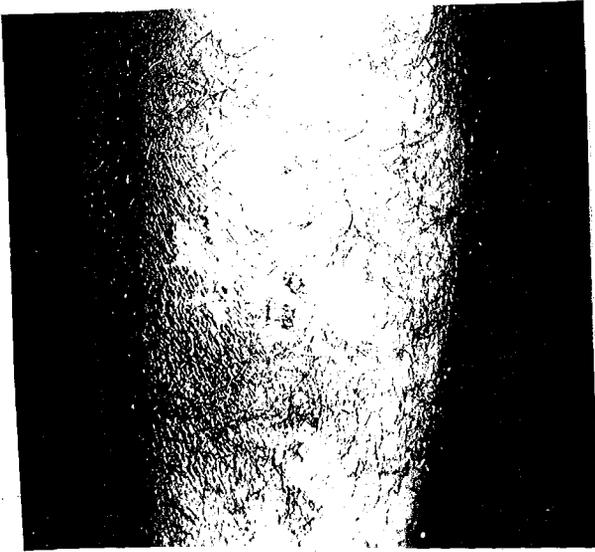
por otros más precisos y en la actualidad se prefiere hablar de Actinomicetomas y Eumicetomas.

En América el micetoma fué también reconocido a fines del - siglo XIX y principios del siglo XX, Fernando Ocaranza en - 1914 señala a propósito de los micetomas de Sonora que desde 1874 fueron encontrados en Hermosillo, los primeros casos en América por Mac Questin, médico residente de esa ciudad (22).

Wright (1898) en E. U. describe un micetoma de granos negros, que aunque no lo denominó, corresponde a *Madurella mycetomi* (28) y Lindenberg en Brasil en 1909 (20), describe el actinomiceto que actualmente lleva el nombre de Nocardia brasiliensis y que es uno de los más frecuentes como causa de micetoma en México.

El primer documento que existe en México relativo a micetomas, fué presentado por Ricardo Cicero a la Academia Nacional de Medicina en 1911 (9), en el describía 5 casos de micetoma, procedentes del Estado de Morelos, el primero de los cuales fué visto en 1901. Posteriormente varios autores han demostrado la frecuencia e importancia del padecimiento en el país.

M A T E R I A L



CASO 81-76



CASO 315-77

A.- Historia Clínica No. 1

Cepa No. 81-76

J.D.R.L. Sexo masculino de 76 años, mestizo, campesino, origen y residencia en Minatitlán Veracruz.

Descripción Dermatológica.- Dermatitis localizada a miembro inferior izquierdo, ocupando tercio medio y cara antero-interna, de consistencia leñosa, constituida por aumento de volumen, presencia de fístulas pequeñas por las cuales drenan un líquido sero-purulento, en el cual se pueden ver los granos. La superficie es abollonada y dura, y la piel alrededor de las fístulas se presenta Hiperpigmentada.

Evolución.- Inicia su padecimiento aproximadamente hace 10 años, con la presencia de un "granito", en la pierna que persistió y posteriormente observó la aparición de otros semejantes y algunos sanaban, otros aparecían, paralelamente, observó que la pierna aumentaba de volumen y su consistencia era dura (leñosa). Recibió tratamientos no especificados en Villahermosa Tabasco, se le practicó biópsia, que fué interpretada como "Liposarcoma". En Minatitlán un médico prometió curarlo por medio de la intervención quirúrgica; la que estando ya el paciente anestesiado, fué impedida por un familiar, al darse cuenta que se trataba de amputación. En

el C.D.P. ha recibido los siguientes tratamientos: Bac^{tr}ín tabletas cada 12 horas durante 7 meses, Grisovín 500 mg. diarios durante tres meses, Yoduro de Potasio al 6.6% tres cucharadas al día y Aderogyl 15 quincenal durante aproximadamente 2 años y que actualmente sigue, ya que es el que ha mostrado en el paciente una evolución favorable, con disminución de la dureza y la esporádica aparición de las fístulas.

B.-Historia Clínica No. 2.

Cepa 315-77

B.G.G. Sexo masculino, mestizo, hortelero, origen y residencia en Querétaro, Gro., vivió algunos años en Estados Unidos.

Descripción Dermatológica.- Dermatosis localizada a miembros inferior derecho, desde la región maliolar hacia abajo, de consistencia leñosa, que presenta escamas, algunas fístulas por las cuales drena un líquido seroso amarillento, en el cual se observan los granos a simple vista, son de color blanco amarillento.

Evolución.- Inicia padecimiento aproximadamente hace 15 años recuerda la aparición de un leve dolor en el dorso del pie, donde presentaba una pequeña tumoración la

cual fué drenada en un hospital de Estados Unidos, - posteriormente el pié engrosó y fué drenado nuevamente en un hospital de Querétaro.

En el C.D.P. ha recibido los siguientes tratamientos: Griseofulvina 500 mg. al día; Miconazol tabletas de - 500 Mg. al día; Yoduro de Potasio al 6.6% durante un año acompañado de Ampolletas de Aderogyl 15, semanal; con ninguno de los tratamientos anteriores ha presentado evolución favorable.

M E T H O D S

Estudio Radiológico.- Las radiografías sucesivas practicadas de 1963 a 1978, muestran lesiones líticas que se iniciaron en el cuboides y que progresaron a la total -destrucción morfológica de los huesos del tarso, con sinostosis tarso-metatarsiana, aparentemente por una reacción perióstica de tipo ostiogénico. (Interpretación del Dr. Alfredo Cardoso del. C.D.P.)

C.- Ratones Blancos.

D.- Cepas de referencia.

1.- <i>Fusarium solani</i>	989	I.P.P.
2.- <i>Allescheria boydii</i>	98-65	I.P.P.
3.- <i>Neotestudina rosatii</i>	227	I.P.P.
4.- <i>Cephalosporium recifei</i>	157	I.H.M.
5.- <i>Cephalosporium falciforme</i>	1145	I.H.M.
6.- <i>Cephalosporium falciforme</i>	939	I.H.M.
7.- <i>Cephalosporium serra</i>	(Albornoz, Caracas Vene.)	
8.- <i>Allescheria boydii</i>	1595	I.H.M.
9.- <i>Allescheria boydii</i>	1872	I.H.M.
10.- <i>Allescheria boydii</i>	1262	I.H.M.
11.- <i>Monosporium apiospermum</i>	(Silvia Lacaz, Sao Paulo Brasil).	
12.- Cepa 81-76	C.D.P.	
13.- Cepa 315-77	C.D.P.	

I.P.P. = Instituto Pasteur de París.

I.H.M. = Instituto de Higiene de Montevideo.

C.D.P. = Centro Dermatológico Pascua.

Se realizaron los siguientes estudios:

A.- Aspecto Parasitario.

- a).- Examen directo de secreción purulenta tomada de fistulas recién abiertas o se puncionó algún absceso. Este examen directo se practicó en solución de lugol y en ocasiones en solución de KOH al 20%. En caso de encontrar grano, se estudió: Su color, tamaño, forma, estructura, consistencia, etc.
- b).- Biópsia profunda para estudiar las características ya anotadas del grano en preparaciones fijas y además la afinidad tintorial del mismo. Las muestras fueron enviadas al Departamento de Histopatología donde se emplea el procedimiento de rutina "clási-co" Hematoxilina Eosina y además P.A.S. y grocott.

B.- Aspectos Culturales:

- a).- Aislamiento de las cepas utilizando Cloramfenicol 2 mg/ml; Estreptomina 1.5 mg/ml. en solución salina isotónica. Los granos fueron lavados en esta solución por intervalo de 60 a 90 min., después

de lo cual se procedió a sembrarlos en medio de Sabouraud.

- b).-Descripción macroscópica en los siguientes medios de cultivo: Agar Sabouraud glicosado al 2%, Agar papa, y V-8.
- c).-Descripción microscópica de microcultivos realizados por la técnica de Riddell (24), los cuales fueron teñidos por la técnica de P. A. S.
- d).-Cultivos de las cepas fueron enviados al Departamento de Histopatología del C. D. P., para búsqueda de peritocios.
- e).- Bioquímicas de las cepas realizadas de acuerdo a las técnicas y procedimientos presentados por El - Cheikh Mahgoub (13).

C.- INOCULACION A ANIMALES.

- a).- Inoculación a ratones blancos con granos en suspensión, de los dos casos en estudio, utilizando solución salina isotónica, conteniendo 2 mg/ml. de Clo₂ramfenicol, y 1.5 mg/ml. de Estreptomina. Los ratones que en número de 4 por caso, fueron inoculados por vía intraperitoneal con 0.3 ml. de la suspensión y se sacrificaron uno a uno cada 7 días

y después de 15 días de la inoculación.

- b).- Inoculación a ratones empleando el método de la -
Mucina (Mucina al 5% más triturado de colonias)
(17), por vía intraperitoneal, con 0.3 ml. de sus
pensión, se inocularon 10 ratones por cada cepa y
se sacrificaron a partir de 15 días, después de -
inoculados dos ratones por cepa, cada 7 días.

R E S U L T A D O S

A.- Aspecto Parasitario

a).- Examen directo. (Descripción de los granos en fresco).

Cepa 81-76: Grano blanco visible a la simple vista, mide aproximadamente 800 micras y de consistencia blanda en el examen directo al microscopio y en solución lugol, después de 24 horas, con lupa (3.5 X) se ve un grano redondeado, multilobulado de contorno amiboide y superficie vesiculosa, como cubierto por pequeñas burbujas; el centro del grano es mas brillante y los borde mas opacos, en algunos segmentos se ve granuloso, teñido fuertemente por el lugol.

Con el objetivo de 10 X, se notan mejor los detalles antes mencionados y se aprecia que la presencia de burbujas se debe a un micelio macrosifonado terminado en vesículas, destacándose el aspecto granular morado en algunos contornos periféricos, en donde también se ven algunas hifas moradas.

Con el objetivo de 40 X, se ve una espesa trama de filamentos gruesos, terminados en ensanchamientos vesiculares, en estos sectores teñidos por el lugol se aprecian gránulos de substancia amorfa, color morado y muestran ensanchamientos intercalares

y terminales (los ensanchamientos son los que se ven de color morado), estas hifas son septadas.

Cepa 315-77.- Grano blando visible a la simple vista, mide aproximadamente 500 micras y de consistencia blanda. En el examen al microscopio, en solución de KOH al 20% con el objetivo de 10X, se observa un grano multilobulado de forma acintada y replegado sobre si mismo, de modo que deja un espacio en el centro, se encuentra constituido por un micelio macrosifonado, más obscuro en los bordes, En toda la superficie y sobre todo en los bordes se observan algunas vesículas.

Con el objetivo de 40X, se observan más fácilmente el trama filamentosos y la presencia de vesículas.

b).-Biopsia. (Descripción de los granos en Biopsia)

Cepa 81-76.- H.E. con el objetivo de 10X, se observan tres granos óvalos o multilobulados midiendo aproximadamente de 200 a 400 micras cada uno, estos granos se tiñen débilmente por la Hematoxilina, observándose una trama laxa que deja hendiduras transversales.

Con el objetivo de 40X, se observa la estructura de los granos que están constituidos por micelio -

macrosifonado, cuyas hifas miden aproximadamente 2.5 micras de ancho, formando haces que dejan espacios libres; En la trama de dichos haces se ven escasas vesículas pequeñas y en los bordes del grano se notan mejor los filamentos que son más gruesos, terminado algunos en vesículas.

P.A.S. con el objetivo de 10X, idénticas observaciones a las hechas en H. E.

P.A.S. Grano superficial.- Con el objetivo de 10X se observan las mismas características que las del grano profundo.

Con el objetivo de 40 X, se ven con claridad los filamentos que miden aproximadamente de 2-3 micras de diámetro y la formación de vesículas terminadas en algunos de ellos, de 4-5 micras de diámetro.

Grocott. Con el objetivo de 10X, se observa que el grano se tife intensamente de negro y con el objetivo de 40X, se nota un micelio muy laxo, dispuesto en bandas por estrías y constituido por filamentos de diferente grosor, unos delgados de 2-3 micras de ancho como los observados en preparaciones anteriores y otros muy gruesos como de 5 micras de ancho.

En la periferia del grano se pueden ver las vesículas que también son de diferente tamaño entre 5-10 micras de diámetro, unas son terminales y otras intercalares.

Cepa 315-77.- H. E. Se observa un grano redondeado de unas 400 micras de diámetro que se tiñe con la hematoxilina, observándose mas pálido en el centro y en la orilla se observa una delgada línea de color mas intenso. Uno de los cuadrantes de éste presenta un aspecto muy laxo, con hendiduras - que separa franjas de color morado intenso. Con el objetivo de 40X, se observa que los filamentos gruesos forman haces dispuestos en todas direcciones y en la dirección de las franjas se observan hifas hinchadas formando vesículas.

En biópsia profunda se ve un grano de unas 250-300 micras de diámetro, de forma redonda que muestra un micelio poco teñido por la hematoxilina y de aspecto laxo sobre todo por el centro donde se observa una gran hendidura y algunas lagunas micelio.

Con el objetivo de 40X, se observan la disposición de los filamentos en forma de haces de disposición generalmente radiada, que son gruesos como de 2-3

micras de ancho finamente tabicados y que forman vesículas.

P.A.S. grano profundo.- Con el objetivo de 10X, se observa que los filamentos se tñen fuertemente con esta coloración sobre todo en la orilla, mientras que en el centro se observa la laxitud ya descrita.

Con el objetivo de 40X, se comprueba la disposición de los filamentos de los haces y la formación de vesículas poco numerosas.

B.- Aspectos Culturales.

a).- Aislamiento de las cepas.

Cepa 81-76.- Esta se aisló del paciente en 5 - ocasiones, con intervalo de 3 meses, pero no todos los granos eran viables.

Cepa 315-77.- Esta cepa se aisló del paciente por mas de 5 ocasiones pero no todos los granos eran viables.

b).- Descripción macroscópica de las colonias.

A. boyddi (Shear, 1921). Colonia de superficie algodonosa, de color blanco o grisáceo, de crecimiento rápido, circular. El reverso de la colonia es de color gris oscuro, no difunde pigmento al medio (1) (14) (21).

C. falciforme (Carrión 1939). Colonia de crecimiento lento, superficie húmeda, de consistencia membranosa, compacta; El micelio es de color - marrón corto y escaso.

Es el color marrón en medio de cultivo que contiene Sulfato de Amonio y difunde un pigmento del mismo color. En medios de cultivo de agar papa el color y pigmento es lila. (6) (7).

C.recifei (Leao et Lobo 1934). Colonia de creci

miento lento, superficie lisa y húmeda, de consistencia membranosa, compacto. Presencia de radiaciones que van del centro a la periferia de la colonia. El micelio es de color blanco marrón, corto y escaso, (No difunde pigmento al medio de cultivo). (2) (9).

C.serrae (Maffie 1939). Colonia de crecimiento lento, superficie aterciopelada, color marrón, - mas intenso hacia el centro que la periferia donde el color es mas claro, el micelio forma círculos y pliegues, de bordes redondeados de un halo blanquecino, en medios de cultivos viejos el color se difunde al medio de cultivos. En medio de cultivos de papa el micelio es abundante. (3)

F. solani. Colonia de crecimiento rápido color morado en Sabouraud y violeta en medio de agar papa. El micelio presenta formas de coremium y se adhiere fácilmente al cristal de los tubos en que se cultiva, difunde un pigmento al medio de los colores antes mencionados. (12) (15).

M. apiospermum (Saccardo 1911). Colonia de superficie algo donosa, de color gris, de crecimiento rápido, circular, el reverso de la colonia es de color gris obscuro, no difunde pigmento al medio

de cultivo. (8) (11) (14) (16)

N. rosatti (Secretain Et Destombes 1961). Colonia de crecimiento lento, compacta, lisa, aterciopelada, de color gris oscuro, micelio corto, no difunde pigmento al medio de cultivo. (26)

Cepa 81-76. Colonia de crecimiento lento, de micelio que al principio es de color blanco húmedo y que al cabo de 4 semanas se cambia a color negro, no difunde pigmento al medio de cultivo. Micelio plegado.

Cepa 315-77. Colonia de crecimiento lento, elevado en el centro, compacta, en ocasiones presenta micelio en coremium, puede ser de color rosa o blanco, húmeda, difunde un pigmento rosa y salmón.

C.- Descripción microscópica de las colonias.

A. boydii (Shear 1921). Micelio abundante formado por hifas de aproximadamente 1.6 micras de ancho y tabiques de 5-8 micras de largo, ramificadas, en las cuales se observan abundantes conidias de 3.5 x 3 micras, unidas por un conidióforo corto. (14) (16).

C. falciforme (Carrión 1939). Micelio abundante formado por hifas de aproximadamente 1.6 micras de ancho y tabiques de 6-8 micras de largo, onduladas, ramifica

das y formando coremium, hay presencia de espirales. Las conidias de aproximadamente 3 x 1.4 micras estan colocadas en la parte superior del conidióforo, dispuestas en forma de cabezuela tipo cephalosporia (mixosporos), unidas por una sustancia mucilaginosa. (23)

C. recifei (Leao et Lobo 1934). Micelio abundante, formado por hifas de aproximadamente 1.6 micras de ancho y tabiques de 6-8 micras de largo, ramificadas y formando coremium, abundantes conidias semilunares, colocadas en la parte superior del conidióforo, rara vez septados, formando cabezuela tipo cephalosporia. (23)

C. serrae (maffei 1929) Micelio abundante formado por hifas de aproximadamente 1.5 micras de ancho y tabiques de 6-8 micras de largo, ramificadas y formando coremium las conidias de 3 x 1.5 micras, redondas u ovoides, colocadas en el extremo del conidióforo y dispuestas en dos formas diferentes:

- a).- Cabezuela tipo cephalosporia (mixospora), de 12-15 micras de diámetro, unidas por una sustancia mucilaginosa.
- b).- Las conidias se colocan en forma perpendicular a las paredes del conidióforo "forma de paquetes" - (23), y se encuentra frecuentemente en cultivos -

viejos, seguramente por el desprendimiento de las conidias de la forma cephalosporia. Hay presencia de clamidosporas terminales e intercalares(3).

F.solani. Micelio abundante formado por hifas de aproximadamente 1.5 micras de ancho y tabiques de 10-16 micras de largo, ramificados formando coremium, abundantes conidias pequeñas como de aproximadamente 2.3 x 1.3 micras, presencia de conidias grandes tabicadas, curvas aproximadamente 15 micras de largo, especialmente en medio de V-8.

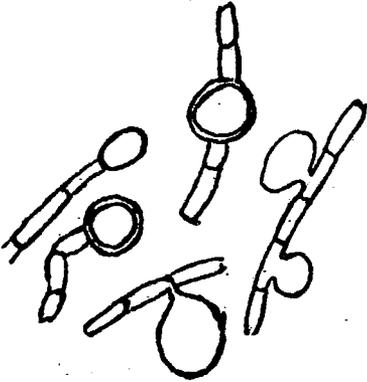
N. apiospermum (Saccardo 1911). Micelio abundante formado por hifas de aproximadamente 1.6 micras de ancho y tabiques de 5-8 micras de largo, ramificadas, en las cuales se observan abundantes conidias de 3.5 x 3 micras, unidas por un conidióforo corto, en ocasiones juntas en número de dos.

N. rosatii (Segretain et Destombes 1961). Micelio poco abundante, formado por hifas de aproximadamente 2 micras de ancho y tabique de 8-12 micras de largo, ramificado, ondulado, de color café. No presenta esporas, la fase sexuada no se obtuvo. Cepa 81-76. Micelio abundante formado por hifas de aproximadamente 2.5 micras de ancho y tabiques

de 4-6 micras de largo y ramificado. Se observan abundantes vesículas de aproximadamente 9 micras de diámetro unidas directamente a las hifas, presencia de clamidosporas terminales o intercalares de aproximadamente 6 micras de diámetro, se observan escasas conidias de aproximadamente 4-5 micras unidas a la hifa por un conidioforo septado. Las hifas presentan un color café (especialmente el micelio viejo).

Cepa 315-77. Micelio compacto, formado por hifas de aproximadamente 1.5 micras de ancho y tabiques de 7-8 micras de largo, presencia de escasas clamidosporas terminales e intercalares, abundantes conidias de aproximadamente 7 x 2 micras, que en ocasiones se observan formas tipo Cephalosporia, pero en los medios de P. Z. y V-8, se observan conidias grandes tipo Fusarium de aproximadamente 12 x 3.5 micras, tabicadas y fusiformes, algunas rectas y otras curvas.

- d).- En los cortes Histológicos de la cepas: A. boydii, N. rosatii, 81-75 y 315-77, no se encontraron perithecios, solamente se observan trozos de micelio y conidias enteras y seccionadas.



Ceba 81-76



Ceba 315-77

e).-

BIOQUIMICAS DE LAS CEPAS

		Gl.	Má.	Lá.	Gá.	Sá.	NP.	SA.	AS.	U.	HA.	HC.	LG.	30°C.	37°C.
A.boydii 1595	IHM	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	++	++
A.boydii 1872	IHM	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	++	++
A.boydii 1262	IHM	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	++	++
A.boydii.	IPP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	++	++
M.apiospermum	S.LACAZ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	++	++
N.rosatti	IPP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	++	-
F.solani	IPP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	++	-
C.falciforme 1145	IHM	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	++	-
C.falciforme 939	IHN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	++	+
C.recifel 957	IHM	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	++	-
C.serrae	ALBORNOZ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+
No. 81-76	CBP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	++	-
No.315-77	CDP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	++	-

Gl.= Glucosa; Má.=Maltosa; Lá.= Lactosa; Gá.= Galactosa
 Sá.= Sacarosa; NP.= Nitrato de Potasio; SA.= Sulfato de
 Amonio; As.= Asparagina; U.= Urea; HA.= Hidrólisis del-
 Almidón; HC.= Hidrólists de la Caseína; LG.= Licuefac-
 ción de la Gelatina.

C.- INOCULACION A ANIMALES.

- a).- En la inoculación efectuada con la suspensión de granos, ninguno de los ratones presentó alteraciones en ninguno de sus órganos. No se encontró rastros del inóculo en ninguno de los dos casos.
- b).- Los ratones inoculados por el método de la mucina, se empezaron a sacrificar a partir de la tercera semana; en número de dos por cepa, en el caso - 315-77 se observaron masas blanquecinas en la cavidad peritoneal, junto a la pared abdominal, estas estaban formadas por acúmulo de hifas sin organización, de estas masas se logró el retrocultivo solamente en una ocasión. En ocasiones posteriores siempre se encontraron las masas antes mencionadas microscópicamente parecidas a las anteriores pero no se obtuvo el cultivo de ninguna de ellas.

El Departamento de Histopatología las reportó como restos de micelio sin organización.

En el caso de la cepa 81-76, se observaron en la cavidad peritoneal masas de color café, que vistas al microscópio estaban formadas de acúmulos de hifas sin organización, de estas se sembró en medio de Sabourad, sin que se lograra el cultivo.

En la cuarta semana se encontró en un ratón, una masa blanquecina junto a uno de los lóbulos hepáticos, el cual se envió al Departamento de Histopatología donde se reportó el siguiente resultado: granuloma a cuerpo extraño, se encontraron restos de micelio obscuro sin organización.

C O M E N T A R I O S

La cepa 81-76, presenta las siguientes particularidades:

Micelio color negro y produce granos blancos; El micelio está formado por hifas gruesas y presenta vesículas grandes características no observadas en las cepas de referencia; En los medios que contienen sulfato de amonio, presenta colonia húmeda, elevada y de color verdoso, formado exclusivamente por micelio sin formas de reproducción.

La cepa 315-77, es un hongo que se caracteriza por presentar conidias pequeñas que se agrupan formando "cabezas" de *Cephalosporium* y conidias grandes, largas y fusiformes semejantes a las que presenta el género *Fusarium*.

En la inoculación a animales se logró retrocultivo en una ocasión, seguramente debido a que el hongo sobrevivió en el ratón 3 semanas.

En el año de 1961, se aisló en el Laboratorio de Micología del C. D. P., a partir de un micetoma podal una cepa de *Fusarium*, clasificada así por el Doctor Segretain del servicio de Micología del Instituto Pasteur de París, este autor y Destombes han estudiado otros 2 casos de *Fusarium* aislados de micetomas, de los cuales uno fué *Fusarium solani*.(12)

C O N C L U S I O N E S

- 10.- Tomando en cuenta las analogías y diferencias de la cepa 81-76 con las que nos sirvieron de referencia - concluimos que no se puede clasificar, ni como Petriedidium (Allescheria) boydii, ni como su forma asexual Monosporium apiospermum, pero si deberá ser clasificada en un género muy próximo a este último, debido a la semejanza de sus formas de reproducción observadas.
- 20.- En el caso de la cepa 315-77, concluimos que siempre hay semejanza con algunas de las cepas de referencia, no es idéntica a ninguna de ellas y la clasificamos como Fusarium sp.
- 30.- Estudios posteriores más profundos en otros laboratorios Mexicanos y Extranjeros podrán aclarar las dudas que aún persisten sobre la identidad de estas dos cepas.

R E S U M E N

Se estudiaron dos hongos causantes de micetomas de granos blancos; La cepa 81-76, presenta un micelio negro y grueso, cuyas características no corresponden a ninguna de las cepas con que se comparó.

La cepa 315-77, presenta conidias pequeñas que se agrupan formando "cabezas" tipo *Cephalosporium* y conidias grandes, alargadas, recta y fusiformes, características del género *Fusarium*. Se clasificó como *Fusarium* sp.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Ajello, L. 1952. The isolation of *A. boydii* Shear an etiologic agent of mycetoma from soil.
am. J. Trop. Med. Hyg. 1: 227-238.
- 2.- Albornoz, M. de 1964. Micetoma (Pie de Madurae) debido a *C. recifei*. Derm. Venez. 4:56-64
- 3.- Albornoz, M. de 1974. *Cephalosporium serra*e, agente etiológico de micetomas.
Mycopathología y Mycología Applicata. 4:485-498.
- 4.- Almeida, F., Lacaz, C. S., Ribeiro, D.A. & Azevedo P.C. 1948. Contribution to the study of micetoma in Sao Paulo. Rev. Brazil. 8:287-296.
- 5.- Cartes, H. V. 1874. On Mycetoma or the fungus disease of India. (Churchill London).
- 6.- Carrión, A. 1939. Estudio micológico de un caso de micetoma por *cephalosporium* en Puerto Rico.
Mycopathología. 6:165-170.
- 7.- Carrión, A. 1956. *Cephalosporium falciforme* n, sp. a new etiologic agent of maduromycosis.
Mycología 43:522-553.
- 8.- Carrión, A., Knott, J. 1944. Micetoma producido por *M. apiospermum* en la pequeña Antilla de Santa Cruz. The

- Puerto Rico Journal of Public Health. Sep. 99-107.
- 9.- Cicero, R. 1912. El Micetoma. Gac. Méd. Méx. 7:291-301.
 - 10.- Chalmers, A. J. & Archibald, R.G. 1916. Ann. Trop. Med. Parasit. 10.:169.
 - 11.- Dawding, E.S. 1935. Monosporium apiospermum a fungus causing Madura foot in Canada. Can. Med. Assoc. Jour. 33:28-32.
 - 12.- Destombes, P. 1972. Histopathologie des Mycetomes. Ann. Soc. Belge. Méd. Trop. 52:261-276.
 - 13.- El Sheikh Mahgoub. 1973. "Micetoma". 1a. Publicación Ed. Willian Heinemann Medical Books Ltd. London.
 - 14.- Emmons, C.H.W. 1945. A. boydii and M. apiospermum. Mycologia 36: 188-193.
 - 15.- Emmons, C.H.W., Binford, C. H., Utz, J.P., Kwon Chung, F.J. 1977. "Medical Mycology". 3a. Edición. Lea & Febiger. Philadelphia. 27:437.
 - 16.- González Ochoa, A. & Orozco Victoria, C. 1953. El Micetoma maduromicósico en México. Men. Cong. Cient. Méx. 10: 266-270.

- 17.- "Laboratory Procedures in Clinical Mycology". 1964.
Headquarters, Department of the Army. February.
- 18.- Lavallo, P. 1966. Nuevos datos sobre la etiología del Micetoma en México y su Patogenia.
Gaceta Médica de México. 96: 545-569.
- 19.- Leao, A.E. & Lobo, Y. 1939. Mycetoma du pie a Cephalosporium recifein, sp.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 117: 203-205.
- 20.- Lindenberg, A. Un Nouvel Mycetome. Arch. Parasit. 13: 265.
- 21.- Mackinnon, J. E. 1959. Contribution to the study of the etiologic agent of maduromycosis.
Tr. Roy Soc. Méd. and Hyg. 48:470-480.
- 22.- Ocaranza, F. 1914. El Micetoma en Sonora.
Bol. Ciencias Médicas. 4:433-437.
- 23.- Pinkerton, E. 1936. A Comparative study of conidial formation in Cephalosporium and some related Hifomyces. Ann. Mo. Bot. Gart. 23:1-65.
- 24.- Riddell, R.W. 1950. Permanent stained mycological preparation obtained by culture. Mycologia 42:265.

- 25.- Rippon, J. W. 1974. "Medical Mycology". Ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia. London. Toronto.
- 26.- Segretain, G., Destombes, P. 1961. Description d'un nouvel agent de maduromycose, *Neotestudina rosatii* n. sp., isole en Afrique. C. R. Acad. Sci. 253:2577-2579.
- 27.- Tamayo, J. L. 1962. "Geografia General de México" Tomo II. 2a. Ed. Inst. Méx. Inv. Econ. México.
- 28.- Wright, J. M. 1898. A. Case of mycetoma (Madura foot). J. Exp. Med. 3:421-433.