

## Hongos queratinófilos aislados de la zona central y sur de Chile

Keratinophilic fungi isolated from the Central and Southern Zones from Chile

E. PIONTELLI, Y. LAFORET, M.A. TORO SANTA MARIA

Departamento de Patología, Sección Micología, Universidad de Chile, Casilla 92 D, Valparaíso

(Recibido para publicación el 13 de mayo de 1974)

PIONTELLI, E., LAFORET, Y., TORO SANTA MARIA, M.A. Hongos queratinófilos aislados de la zona central y sur de Chile. (Keratinophilic fungi isolated from the Central and Southern Zones from Chile). Arch. Biol. Med. Exper. 11:68-72, 1978.

150 soil samples collected from different areas around Chile were examined for the presence of keratinophilic fungi by the Orr's technique. The organisms isolated and frequency are indicated: *Tricophyton terrestre* 6; *T. ajelloi* 19; *Chrysosporium* sp. 5; *C. keratinophilum* 9; *C. evolceanui* 8; *C. pannorum* 7; 2 *C. asperatum*; *Microsporium gypseum* 24; *M. cookei* 2.

The perfect stage, *Nannizzia incurvata* 3; *N. cajetani* 1; *Arthroderma uncinatum* 6; also we included *Diheterospora chlamydosporia* 2 and *Auxarthron umbrinum* 1.

The first organism apparently has been reported for the first time from soil samples in Chile: *Microsporium cookei*.

### KERATINOPHILIC FUNGI CHILE

No es necesario realizar una exhaustiva introducción en relación a este tema que abarca el aislamiento de dermatófitos saprófitos y patógenos detectados por su acción queratinofílica *in vitro* sobre sustratos queratinizados.

Vanbreuseghem, en 1952 (1), aisló y describió, a partir del suelo, el primer dermatófito no patógeno, el *Keratinomyces ajelloi*, a través de una técnica biológica actualmente en uso por la mayoría de los micólogos. Esta técnica emplea como sustrato queratinizado el pelo humano o animal esterilizado cuya finalidad es poner en evidencia la capacidad queratinofílica de dichos hongos, los cuales desarrollan lesiones características en el pelo.

Gran cantidad de datos aportados por diferentes autores han incrementado el material sobre el aislamiento de hongos queratinófilos encontrados en los suelos de diferentes países (2-6).

Actualmente es muy difícil formular una explicación satisfactoria (R. Vanbreuseghem, 7)

sobre la distribución geográfica de estos hongos. Sin embargo no podemos descartar la influencia de factores ecológicos que inducen al desarrollo de ellos, sobresaliendo especialmente la clase de material queratinoso presente en el suelo, y entre otros, el pH, temperatura óptima de desarrollo y la microflora y fauna presentes en los respectivos *habitats* (8).

La técnica de Vanbreuseghem ha sido modificada por varios investigadores, principalmente por G. Orr, en 1969 (9). Destacamos que en nuestro trabajo nos hemos basado en esta última técnica. Se colectaron 150 muestras de suelo de la zona central y sur de Chile, considerando los lugares más variados, tanto zona urbana como rural. No existe un claro y detallado estudio sobre este tema en nuestro país, con excepción del trabajo de Luis Zaror (10). Pensamos que a través de nuestra investigación podremos contribuir aumentando la información sobre la distribución y desarrollo de estos hongos.

## MATERIALES Y METODOS

Se recolectaron 150 muestras de suelo (raspado superficial) en bolsas de polietileno, a lo largo de la zona central y parte de la zona sur de Chile (figura 1). Todas las muestras se llevaron a placas estériles de 15 cm de diámetro, en cuyo fondo colocamos un disco de papel filtro con el objeto de mantener la humedad necesaria, agregando además 20 cc de agua destilada con una concentración de 500 mg de penicilina, 300 mg de estreptomina y 500 mg de cloranfenicol por litro. No pudiendo obtener Actidione (Ciclohexamida) en nuestro país, usamos cloranfenicol, no como un sustituto de este último compuesto, sino para potenciar la inhibición de gérmenes contaminantes, variando por necesidad la técnica de Orr (9). Luego se extendió sobre las superficies de las placas en estudio, trozos de 1 cm de largo de pelo humano previamente esterilizado en autoclave, tratando que el anzuelo usado (pelo) se repartiera en forma uniforme sobre toda la superficie de la placa.

Los períodos de incubación duraron entre 30 y 60 días, mantenidos a temperatura ambiente. Las observaciones referentes al crecimiento de los hongos sobre el pelo fueron controladas con lupas estereoscópicas. El detalle microscópico se realizó aplicando, como tinción lactofucsina. Todos los géneros encontrados ya sea dermatófitos queratinófilos o afines, fueron traspasados al medio Sabouraud-Glucosado (20 g de azúcar y 0,5 g de cloranfenicol) y agar papa-zanahoria, incubándolos a 27°C.

Hubo dificultad en reproducir colonias puras por la falta de Actidione. Este detalle fue solucionado recolectando directamente del pelo sólo pequeños trozos de micelio (en especial esporas) y no el pelo infectado en su totalidad, tocando suavemente con el asa de platino humedecida en el medio de cultivo a sembrar. Esto hizo posible la recolección de porciones ínfimas de la colonia, con buenos resultados en la disminución de contaminantes comunes en estos tipos de muestras.

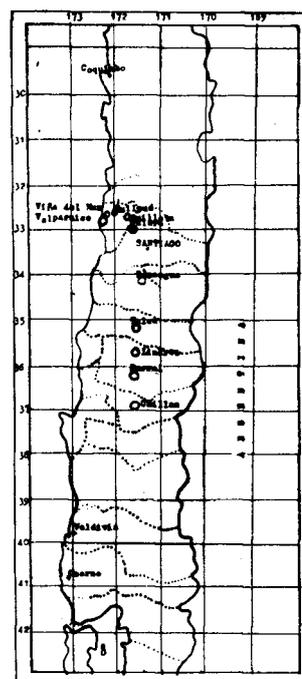


Fig. 1. Carta esquemática de Chile, mostrando en círculos las zonas de colectas.

## RESULTADOS

De un total de 150 muestras de tierra sometidas a estudio, se aislaron 85 cepas de hongos queratinófilos, pertenecientes a 5 géneros diferentes. La tabla 1 muestra las especies y los lugares de donde provenían las muestras.

TABLA I

Especies aisladas	Localidades y número de muestras								
	Valparaíso 6)	Quilpué 3)	Quillota 1)	La Calera 1)	Rancagua 1)	Linares 1)	Parral 5	Chillán 1)	Talca 5
<i>Microsporum gypseum</i>	16	5	1	1	1	—	—	—	—
<i>M. Cookei</i>	2	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Tricophyton ajelloi</i>	8	3	1	1	2	1	—	2	1
<i>T. terrestre</i>	3	2	—	—	—	—	—	1	—
<i>Chrysosporium</i> sp.	2	2	—	—	—	—	—	—	1
<i>C. keratinophilum</i>	0	1	—	1	—	—	—	—	1
<i>C. evolceanui</i>	6	2	—	—	—	—	—	—	—
<i>C. pannorum</i>	5	2	—	—	—	—	—	—	—
<i>C. asperatum</i>	1	1	—	—	—	—	—	—	—
<i>Diheterospora chlamydsosporia</i>	1	—	—	1	—	—	—	—	—
<i>Auxarthron umbrinum</i>	—	—	—	—	1	—	—	—	—

No se incluyeron otros hongos de escaso poder queratinofílico que frecuentemente se encontraron, como *Botryotrichum piluliferum*, *Mucor sp.*, junto a especies del género *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Curvularia* y otros.

Se observó también la aparición espontánea de cleistotecios de *Arthroderma uncinatum* (6 aislamientos), *Nannizzia incurvata* (3 aislamientos) y *Nannizzia cajetani* (1 aislamiento).

Es importante hacer notar que todas las muestras de terreno se obtuvieron en zonas densamente pobladas, especialmente en Valparaíso, Quilpué, Quillota, La Calera y Rancagua, de un total de 100 muestras; mientras las 50 restantes fueron recolectadas en zonas más al sur, correspondientes todas a terrenos rurales y campestres.

#### DISCUSION

En nuestro trabajo la especie *Microsporium gypseum* obtuvo las más elevadas cifras de aislamiento, alcanzando un porcentaje del 16% sobre el total de las muestras analizadas.

Su alta frecuencia es totalmente justificada, debido a la existencia de factores climáticos favorables para su desarrollo y por ser un dermatófito de amplia distribución geográfica, como lo demuestran los porcentajes señalados para Sudamérica por Yarzabal (Colombia, 1960) (11), Costa (Brasil, 1962) (12), Cabrales et al. (Colombia, 1966) (14), Rogers (Colombia, 1971) (13).

Otro representante del género fue la especie *Microsporium cookei* (Fig. 3) hallada dos veces en muestras de suelo de un mismo sector de la ciudad de Valparaíso. Parece ser ésta la primera referencia acerca de la existencia de este dermatófito en Chile, que se describe generalmente en perros, gatos y otros animales silvestres. Existe escasa información sobre el aislamiento de este hongo en esta parte de América (Landro y Ramos, Brasil, 1961) (16) y (Varsavsky, Argentina, 1964) (15). Su baja frecuencia en el suelo es causada seguramente por la existencia de estados nutricionales competitivos de otras especies que no son habitantes normales del sector, y a la presencia

de productos animales contaminantes del mismo (R.G. Rees, 1967) (3).

El aislamiento del *Tricophyton ajelloi* arrojó un porcentaje del 12,6%, colocando a esta especie como una de las más abundantes después del *Microsporium gypseum*, coincidiendo con los resultados obtenidos en casi todo el mundo, especialmente en los climas templados y húmedos (De Vroey, 1970) (17), desempeñando, junto con el *Microsporium gypseum*, una función importante en la digestión de la queratina presente en los suelos. Luis Zaror (10), en el año 1972 obtuvo un elevado porcentaje de *T. ajelloi*, en la zona de Valdivia (sur de Chile), lugar en el cual se dan los factores climáticos propicios para el desarrollo de esta especie. En el mismo año, Ajello, en un trabajo realizado en la isla de Pascua (V Región), obtuvo sólo un aislamiento, comprobándose de esta manera la incidencia de los factores climáticos y ambientales en la distribución geográfica del *T. ajelloi*.

Además se obtuvieron 6 aislamientos de *T. terrestre*, los cuales se presentaron generalmente acompañados de especies del género *Chrysosporium*. La presencia del *C. keratinophilum* (Fig. 2), *evolceanui*, *pannorum* y *asperatum*, especies que se desarrollan rápidamente sobre los substratos queratinicos, otorgan a este género una importancia ecológica basada en su vasta distribución en los suelos y su capacidad de competición con los dermatófitos, por la queratina presente en estos *habitats*.

La presencia de especies del género *Chrysosporium*, asociados frecuentemente con dermatófitos del suelo, es bastante común y tiene un significado incierto y escasamente analizado. T. Benedek (19) obtuvo resultados positivos en la producción partenogénica de cleistotecios fértiles en *Nannizzia incurvata* Stockdale, ya sea con cruzamiento, en ciertas especies de *Chrysosporium*, o incluso utilizando solamente los filtrados de cultivos líquidos de éstos, produciéndose mutantes estables con los derivados de los ascocarpos partenogénicos, generalmente diferentes macroscópicamente y microscópicamente de la especie madre.

Los dermatófitos y los *Chrysosporium* geofílicos no viven en simbiosis con plantas individuales, pero al parecer existe entre ellos una tolerancia mutua, estado que puede calificarse



Fig. 2. Microfotografía de crecimiento en cultivo (Agar Glucosa Sabouraud) de *Chrysosporium keratinophilum*, mostrando conidióforos erectos y aleuriósporas piriformes, 400  $\times$ .

como simbiosis o comensalismo temporal en base a la competencia por la queratina presente en los suelos, presentando una elevada capacidad competitiva que les permite colonizar el sustrato, incluso antes de la llegada de especies microbianas, dependiendo, según Böhme y Ziegler (20), su actividad metabólica (sistemas enzimáticos) de la acidez o alcalinidad de los sustratos, siendo generalmente sus pH óptimos aquellos comúnmente neutros o débilmente alcalinos.

Rees (1967) (3) y Pugh (1966) (21) confirman la importancia del pH de los suelos en la prevalencia de estas especies.

Además la supervivencia del género *Chrysosporium* en su medio natural, es, al parecer, más elevada que el resto de los dermatófitos presentes (I. Alteras, 1961) (22), condicionada su plena adaptación al medio por su calidad de saprófitos estrictos; no conociéndose actualmente patogeneidad alguna ni sobre el hombre ni animales, otorgándoles mayores posi-

bilidades ecológicas, lo cual permitiría, por estas características, el desarrollo mutuo con otros dermatófitos saprófitos o adaptados a esta vía.

Como conclusión podemos señalar la efectividad de la hipótesis de Rees que establece que la aparición de hongos queratinófilos está condicionada más que al *habitat* natural (suelo) y los factores ambientales, a las especies animales presentes en este sistema biológico, los cuales aportarían los sustratos queratinicos más propicios y selectivos para el crecimiento de estas especies.

También informamos del aislamiento de dos cepas de *Diheterospora chlamydosporia* Goddard (Barron y Onions) (23), las cuales se desarrollaron sobre el pelo, junto al *Microsporum gypsum*. No es raro el hallazgo de este género en el suelo (18, 24) a pesar de no ser considerado un queratinófilo.

Utilizamos las siguientes claves micológicas:



Fig. 3. Microfotografía de *Microsporum cookei*. Preparación al fresco con lactofucsina mostrando macro y microconidias. Las macroconidias presentan como característica esencial una gruesa pared, finamente equinulada, 1.000  $\times$ .

Para los *Hyphomycetales* el libro: *Hyphomycetes from soil* de George L. Barron (24).

Para el género *Chrysosporium*, la clasificación de J.W. Carmichael (25). Y el trabajo original de H.S. Randhawa & R.S. Sandhu (26).

Para los *Dermatófitos*, el texto de Rebell y Taplin (27).

Para la especie *Auxarthron umbrinum*, el trabajo original de Orr, Kuehn, & Plunkett (28).

#### SUMMARY

150 soil samples collected from different areas around Chile (Fig. 1) were examined for the presence of keratinophilic fungi by the Orr's technique. The organisms isolated and their frequency are indicated (Table 1): *Tricophyton terrestre* 6; *T. ajelloi* 19; *Chrysosporium* sp. 5; *C. keratinophilum* (Fig. 2), 9; *C. evolceanui* 8; *C. pannorum* 7; *C. asperatum* 2; *Microsporum gypseum* 24; *M. cookei* (Fig. 3), 2.

The perfect stage, *Nannizzia incurvata* 3; *N. cajetani* 1; *Arthroderma uncinatum* 6; *Diheterospora chlamydosporia* 2 and *Auxarthron umbrinum* 1.

Apparently *Microsporum cookei* has been reported for the first time from soil samples in Chile.

The frequent associations between soil's dermatophytes and the Genera *Chrysosporium* is mentioned.

#### REFERENCIAS

1. VANBREUSEGHEM, R., Ann. Soc. Belg. Med. Trop. 32: 173, 1952.
2. PUGH, G.H.F., MATHISON, G.E., Trans. Brit. Mycol. Soc. 45:567, 1962.
3. REES, R.C., Keratinophilic Fungi from Queensland-III. Isolations from eathers of domestic fowls. Sabouraudia, 6: Part 1, 1967.
4. GARG, K.A., Sabouraudia, 4:259, 1966.
5. AL-DOORY, Y., Mycopath. Mycol. appl., 33:105, 1967.
6. PROCHACKI, H.H., BIELUNSKA, S., Acta Micof. 2:345, 1968.
7. VANBREUSEGHEM, R., DE VROEY, CH., Journ. Dermatol. 9, 2:102, 1970.
8. HANNELORE, BÖHME, ZIEGLER, H., Mycopath. Mycol. appl. 38:247, 1969.
9. ORR, G.F., Sabouraudia 7:129, 1969.
10. ZAROR, C.L., Bol. Inst. Bact. S.N.S. 14:31, 1972.
11. YARZABAL, L., MOSTEIRO, J., RIPOLL, C., Arch. Soc. Biol. Montevideo, 25:74, 1960.
12. COSTA, S.O.P., Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 4:378, 1962.
13. ROGERS, A.L., Mycopath. Mycol. appl. 11:261, 1971.
14. CABRALES *et al.*, CARVAJAL, M.T., CARDONA, L.E., CARVAJAL, S.F., RESTREPO, M.A., Antioquia Médica 16:207, 1966.
15. VARSAVSKY, E., Mycopath. Mycol. appl. 22:81, 1964.
16. LANDERO, A.T., RAMOS, C.D., Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo 3:75, 1961.
17. DE VROEY, CH., Extrait de Am. Soc. Belg. Med. Trop., 59:1-174, 1970.
18. AJELLO, L., ELLIOT, M., ALPERT, Mycologia 64:162, 1972.
19. BENEDEK, T., Mycopath. Mycol. appl., 37:194, 1969.
20. BÖHME, H., ZIEGLER, H., Mycopath. Mycol. appl. 38: 284, 1968.
21. PUGH, G.H.F., Sabouraudia, 5:49, 1966.
22. ALTERAS, I., Mycopath. Mycol. appl., vol. 11:2, 177, 1971.
23. BARRON, G.L., ONIONS, H.S., Canad. J. Botany, 44, 1965.
24. BARRON, G.L., Manual of Hyphomycetes from Soil. Williams and Wilkins, Baltimore, 1968.
25. CARMICHAEL, J.W., Canad. Botany, 49:1137, 1962.
26. RANDHAWA, H.S., SANDHU, R.S., Mycopath. Mycol. appl. 29:225, 1963.
27. REBELL and TAPLIN, Dermatophytes their recognition and identification. University of Miami, 1970.
28. ORR, G.F., KUEHN, H.H., PLUNKETT, O.A., Canad. J. Botany, 41:1439, 1963.