

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

**CENTRO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS MICROBIOLÓGICAS- ICUAP
LABORATORIO DE MICOLOGÍA**

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



SEMINARIO DE RESULTADOS

**DIVERSIDAD DE DERMATOFITOS Y HONGOS QUERATINOFÍLICOS NO
DERMATOFÍTICOS EN SUELOS DE COAHUILA Y GUERRERO, MÉXICO**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

**PRESENTA
CÉSAR ISRAEL LÓPEZ REYNOSO**

**DIRECTOR
D. C. RICARDO MUNGUÍA PÉREZ**

**ASESOR INTERNO
M. S. P. MARÍA DE LA CRUZ MENESES SÁNCHEZ**

PUEBLA, PUE.

MARZO 2016

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. El suelo.....	5
2.2. Queratina.....	5
2.3. Hongos queratinofílicos y queratinolíticos.....	5
2.4. Dermatofitos.....	6
2.4.1. Género <i>Epidermophyton</i>	7
2.4.2. Género <i>Microsporum</i>	7
2.4.3. Género <i>Trichophyton</i>	7
2.4.4. Dermatofitosis.....	9
-2.5. Hongos queratinofílicos no dermatofílicos.....	9
2.5.1. <i>Chrysosporium</i> sp.....	10
2.5.2. <i>Fusariums</i> sp.....	10
2.5.3. <i>Chaetomium</i> sp.....	10
2.5.4. <i>Aspergillus</i> sp.....	11
2.5.5. <i>Sepedonium</i> sp.....	11
2.5.6. <i>Phialophora</i> sp.....	11
2.5.7. <i>Verticillium</i> sp.....	11
2.5.8. <i>Acremonium</i> sp.....	12
2.5.9. <i>Penicillium</i> sp.....	12
2.5.10. Hialohifomicosis y feohifomicosis.....	12
2.6. Actinomicetos.....	13
2.6.1. Género <i>Nocardia</i>	13
2.6.2. Género <i>Streptomyces</i>	13
2.7. Diversidad fúngica.....	13
2.8. Determinación de la diversidad.....	14
2.8.1. Índice de Simpson.....	14
2.8.2. Coeficiente de comunidades de Sorensen.....	15
3. MARCO DE REFERENCIA	16
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
5. JUSTIFICACIÓN.....	19
6. OBJETIVO GENERAL.....	20
7. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
8. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	21
9. METODOLOGÍA.....	22
9.1. Técnica del anzuelo de queratina de Vanbreuseghem.....	24
9.2. Identificación de dermatofitos y hongos queratinofílicos no dermatofílicos..	25
9.3. Identificación de actinomicetos.....	26
9.4. Medición del pH.....	28
10. DIAGRAMA DE TRABAJO.....	29
11. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
12. CONCLUSIONES.....	36
13. BIBLIOGRAFÍA.....	37
14. ANEXOS.....	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las especies de los dermatofitos.....	8
Tabla 2. Clasificación de los dermatofitos en función de su hábitat natural.....	8
Tabla 3. Clasificación de las dermatofitosis o tiñas.....	9
Tabla 4. Muestras de suelos positivas a aislamiento de microorganismos (Coahuila).	30
Tabla 5. Valores de pH de las muestras y porcentaje de aislamientos (Coahuila).....	30
Tabla 6. Muestras de suelos positivas a aislamiento de microorganismos (Guerrero).	32
Tabla 7. Valores de pH de las muestras y porcentaje de aislamientos (Guerrero).....	32
Tabla 8. Identificación bioquímica para actinomicetos.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICOS

Figuras 1-3. Dermatofitos.....	7
Figuras 4-12. Hongos queratinofílicos no dermatofílicos.....	10
Figuras 13-14. Actinomicetos.....	13
Figuras 15-16. Puntos de muestreo.....	22
Figura 17. Ubicación geográfica de las regiones correspondientes a la toma de muestra.....	23
Figura 18. Desarrollo de la técnica del anzuelo de queratina.....	24
Figura 19. Microcultivo.....	25
Figuras 20-21. Reacciones de las pruebas bioquímicas.....	27
Figuras 22-24. Medición del pH de las muestras de suelo.....	28
Figuras 25-34. Fotografías de los hongos aislados.....	34
Figuras 35-38. Pruebas bioquímicas.....	35
Figura 39. Similitud de microorganismos queratinofílicos entre las zonas de muestreo.....	37
Gráfico 1. Dominancia de los microorganismos aislados en muestras de Coahuila....	31
Gráfico 2. Dominancia de los microorganismos aislados en muestras de Guerrero....	32
Gráfico 3. Comparación de la composición de especies entre las zonas de muestreo...	33

INTRODUCCIÓN

México es un país con una amplia diversidad de hongos, conociéndose muy poco sobre dicha diversidad fúngica y su distribución, el estado de Veracruz es el más conocido en cuanto a la diversidad y distribución de hongos en el país. El conocer la diversidad, no sólo de hongos, sino de todas las especies es una referencia que puede ser utilizada para medir el impacto de la humanidad sobre los ecosistemas.

Recientemente la distribución de dermatofitos y otros hongos queratinofílicos en suelos ha mostrado interés mundial, puesto que cada vez emergen nuevos microorganismos patógenos que eran considerados como saprófitos.

Ya que el suelo representa un importante reservorio de estos microorganismos resulta interesante conocer su distribución en este tipo de hábitats. La técnica del anzuelo de queratina de Vanbreuseghem permite aislar del suelo aquellos microorganismos con cierta afinidad por la queratina como lo son los dermatofitos, otros hongos queratinofílicos no dermatofílicos y actinomicetos. La presencia de este tipo de hongos en los suelos depende de diversos factores propios del suelo, como físicos y químicos, así como de la región, es decir, el clima y la presencia de plantas, animales y humanos.

El siguiente trabajo pretende analizar la diversidad de dermatofitos, hongos queratinofílicos no dermatofílicos y actinomicetos recuperados de muestras de suelos de dos regiones de los estados de Coahuila y Guerrero por la técnica del anzuelo de queratina, para aportar información sobre su distribución en estos sitios del país.

MARCO TEÓRICO

El suelo

El suelo está conformado por la totalidad de organismos vivientes que lo habitan, incluyendo plantas, animales y microorganismos, así como por los componentes abióticos. Ya que el suelo provee un tremendo rango de hábitats, éstos soportan una enorme biomasa y albergan gran parte de la diversidad genética de la Tierra. Se estima que un solo gramo de suelo contiene más de 200 metros de hifas fúngicas y de 6 000 a 50 000 especies de bacterias (Van Der Heijden *et al.* 2008).

La estructura y actividad de la comunidad microbiana depende en gran parte del estado del suelo. Dentro de un hábitat de suelo, la profundidad, niveles de oxígeno, disponibilidad de nutrientes, humedad y pH cambian entre los tipos de suelos (Balser *et al.* 2010).

Queratina

La queratina es una proteína fibrilar, es mecánicamente rígida y químicamente poco reactiva, debe su fuerza a los numerosos enlaces disulfuro que se originan entre los residuos de cisteína de distintas cadenas (Sharma & Rajak, 2003). Es insoluble en agua, propiedad debida a la elevada concentración de residuos aminoácidos hidrofóbicos presentes tanto en el interior de la proteína como en su superficie (Nelson & Cox, 2005).

La queratina se clasifica en α -queratina y β -queratina según la conformación estructural que presenta, siendo la primera la que se encuentra en mamíferos y la segunda en aves y reptiles. Es el componente principal de la capa córnea externa de la epidermis que constituye el 85% de la proteína celular y sus apéndices relacionados, como el pelo, cuernos, uñas, pezuñas, garras, lana, plumas y picos (Voet & Voet, 2006).

Debido a la fuerza y estabilidad de la queratina, muy pocos organismos son capaces de descomponerla y utilizarla como fuente de carbono y nitrógeno, sólo unos pocos insectos, bacterias, actinomicetos y hongos son capaces de usarla como recurso (Logaprabha & Selvi, 2012).

Hongos queratinofílicos y queratinolíticos

En general los hongos queratinofílicos son un grupo de hongos que colonizan diversos sustratos queratinizados y los degradan en componentes de bajo peso molecular; de esta forma juegan un importante rol en la ecología al degradar este tipo de sustratos (Malek *et al.* 2013). Los hongos queratinolíticos son aquellos que pueden descomponer la queratina y existen en comunidad junto con otros hongos queratinofílicos que poseen una afinidad más débil con la queratina y que utilizan principalmente los productos de su descomposición (Rizwana *et al.* 2012). Los suelos que son ricos en materiales queratinosos son los más propicios para la aparición y el crecimiento de hongos queratinofílicos. Su distribución es variable en el medio ambiente y depende de diferentes factores, tales como la presencia humana y o animal (Rizwana *et al.* 2012).

Este grupo de hongos queratinofílicos incluye a los dermatofitos, y otros hongos no dermatofílicos como hongos saprofitos (Javoreková *et al.* 2012).

Dermatofitos

Los dermatofitos son un grupo de hongos filamentosos relacionados morfológica y fisiológicamente, algunos de los cuales pueden causar infecciones bien definidas en humanos y animales: dermatofitosis, tiñas o tineas. Los dermatofitos son cosmopolitas, aunque algunas especies se encuentran limitadas geográficamente en ciertas zonas (Philpot, 1978). Poseen dos importantes características, son hongos queratinofílicos y queratinolíticos (Simpanya, 2000). Pertenecen a los géneros *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton* (Tabla 1).

Se han clasificado en tres categorías de acuerdo a su hábitat natural “antropofílicos” cuando los seres humanos son los huéspedes naturales, “zoofílicos” aquellos cuyos huéspedes naturales son animales y “geofílicos” aquellos que habitan normalmente el suelo, pueden infectar tanto a humanos como animales (Malek *et al.* 2013) (Tabla 2). La prevalencia de los dermatofitos en suelos depende de varios factores bióticos y abióticos como el pH, temperatura, humedad, el clima y la composición química, así como la cantidad de materia orgánica presente (Abu Shaqra *et al.* 2012). Por otra parte la presencia de dermatofitos en suelos puede ser un reservorio para la infección de humanos (Mahmoudabadi & Zarrin, 2008).

Todos los dermatofitos poseen la habilidad de digerir la queratina *in vitro* en su estado saprofítico y algunos pueden utilizarla como sustrato *in vivo* y provocar varios tipos de dermatofitosis (Abu Shaqra *et al.* 2012). Sin embargo, la morfología que presentan en la fase de crecimiento parasitario es diferente de la que se exhibe en medios de cultivo o *in vitro*, estos se denominan estados “Teleomórficos” y “Anamórficos” respectivamente (Simpanya, 2000).

Estado anamórfico

Los dermatofitos como saprófitos se reproducen asexualmente mediante simple esporulación de arto, micro y macroconidios producidos a partir de células conidiógenas especializadas. Los dermatofitos se clasifican en tres géneros anamórficos: *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton*. Estos géneros pertenecen a los Hifomicetos y al filo Deuteromycota, conocidos como deuteromicetos u hongos imperfectos (Weitzman & Summerbell, 1995; Molina *et al.* 2010).

Estado teleomórfico

Algunos dermatofitos, en su mayoría las especies zoofílicas y geofílicas de *Microsporum* y *Trichophyton*, también son capaces de reproducirse sexualmente y producir ascomas con ascos y ascosporas. Estas especies se clasifican en el género teleomórfico *Arthroderma*, al orden Onygenales, filo Ascomycota (Weitzman & Summerbell, 1995; Molina *et al.* 2010).

Género *Epidermophyton*

La especie tipo es *Epidermophyton floccosum*. El género incluye sólo dos especies (Tabla 2). Las colonias son de crecimiento lento, de aspecto pulverulento de color amarillento parduzco característico. Se caracteriza por grandes macroconidios que son de paredes delgadas, lisos, presentan de uno a nueve septos, son abundantes y se encuentran individualmente o en racimos. El género está desprovisto de microconidios (Weitzman & Summerbell, 1995; Lakshmipathy & Kannabiran, 2010; Simpanya, 2000).



Fig 1. *Epidermophyton floccosum*

Género *Microsporum*

La especie tipo es *Microsporum audouinii*. El género incluye 16 especies. La morfología colonial es aterciopelada o pulverulenta con pigmentación blanca o café. Producen tanto micro como macroconidios, siendo éstos los más predominantes, encontrándose aislados o en racimos. Los macroconidios poseen la forma de un huso, son de paredes gruesas, tienen de 1 a 15 septos según la especie. Los macroconidios son equinulados, lo que lo diferencia de *Trichophyton* y *Epidermophyton*. No presentan ningún requerimiento nutricional especial. (Weitzman & Summerbell, 1995; Lakshmipathy & Kannabiran, 2010; Moreno *et al.* 2009; Singh *et al.* 2008).



Fig. 2. *Microsporum canis*

Género *Trichophyton*

La especie tipo es *Trichophyton tonsurans*. El género incluye cerca de 30 especies. Las colonias en medios de cultivo son pulverulentas, aterciopeladas o cerasas, al reverso pueden presentar una pigmentación rojiza o marrón. Microscópicamente, se presentan micro y macroconidios, aunque estos suelen ser escasos y algunas especies raramente los producen. Los macroconidios se disponen individualmente, casi nunca agrupadas, poseen una pared fina y lisa, se pueden presentar con forma de cigarro, huso o cilindro y presentan de 1 a 2 septos. Los microconidios son abundantes, pueden ser globosos, piriformes o clavatos y se disponen individualmente a lo largo de las hifas o en racimos. Algunas especies del género poseen requerimientos nutricionales exigentes respecto a los aminoácidos como fuente de nitrógeno, *T. tonsurans* requiere de ornitina y arginina, mientras que *T. mentagrophytes* requiere metionina. (Weitzman & Summerbell, 1995; Molina *et al.* 2010; Simpanya, 2000; Lakshmipathy & Kannabiran, 2010).

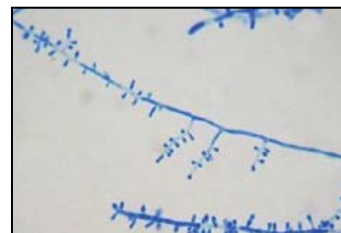


Fig. 3. *Trichophyton tonsurans*

Tabla 1. Clasificación de las especies de los dermatofitos.

Género <i>Epidermophyton</i>	Género <i>Microsporum</i>	Género <i>Trichophyton</i>	
<i>E. floccosum</i>	<i>M. amazonicum</i>	<i>T. ajelloi</i>	<i>T. mentagrophytes</i>
<i>E. stockdaleae</i>	<i>M. audouinii</i>	<i>T. concentricum</i>	<i>T. phaseoliforme</i>
	<i>M. boullardii</i>	<i>T. equinum</i>	<i>T. quickeanum</i>
	<i>M. canis</i>	<i>T. eboreum</i>	<i>T. raubitschekii</i>
	<i>M. cookei</i>	<i>T. erinacei</i>	<i>T. rubrum</i>
	<i>M. equinum</i>	<i>T. fischeri</i>	<i>T. sarkisorii</i>
	<i>M. ferrugineum</i>	<i>T. flavescens</i>	<i>T. schoenleinii</i>
	<i>M. fulvum</i>	<i>T. fluviomuniense</i>	<i>T. simii</i>
	<i>M. gallinae</i>	<i>T. gallinae</i>	<i>T. soudanense</i>
	<i>M. gypseum</i>	<i>T. gloriae</i>	<i>T. terrestre</i>
	<i>M. nanum</i>	<i>T. gourvillii</i>	<i>T. tonsurans</i>
	<i>M. praecox</i>	<i>T. interdigitale</i>	<i>T. vanbreuseghemii</i>
	<i>M. persicolor</i>	<i>T. kanei</i>	<i>T. verrucosum</i>
	<i>M. racemosum</i>	<i>T. krajdinii</i>	<i>T. violaceum</i>
	<i>M. ripariae</i>	<i>T. longifusum</i>	<i>T. yaounde</i>
	<i>M. vanbreuseghemii</i>	<i>T. megninii</i>	

Basado en Molina *et al.* 2010.

Tabla 2. Clasificación de los dermatofitos en función de su hábitat natural.

Geofílicos	Zoofílicos	Antropofílicos
<i>E. stockdaleae</i>	<i>M. canis</i> (gato, perro, caballo)	<i>E. floccosum</i>
<i>M. amazonicum</i>	<i>M. equinum</i> (caballo)	<i>M. audouinii</i>
<i>M. boullardii</i>	<i>M. gallinae</i> (aves de corral)	<i>M. ferrugineum</i>
<i>M. cookei</i>	<i>M. fulvum</i>	<i>T. concentricum</i>
<i>M. gypseum</i>	<i>M. nanum</i> (ganado porcino)	<i>T. gourvillii</i>
<i>M. praecox</i>	<i>M. persicolor</i> (ratón de campo)	<i>T. kanei</i>
<i>M. racemosum</i>	<i>T. equinum</i> (caballo)	<i>T. megninii</i>
<i>M. ripariae</i>	<i>T. mentagrophytes</i> var. <i>mentagrophytes</i> (roedores, perro)	<i>T. mentagrophytes</i>
<i>M. vanbreuseghemii</i>	<i>T. mentagrophytes</i> var. <i>erinacei</i> (erizo)	<i>T. raubitschekii</i>
<i>T. ajelloi</i>	<i>T. mentagrophytes</i> var. <i>quickeanum</i> (ratón)	<i>T. rubrum</i>
<i>T. flavescens</i>	<i>T. sarkisorii</i> (camello)	<i>T. schoenleinii</i>
<i>T. gloriae</i>	<i>T. simii</i> (mono)	<i>T. soudanense</i>
<i>T. longifusum</i>	<i>T. verrucosum</i> (ganado vacuno, oveja, dromedario)	<i>T. tonsurans</i>
<i>T. phaseoliforme</i>		<i>T. violaceum</i>
<i>T. terrestre</i>		<i>T. yaounde</i>
<i>T. vanbreuseghemii</i>		

Modificado de Rubio *et al.* 1996; Molina *et al.* 2010.

Dermatofitosis

Las dermatofitosis son enfermedades caracterizadas por la infección de tejidos queratinizados como la epidermis, cabello y uñas, provocadas por *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton* (Bathia & Sharma, 2014). Estas infecciones están entre las enfermedades más comunes en todo el mundo y causan grave morbilidad crónica (Moritarty *et al.* 2012).

Para provocar la infección, los dermatofitos deben pasar por las etapas de adhesión e invasión, en este último paso la secreción de enzimas como proteasas, lipasas y celulasas, es vital para la obtención de nutrientes, como carbono, nitrógeno, fósforo y azufre, para el desarrollo y supervivencia de los dermatofitos (Uribe & Cardona, 2013; Chinnapun, 2015). Las dermatofitosis se clasifican de acuerdo al sitio de parasitación de los dermatofitos (Cuadro 1) y su frecuencia de presentación es la siguiente: tiña de la cabeza 4-10%, del cuerpo 15%, de la ingle 4%, de la mano 2%, de los pies 30-45%, de las uñas 30% (Padilla, 2003).

Tabla 3. Clasificación de las dermatofitosis o tiñas.	
I.	Tiñas de la piel pilosa <ul style="list-style-type: none">▪ Tiña de la cabeza▪ Tiña de la barba y bigote
II.	Tiña de la piel lampiña o glabra <ul style="list-style-type: none">▪ Tiña de la cara▪ Tiña del cuerpo▪ Tiña inguinocrural▪ Tiña de la mano▪ Tiña del pie
III.	Tiña de las uñas <ul style="list-style-type: none">▪ Tiña unguium

Modificado de Sánchez et al. 2009.

Hongos queratinofílicos no dermatofílicos

El suelo es considerado como el reservorio de la mayoría de los microorganismos patógenos, incluyendo a los dermatofitos y hongos no dermatofílicos (Oyeka & Okoli, 2002; Mahmoudabadi & Zarrin, 2008). Diversos hongos queratinofílicos habitantes del suelo se reportan de casi todos los hábitats del mundo a la vez que varios hongos queratinofílicos con potencial patógeno emergen rápidamente (Singh *et al.* 2009).

Este grupo de hongos incluye especies de hongos filamentosos representados principalmente por hialohifomicetos entre otros grupos taxonómicos así como algunos hongos levaduriformes. Entre los hongos más comunes de este grupo se encuentran especies de *Chrysosporium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Scopulariopsis*, *Curvularia* y *Alternaria* que son saprófitos comunes en el suelo, patógenos de plantas y algunos considerados como causantes de micosis oportunistas en pacientes inmunocomprometidos. Algunas de esas especies son capaces de producir una amplia variedad de micosis como hialohifomicosis y feohifomicosis, entre otras (Gugnani, 2000; Munguía *et al.* 2011; Pakshir *et al.* 2013).

***Chrysosporium* sp.**

El género está compuesto por 28 especies reconocidas, la mayoría son se encuentran como saprobios en suelos, muchas especies son queratinofílicas y están involucradas en ciclar sustratos queratinizados en el suelo; algunas especies pueden causar infecciones en la piel y onicomicosis en humanos. Las colonias son muy similares a las de los dermatofitos, crecen moderadamente a 25°C y algunas especies pueden crecer a 37°C. Las hifas presentan septos y producen microconidios que nacen a lo largo de las hifas. (Dongyou, 2011; Rajendra, 2000).



Fig. 4. *Chrysosporium* sp.



Fig. 5. *Fusarium* sp.

***Fusarium* sp.**

El género incluye 200 especies habitantes del suelo, algunas son capaces de causar enfermedades en plantas, insectos, reptiles y humanos. El género está ampliamente distribuido al redor del mundo. Se caracteriza por la presencia de hifas hialinas y por la presencia de macroconidios con forma de canoas hialinas. (Gugnani, 2000; Costa & Menezes, 2006).

***Chaetomium* sp.**

El género comprende alrededor de 35 especies, estas son saprobias del suelo, se puede encontrar en desechos de plantas, semillas, plumas, etc. Crecen rápidamente a 25°C y pueden crecer hasta a 45°C. Son hongos dematiáceos, presentan hifas septadas y la producción de peritecios grandes y globosos con apéndices con forma de cabellos, que contienen en su interior ascosporas. Puede ocasionar feohifomicosis, peritonitis, lesiones cutáneas, onicomicosis hasta micosis sistémicas fatales (Dongyou, 2011).

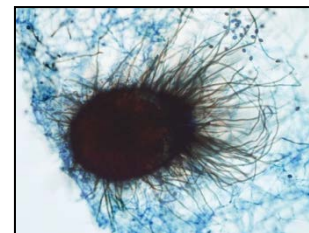


Fig. 6. *Chaetomium* sp.

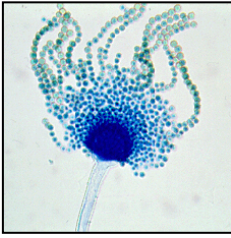


Fig. 7. *Aspergillus* sp.

***Aspergillus* sp.**

Este género es uno de los más abundantes en la naturaleza y puede encontrarse en cualquier ambiente. Las especies de *Aspergillus* están ampliamente distribuidas en la naturaleza, se encuentran en el suelo, descomponiendo materia y en el polvo. Son hongos filamentosos hialinos, que presentan conidióforos a los que están unidas las esporas. Pueden crecer en un amplio rango de temperatura de 0°C-45°C. Algunas especies están relacionadas con infecciones de la piel en humanos e intoxicaciones alimentarias (Gugnani, 2000; Bonifaz, 2010; Martínez & Hernández, 2013).

***Sepedonium* sp.**

El género consiste en hongos ampliamente distribuidos en el ambiente; produce conidióforos simples o ramificados, los conidios se encuentran en los extremos de forma aislada o en racimos que pueden ser circulares u ovalados, lisos o equinulados, es extremadamente parecido a *Histoplasma capsulatum*. Las especies son organismos del suelo y algunos pueden parasitar otros hongos. Se aísla frecuentemente en el laboratorio clínico ya que puede ocasionar infecciones en humano (Norihiro *et al.* 2014; McGinnis, 1980).



Fig. 8. *Sepedonium* sp.



Fig. 9. *Phialophora* sp.

***Phialophora* sp.**

El género contiene aproximadamente 16 especies reconocidas y comprende hongos filamentosos dematiáceos. Son organismos habitantes del suelo, plantas y comida en descomposición. Presenta hifas hialinas a marrones, conidióforos cortos y conidios unicelulares, las fiálides son características del género, las colonias son de crecimiento lento y de color verde oliváceo a negro. Varias especies son agentes causales de infecciones en humanos como cromoblastomycosis (McGinnis, 1980).

***Verticillium* sp.**

El género contiene especies que habitan el suelo y que pueden ser patógenos de humanos. Los miembros del género producen conidióforos erectos que pueden ser hialinos o ligeramente pigmentados y son simples o ramificados, las ramificaciones se presentan de forma verticilada, de las cuales se proyectan las fiálides que contienen conidios (McGinnis, 1980).

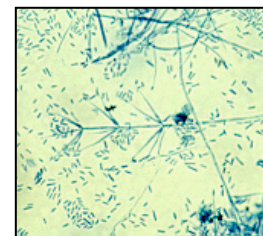


Fig. 10. *Verticillium* sp.



Fig. 11. *Acremonium* sp.

***Acremonium* sp.**

El género incluye hongos saprófitos aunque en algunas ocasiones son causantes de infecciones en humanos. Las colonias varían del blanco al gris y rosa, de aspecto húmedo a seco y de lento crecimiento. Se distingue por la presencia de fiálides hialinas, solitarias y erectas en cuyos extremos se encuentra un cúmulo de conidios globosos o cilíndricos (Cornejo *et al.* 2007; Dongyou, 2011).

***Penicillium* sp.**

El género contiene aproximadamente 225 especies. *Penicillium* es uno de los hongos más comunes, encontrados en un diverso rango de hábitats como el suelo, vegetación, aire y varios productos alimenticios. Algunas especies se relacionan con infecciones en humanos, sobretodo en pacientes inmunocomprometidos. El género se caracteriza por el desarrollo de conidióforos erectos, usualmente ramificados, lisos o rugosos, hialinos o pigmentados. De las ramificaciones surgen métulas y del extremo de éstas las fiálides que contienen conidios en cadenas (McGinnis, 1980; Visagie *et al.* 2014).

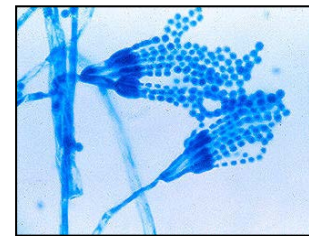


Fig. 12. *Penicillium* sp.

Hialohifomicosis

Las micosis englobadas en este grupo, son muy heterogéneas, que comparten únicamente la presencia de hifas hialinas (sin pigmento en la pared) en los tejidos afectados. Este término se utiliza como contraparte a la expresión feohifomicosis. El término hialohifomicosis es clínicamente útil cuando se observan los hongos hialinos en la histopatología sin recuperación de un patógeno. Cuando el agente causal es recuperado, por ejemplo *Fusarium solani*, un término más específico como fusariosis puede ser usado. El número de organismos causales de hialohifomicosis va en aumento e incluye a *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Scedosporium* spp, *Acremonium* spp., *Aspergillus* spp. y *Scopulariopsis* spp, entre otros. Pueden ocurrir infecciones localizadas en pacientes sanos (usualmente después de un traumatismo) mientras que en pacientes inmunocomprometidos tienden a ser infecciones diseminadas (Anaissie, McGinnis & Pfaller 2009).

Feohifomicosis

Este término describe a un grupo de infecciones causadas por hongos filamentosos que contienen melanina en sus células. El prefijo “feo” (oscuro) hace alusión al color de dichos hongos denominados dematiáceos. Dentro de este grupo se han descrito más de 60 géneros implicados en una amplia variedad de síndromes clínicos que van desde absceso cerebral o enfermedad diseminada mortal. Entre los géneros implicados están *Scedosporium*, *Exophiala*, *Phialophora*, *Curvularia* y *Alternaria* entre otros (Frasquet *et al.* 2014).

Actinomicetos

Los actinomicetos aerobios son un grupo variado de bacterias gram positivas, ramificadas, filamentosas y de relativo crecimiento lento que pertenecen al orden de los *Actinomycetales*. Los mayores grupos de este orden son los géneros *Actinomadura*, *Actinomyces*, *Nocardia*, y *Streptomyces*. Es bien sabido que actinomicetos aerobios se encuentran abundantemente en suelos y pueden causar infecciones oportunistas en humanos y en animales. (Malek *et al.* 2013).

Son importantes en la naturaleza, principalmente debido a su capacidad para descomponer muchos compuestos complejos como proteínas, pectinas, celulosa, hemicelulosa, ligninas y quitinas, entre otros (Golinkska & Dahm, 2011).

Nocardia sp.

Es una bacteria filamentososa, gram positiva, aerobia, de crecimiento lento perteneciente a la familia Actinomycetaceae. Ácido alcohol resistente. Es Las especies de *Nocardia* son actinomicetos aerobios saprófitos ampliamente distribuidos en agua, suelo, polvo y restos vegetales; puede ocasionar enfermedades, de las cuales, la nocardiosis pulmonar suele ser la más común (Muricy *et al.* 2014).



Fig. 13. *Nocardia* sp.

Streptomyces sp.

El género contiene más de 600 especies, contiene el mayor número de especies de cualquier género en el dominio Bacteria. Son bacterias ramificadas que exhiben diversas estructuras, son negativas ante la tinción de ácido alcohol resistencia. *Streptomyces* se encuentra entre las bacterias más numerosas y ubicuas del suelo, ambiente en el que es crucial debido al amplio rango de procesos que realiza, como degradación de restos insolubles de otros organismos como celulosa y quitina haciendo a *Streptomyces* un organismo central en el reciclado del carbono (Santhanam *et al.* 2013; Bentley *et al.* 2002).



Fig. 14. *Streptomyces* sp.

Diversidad fúngica

Los hongos son microorganismos eucarióticos que desempeñan funciones ecológicas fundamentales como saprófitos, mutualistas o patógenos de plantas y animales. Los hongos se encuentran ampliamente distribuidos en todos los ecosistemas terrestres, pero la distribución de las especies ha sido pobremente documentada (Tedersoo *et al.* 2014). Dentro de los procesos ecológicos juegan diversos roles como el ciclo de nitrógeno y carbono y la formación del suelo (Van Der Heijden *et al.* 2008).

El reino de los hongos es uno de los grupos más diversos de organismos en la Tierra, comprenden aproximadamente unas cien mil especies descritas, pero se estima que el alcance real de la diversidad fúngica mundial corresponde de 0.8 a 5.1 millones de especies (Tedersoo *et al.* 2014).

Determinación de la diversidad

En cada unidad geográfica, en cada paisaje, se encuentran un número variable de comunidades. Por ello, para comprender los cambios de la biodiversidad con relación a la estructura del paisaje, la separación de los componentes alfa (α), beta (β) y gamma (γ) puede ser de utilidad, principalmente para medir y monitorear los efectos de las actividades humanas. La diversidad α es la riqueza de especies de una comunidad particular a la que consideramos homogénea, la diversidad β es el grado de cambio o reemplazo en la composición de especies entre diferentes comunidades en un paisaje, y la diversidad γ es la riqueza de especies del conjunto de comunidades que integran un paisaje, resultado tanto de las diversidades α y β (Moreno, 2001).

Existen índices para medir la diversidad que están influenciados por la abundancia de las especies más comunes. Dichos índices son conocidos como índices de dominancia y son parámetros inversos al concepto de equidad de la comunidad. Toman en cuenta la representatividad de las especies con mayor valor de importancia sin evaluar la contribución del resto de las especies. El Índice de Simpson es una de las medidas de diversidad más significativas y robustas disponibles. En esencia captura la varianza de la distribución de las especies. (Magurran, 2004; Moreno, 2001).

- **Índice de Simpson**

Donde:

D= índice de Simpson

p_i = abundancia proporcional de la especie i , es decir, el número de individuos de la especie i dividido entre el número total de individuos de la muestra.

Manifiesta la probabilidad de que dos individuos tomados al azar de una muestra sean de la misma especie. Está fuertemente influido por la importancia de las especies más dominantes. Su valor va de 0 a 1. Ya que al aumentar el valor de D la diversidad disminuye, la diversidad puede calcularse como 1-D.

$$\begin{array}{ccc} \boxed{D = \sum p_i^2} & \Rightarrow & \boxed{D = \sum \left(\frac{n_i [n_i - 1]}{N [N - 1]} \right)} \\ & & \downarrow \\ \boxed{D = \left(\frac{n_a [n_a - 1]}{N [N - 1]} \right) + \left(\frac{n_b [n_b - 1]}{N [N - 1]} \right) + \left(\frac{n_c [n_c - 1]}{N [N - 1]} \right) \dots} & & \end{array}$$

Los índices de similitud expresan el grado de en el que dos regiones son semejantes por las especies presentes en ellas, por lo que son una medida inversa a la diversidad beta, que se refiere al cambio de especies entre dos regiones. El Coeficiente de Similitud o coeficiente de Comunidades de Sorensen relaciona el número de especies en común con la media aritmética de las especies en ambos sitios (Magurran, 2004; Moreno, 2001).

- **Coeficiente de comunidades de Sorensen**

Donde:

CC= coeficiente de comunidades de Sorensen

2c= número de especies comunes en las dos comunidades

S₁= número de especies de la comunidad 1

S₂= número de especies de la comunidad 2

Mide las similitudes entre dos comunidades por su composición de especies basado en la presencia-ausencia de las especies. Su valor va de 0 a 1, para una mejor interpretación puede expresarse en porcentaje.

$$CC = 2c / (S_1 + S_2)$$

MARCO DE REFERENCIA

En Iran, Malek y cols., en 2013 determinan la diversidad de actinomicetos aerobios y hongos queratinofílicos en muestras de suelo de 22 parques de la provincia de Gorgan. Entre 244 muestras, 195 resultaron positivas (79.91%), Los aislamientos más frecuentes corresponden a *M. gypseum* (62), *Aspergillus* spp. (43), *Chrysosporium* spp. (38); *N. asteroides* (21) y *N. brasiliensis* (17). Encontrando otras especies en menor proporción como: *Rhizopus* spp., *Verticillium* spp., *Sepedonium* spp. y *Fusarium* spp., entre otras.

En Irán, Pakshir y cols., en 2013, realizan la búsqueda de hongos queratinofílicos no dermatofílicos en parques públicos en Shiraz a través de la técnica del anzuelo de queratina. Obteniendo 411 aislamientos pertenecientes a 22 géneros; siendo *Fusarium* 95 (23,8%), *Chrysosporium* 54 (13,13%) y *Acremonium* 52 (12,65%) los más predominantes, encontrando otros géneros como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Phialophora* y *Verticillium*. Concluyen después de medir el pH de las muestras que la mayoría de los hongos fue aislada de los suelos con un rango de pH de 7 a 8.

En Jordania, Abu Shaqra y cols., en 2012 realizan una investigación de dermatofitos en los tres tipos de regiones geográficas del país que comprenden montañas, valles y desiertos, obteniendo 10 muestras de cada región que fueron estudiadas por la técnica del anzuelo de queratina. Demostrando que el suelo del desierto no presentaba dermatofitos, mientras que 9 y 6 muestras resultaron positivas de las montañas y los valles respectivamente. De 42 aislados, 24 cepas pertenecieron a *Microsporum* y 18 a *Trichophyton*. Se identificaron sólo seis especies (*M. gypseum* (12), *M. cookei* (5), *T. mentagrophytes* (9), *T. terrestre* (9), *M. nanum* (3) y *M. fulvum* (4) lo que indica una baja diversidad de dermatofitos en las zonas estudiadas.

En Arabia Saudita, Rizwana y cols., en 2012 investigan la incidencia de dermatofitos y hongos relacionados en parques públicos, zonas de juegos, y alrededores de los recintos de animales en un zoológico de Riyadh. De un total de 80 muestras, 69 (86%) resultaron positivas, correspondiendo a once géneros y 19 especies; resaltando *C. indicum* (27), *A. flavus* (14), *M. gypseum* (11), y *T. mentagrophytes* (7). Encontrando otras especies como: *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus stolonifer* y *Scopulariopsis brevicaulis*.

En Eslovaquia, Javoreková y cols., en 2012 seleccionan tres praderas de pastoreo y una de no pastoreo en parques nacionales para estudiar la distribución de hongos queratinofílicos y queratinolíticos. De 16 muestras de suelo, obtuvieron 939 aislamientos de 11 géneros y 15 especies. Encontrando la presencia de hongos queratinofílicos en todas las muestras de suelo y predominando *T. ajelloi* (727) y *Paecilomyces lilacinus* (93), este grupo de hongos fue más abundante en las zonas de pastoreo en comparación con la zona de no pastoreo.

En México, Munguía y cols., en 2011 determinan la diversidad fúngica de interés clínico en muestras de suelo de cuatro comunidades del municipio de Huauchinango, Puebla; considerado como área endémica de algunas micosis superficiales. Encontrando un total de 14 especies diferentes, entre las que resaltan *T. mentagrophytes* (5), *T. rubrum* (3), *T. tonsurans* (1), *M. canis* (1), *Paecilomyces* sp. (6), *Scopulariopsis* sp. (2), *Fusarium* sp. (1), *Humicola* sp. (1) y *Phialophora verrucosa* (1).

En Brasil, Da Silva y Oliveira, en 2008 investigan la presencia de dermatofitos en 68 muestras de suelo de favelas (31), escuelas (19), plazas (12) y lotes baldíos (1) en Paraíba relacionando la presencia de éstos con el pH de las muestras. Obteniendo 48 cepas pertenecientes a seis especies distintas de dermatofitos *T. mentagrophytes* (18), *T. terrestre* (12), *M. gypseum* (10), *T. verrucosum* (5), *T. tonsurans* (2) y *A. gypsea* (1). Concluyendo que los dermatofitos se presentaban con mayor frecuencia en suelos con pH alcalinos (7-9).

En Pakistán, Fozia y cols., en 2007 investigan la presencia de hongos queratinofílicos en 40 muestras de suelo del Distrito Jamshoro provenientes de cercanías de una autopista, estación, colegio y universidad. Identificando once especies de hongos queratinofílicos, entre las que resaltan: *A. niger* (738), *A. flavus* (500), *A. fumigatus* (66), *M. gypseum* (201) y *M. canis* (140); en su mayoría recuperados de las muestras de suelos de la universidad.

En Argentina, Mangiaterra y cols., en 2006 investigan la ocurrencia de hongos queratinofílicos y no queratinofílicos en las planicies semiáridas de la provincia de San Luis, en 20 muestras de suelo; encontrando en su mayoría a *C. indicum* (11), *A. fumigatus* (7) y en menor proporción a *Chaetomium globosum*, *Fusarium solani*, *Acremonium* sp. y *Alternaria alternata*; sin encontrar a miembros de los géneros *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton*.

En Nigeria, Oyeka y Okoli, en 2002 recolectan 60 muestras de suelos de dos poblados del estado de Anambra, encontrando 22 cepas de *M. gypseum*, siete de *T. mentagrophytes* y otros hongos queratinofílicos no dermatofílicos: *A. flavus* (50), *Fusarium* sp. (36) y *C. indicum* (5).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Es bien sabido que el suelo es un importante reservorio de microorganismos saprófitos y algunos con potencial patógeno para humanos y animales.

En el caso de los hongos queratinofílicos, su prevalencia en suelos depende de diversos factores tanto físicos y químicos propios del suelo así como de la presencia de humanos y animales. Este grupo de hongos patógenos y oportunistas presentan una distribución cosmopolita y son causantes de micosis superficiales, siendo el tipo de micosis predominante en México.

A pesar de que los hongos se encuentran entre los organismos más diversos de la Tierra no se conocen todas las especies así como la distribución de éstos en diversos ecosistemas.

La distribución de hongos queratinofílicos en suelos ha cobrado un interés mundial, reportándose en diversos países. No existen estudios sobre estos hongos en suelos del Cerro de las Noas en Torreón, Coahuila y en la comunidad Francisco Villa en Iguala de la Independencia, Guerrero. Por lo que surge la pregunta: ¿Cuál es la diversidad de dermatofitos, hongos queratinofílicos no dermatofílicos y actinomicetos en el suelo de estas regiones de México?

JUSTIFICACIÓN

Los dermatofitos y hongos queratinofílicos no dermatofílicos así como diversos actinomicetos son agentes patógenos para humanos y diversos animales, de igual manera se encuentran distribuidos alrededor de todo el mundo como saprófitos en el suelo. Lo que convierte al suelo en un reservorio de estos microorganismos y en una potencial fuente de transmisión para humanos y animales.

Por el motivo anterior es necesario conocer la diversidad y distribución geográfica de estos microorganismos en suelos de regiones cálidas del país, recordando que las infecciones provocadas por este grupo de hongos es de las principales causas de consulta dermatológica en México.

Conocer la diversidad de los organismos en una determinada área puede ser de gran ayuda para apreciar y monitorear el impacto de las actividades del humano sobre éstos ecosistemas.

Existen reportes de la distribución de estos hongos en diversos países, en nuestro país existen pocas investigaciones sobre este tipo de hongos en suelos, la mayoría de los estudios se inclinan al área clínica. Por lo que los resultados de este trabajo aportarán información sobre la diversidad y distribución de este grupo de hongos en el Cerro de las Noas en Torreón, Coahuila y en la comunidad Francisco Villa en Iguala de la Independencia, Guerrero.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la diversidad de microorganismos queratinofílicos presentes en las muestras de suelo del Cerro de las Noas en Torreón, Coahuila y la comunidad Francisco Villa en Iguala de la Independencia, Guerrero.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aislar e identificar los dermatofitos, hongos queratinofílicos no dermatofíticos y actinomicetos presentes en las muestras de suelo del Cerro de las Noas en Torreón, Coahuila y la comunidad Francisco Villa en Iguala de la Independencia, Guerrero a través de la técnica del anzuelo de queratina.
- Medir el pH de las muestras e identificar alguna posible relación con éste y la presencia de los microorganismos.
- Medir la diversidad de los dermatofitos, hongos queratinofílicos y actinomicetos presentes en las regiones de muestreo a través del índice de Simpson.
- Determinar que microorganismos están correlacionados en ambas comunidades mediante el coeficiente de comunidades de Sorensen.

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

A. TIPO DE ESTUDIO

Observacional, descriptivo, transversal

B. UNIVERSO DE ESTUDIO

Suelo del Cerro de las Noas de Torreón, Coahuila y suelo de la comunidad Francisco Villa de Iguala de la Independencia, Guerrero.

C. TAMAÑO DE MUESTRA

Nueve muestras del Cerro de las Noas de Torreón, Coahuila.

Nueve muestras de la comunidad Francisco Villa de Iguala de la Independencia, Guerrero.

18 Muestras en total.

D. SEDE Y LUGAR DEL ESTUDIO

Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

E. CRITERIOS DE SELECCIÓN

▪ CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Suelo perteneciente a la unidad de muestreo seleccionada, previamente liberada de basura u hojarasca.

▪ CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Suelo ajeno a la unidad de muestreo seleccionada.

F. RECURSOS HUMANOS

Tesista: César Israel López Reynoso

Director: Ricardo Munguía Pérez

Asesor Interno: María de la Cruz Meneses Sánchez

G. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Índices de biodiversidad

METODOLOGÍA

TOMA DE MUESTRA

La toma de muestra se realizó bajo la Norma NOM-021-SEMARNAT, de forma aleatoria y georeferenciada en Google™ earth en la unidad de muestreo de las regiones mencionadas anteriormente. Se tomaron utilizando el sistema de recorrido en zigzag, de manera que se pudiera obtener una muestra representativa. Todas las muestras se tomaron a 15 cm de profundidad para poder obtener muestras homogéneas. Las muestras fueron tomadas con palas lavadas previamente; cada muestra fue recolectada con guantes y se depositó en bolsas de plástico.

Para el transporte de las muestras se utilizaron bolsas de cierre hermético estériles y se almacenaron en condiciones de refrigeración a 4°C. Estas fueron transportadas al laboratorio para ser procesadas posteriormente.



Fig. 15. Puntos de muestreo, Cerro de las Noas, Torreón, Coahuila.



Fig. 16. Puntos de muestreo, Fco. Villa, Iguala de la Independencia, Guerrero.

ZONAS DE MUESTREO Y SUS CARACTERÍSTICAS



Figura 17. Ubicación geográfica de las regiones correspondientes a la toma de muestras (Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México).

Torreón, Coahuila

- Clima: seco templado/muy seco semicálido.
- Temperatura promedio anual: 22,8°C.
- Precipitación promedio anual: 217 mm.
- Suelos predominantes: xerosol, fluvisol, litosol.

Iguala de la Independencia, Guerrero

- Clima: cálido sub-húmedo.
- Temperatura promedio anual: 37°C.
- Precipitación promedio anual: 1,100 mm.
- Suelos predominantes: chernozem

TÉCNICA DEL ANZUELO DE QUERATINA DE VANBREUSEGHEM

La técnica fue inicialmente desarrollada por el micólogo Raymond Vanbreuseghem en 1952. Desde entonces se le han hecho numerosas modificaciones, pero el principio permanece siendo el mismo, usar un sustrato natural de queratina como “anzuelo” para recuperar a aquellos hongos de naturaleza queratinofílica.

Procedimiento:

- Se colocaron 20 g de la muestra de suelo en placas Petri estériles.
- Se esparcieron en la superficie del suelo 20 fragmentos de cabello de infante, previamente esterilizado.
- Se agregaron 5 ml de agua estéril al suelo para facilitar la germinación de las esporas fúngicas.
- Las muestras se incubaron de 20-25°C, de 4 a 6 semanas.
- Se examinó frecuentemente las placas en búsqueda de desarrollo de micelios; cuando fue necesario se agregó más agua para mantener húmedo el suelo.
- Cuando se observó crecimiento, se retiran los cabellos con crecimiento fúngico y se inocularon en agar dextrosa de Sabouraud.
- Se procedió a purificar e identificar los hongos obtenidos.

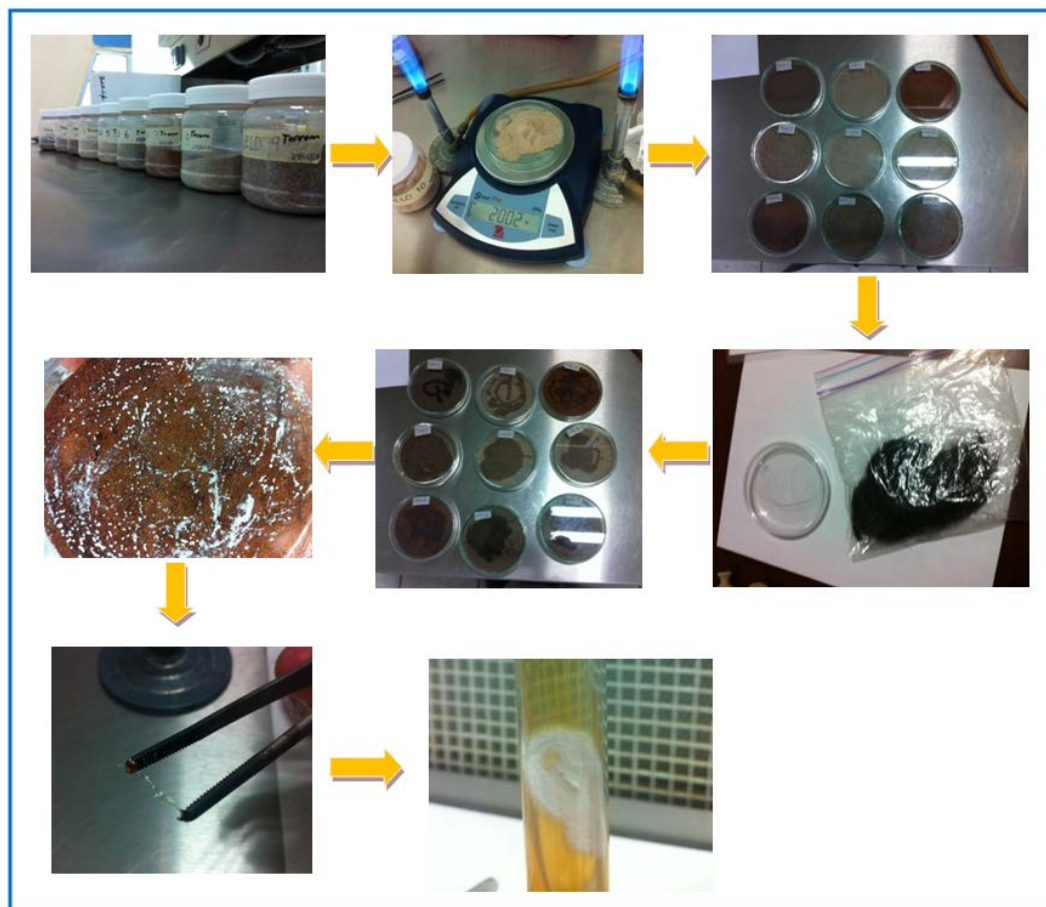


Figura 18. Desarrollo de la técnica del anzuelo de queratina de Vanbreuseghem.

IDENTIFICACIÓN DE DERMATOFITOS Y HONGOS QUERATINOFÍLICOS

Para la identificación de estos hongos filamentosos se siguieron métodos clásicos: la observación macroscópica de las colonias y la observación microscópica de las estructuras fúngicas a través de microcultivos.

Microcultivo

Procedimiento:

- En una placa petri se coloca el caballete (varilla de vidrio), un portaobjetos y un cubreobjetos.
- Se esterilizan.
- En ambiente estéril se coloca sobre el portaobjetos un bloque de 1.5 cm x 1.5 cm de agar Borelli.
- Se procede a inocular el bloque de agar en sus paredes con el hongo a analizar.
- El bloque de agar inoculado se cubre con el cubreobjetos.
- Se agrega de 2 a 3 ml de agua estéril, para evitar la desecación del agar.
- Se incuba de 25 a 28 °C, durante 7 días aproximadamente.
- Para desmontar, se retira el portaobjetos de la caja petri.
- Se coloca a un lado del agar una gota de azul de algodón, con cuidado se retira el cubreobjetos del agar y se coloca sobre la gota de colorante.
- Posteriormente se retira el bloque de agar y en su lugar se coloca una gota de colorante y se cubre con un cubreobjetos nuevo.
- Se sella la preparación con barniz transparente para evitar el escape del colorante.
- Se observa en el microscopio para analizar las estructuras de los hongos.

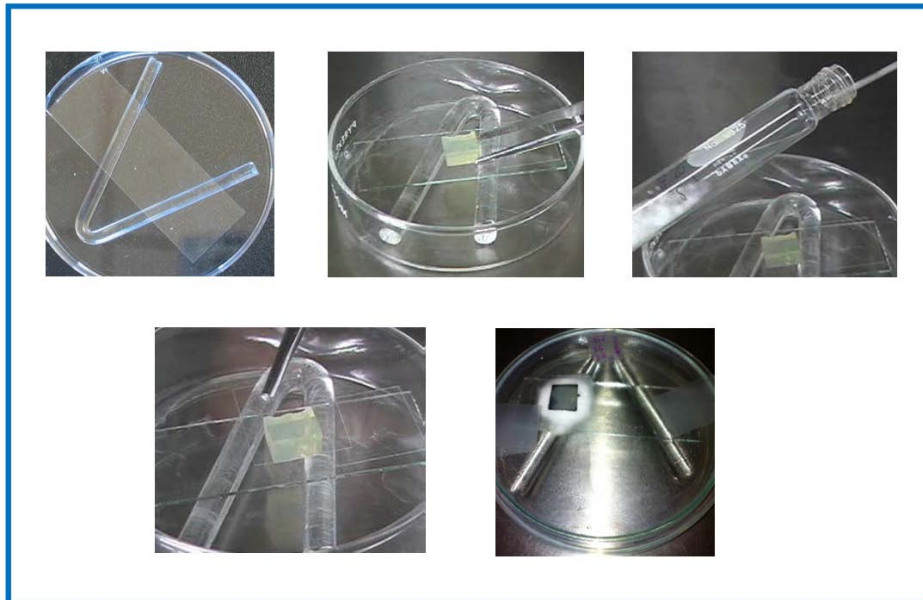


Figura 19. Microcultivo.

IDENTIFICACIÓN DE ACTINOMICETOS

El género de estas bacterias se identificó a través del empleo de pruebas bioquímicas y la tinción de ácido alcohol resistencia.

Pruebas bioquímicas empleadas.

- Almidón
 - Principio: determinar la capacidad de un microorganismo de hidrolizar el almidón por medios enzimáticos, probando la desaparición de éste por el uso de lugol.
 - Bioquímica: el almidón forma un complejo de inclusión con el yodo del lugol de color azul, una vez que es hidrolizado en componentes de menor peso molecular, como maltosa y glucosa, el yodo deja de interactuar con ellos y no se presenta coloración.
 - Interpretación de la prueba: (+) medio de color azul-púrpura con un halo incoloro alrededor de la colonia / (-) medio completamente azul-púrpura.

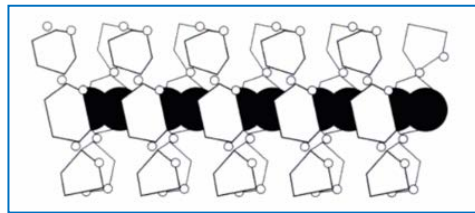


Figura 20. Complejo del almidón (hélice) con el yodo (círculos negros).

- Caseína
 - Principio: determinar la capacidad de un microorganismo de hidrolizar las proteínas de la leche (caseína) por acción enzimática.
 - Bioquímica: la caseína es la proteína predominante en la leche (80%), al encontrarse en solución coloidal confieren el aspecto turbio blanquecino a la leche, cuando la caseinasa hidroliza estas proteínas el medio alrededor de la colonia se observa de manera traslúcida.
 - Interpretación de la prueba: (+) medio traslúcido alrededor de la colonia / (-) el medio permanece blanco y turbio.
- Gelatina
 - Principio: determinar la capacidad de un microorganismo de producir enzimas proteolíticas que hidrolizan la gelatina.
 - Bioquímica: la gelatina es hidrolizada por la gelatinasa en sus aminoácidos constitutivos, con pérdida de sus características gelificantes.
 - Interpretación de la prueba: (+) el medio se torna líquido o existe precipitación debido a la falta de soporte de la gelatina / (-) el medio permanece sin cambios.

- Urea
 - Principio: determinar la capacidad de un microorganismo de hidrolizar la urea en dos moléculas de amoníaco por acción enzimática, con resultante alcalinidad.
 - Bioquímica: la urea es hidrolizada por la ureasa en dos moléculas de amoníaco, dióxido de carbono y agua, lo que alcaliniza el pH del medio haciendo virar el indicador (rojo de fenol) de amarillo a rojo o rosa.
 - Interpretación de la prueba: (+) el medio se torna rosa además de apreciarse el crecimiento bacteriano / (-) el medio permanece sin cambios.

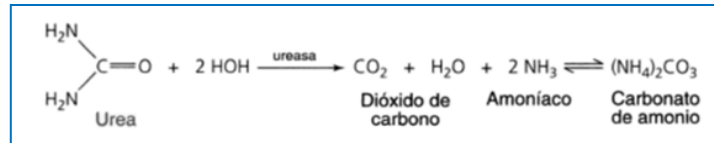


Figura 21. Hidrólisis de la urea por la ureasa y productos.

- Tirosina
 - Principio: determinar la capacidad de un microorganismo de producir enzimas que descomponen al aminoácido tirosina.
 - Bioquímica: los cristales de tirosina son degradados por efecto de la tirosinasa, que da paso a otros compuestos que a través del efecto de otras reacciones conllevan a la producción de melanina, por lo tanto los cristales de tirosina desaparecen y también puede observarse un ennegrecimiento del medio por la difusión de la melanina.
 - Interpretación de la prueba: (+) alrededor de la colonia se observa un halo claro y se observa una pigmentación marrón en el medio / (-) no se observan cambios en el medio.

MEDICIÓN DEL pH DE LAS MUESTRAS DE SUELO

El pH es una de las mediciones más comunes e importantes en los análisis químicos rutinarios de suelo, ya que controla reacciones químicas y biológicas en éste. El pH es afectado por varios factores tales como: el tipo y cantidad de constituyentes orgánicos e inorgánicos que contribuyen a la acidez del suelo, la concentración de sales, etc.

En el caso de los suelos el pH se mide potenciométricamente en la suspensión sobrenadante de una mezcla de relación 1:2 suelo:agua. Esto se realizó siguiendo las indicaciones de la NOM-021-SEMARNAT.

Procedimiento:

- Se pesaron 10 g de suelo en un frasco de vidrio.
- Se adicionaron 20 ml de agua destilada al frasco conteniendo el suelo.
- Se agitó durante 30 minutos a intervalos de 5 minutos.
- Se calibró el potenciómetro con los buffer pH 4, 7 y 10.
- Se agitó nuevamente la mezcla y se introdujo el electrodo en la suspensión.
- Se registró la medición.



Fig. 22. Muestras de suelo de Coahuila.



Fig. 23. Muestras de suelo de Guerrero.



Fig. 24. Medición del pH de las muestras

DIAGRAMA DE TRABAJO



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

COAHUILA

De las 9 muestras pertenecientes al Cerro de las Noas en Torreón, Coahuila, 4 (44,4%) resultaron positivas para dermatofitos, 8 (88,9%) a hongos queratinofílicos no dermatofílicos y 5 (55,6%) a actinomicetos (Tabla 4).

Se aislaron un total de 58 microorganismos pertenecientes a 11 géneros entre dermatofitos, hongos queratinofílicos y actinomicetos; siendo los géneros *Chrysosporium* 16 (27,6%) y *Fusarium* 10 (17,2%) los más aislados (Gráfico 1). Este resultado concuerda con los trabajos realizados por Rizwana y cols. y Mangiaterra y cols., encontrando a *Chrysosporium* con el mayor número de aislamientos. Únicamente se aislaron dos especies de dermatofitos, pertenecientes al género *Trichophyton*: *T. rubrum* 6 (10,3%) y *T. tonsurans* 3 (5,2%) considerados como antropofílicos (Tabla 2).

Se aislaron un total de 6 actinomicetos pertenecientes a los géneros *Nocardia* 4 (6,9 %) y *Streptomyces* 2 (3.4%), resultado semejante al reportado por Malek y cols, que encontraron al género *Nocardia* como el actinomiceto predominante mediante la técnica del anzuelo de queratina de Vanbreuseghem.

Tabla 4. Muestras de suelos positivas al aislamiento de microorganismos (Coahuila)

Cerro de las Noas, Torreón, Coahuila		
Microorganismo	Número de muestras positivas	%
Dermatofitos	4	44,4
H. queratinofílicos	8	88,9
Actinomicetos	5	55,6

Tabla 5. Valores de pH de las muestras y porcentaje de aislamientos (Coahuila)

	pH de las muestras de suelo de Coahuila									Total		
	Suelo 3	Suelo 2	Suelo 1	Suelo 6	Suelo 4	Suelo 8	Suelo 7	Suelo 5	Suelo 9	Número	%	
Microorganismo	7,2	7,2	7,4	7,5	7,5	7,6	7,8	7,9	8,3			
Dermatofitos	4	-	1	3	-	-	1	-	-	9	15,5	
H. queratinofílicos	12	3	9	6	3	-	8	1	1	43	74,1	
Actinomicetos	1	1	-	-	1	1	-	2	-	6	10,3	
Total	Número	17	4	10	9	4	1	9	3	1	58	
	%	29,3	6,9	17,2	15,5	6,90	1,7	15,5	5,2	1,7		100

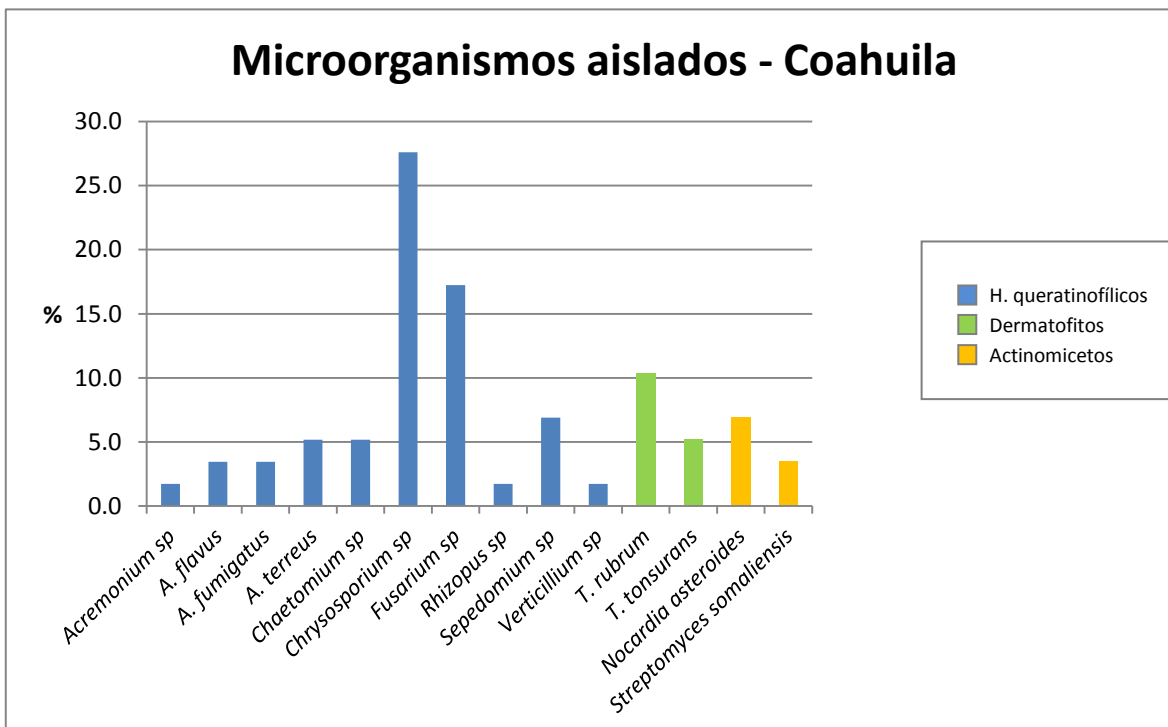


Gráfico 1. Dominancia de los microorganismos aislados en muestras de Coahuila.

GUERRERO

En la comunidad de Francisco Villa de Iguala de la Independencia, Guerrero, de las 9 muestras de suelo, 5 (55,6%) fueron positivas a la presencia de dermatofitos, 9 (100%) a hongos queratinofílicos no dermatofílicos y 1 (11,1%) a actinomicetos (Tabla 6), lo que demuestra una clara dominancia de los hongos queratinofílicos no dermatofílicos sobre los demás microorganismos.

Se recuperaron un total de 41 aislamientos, pertenecientes a 11 géneros de los diversos microorganismos de interés para este trabajo. En este caso, los géneros *Fusarium* 6 (14,6%) y *Chaetomium* 6 (14,6%) fueron los géneros dominantes. La dominancia de *Fusarium* sp. puede deberse a la cantidad de materia vegetal en la zona (como puede apreciarse en la figura 16); seguidos de *T. mentagrophytes* 5 (12,2%), *Chrysosporium* sp. 4 (9,8%) y *A. fumigatus* 4 (9,8%) (Gráfico2). Resultados similares a los obtenidos por Pakshir y cols., en cuyo trabajo encontró al género *Fusarium* como el hongo queratinofílico más abundante en muestras de suelo de parques, encontrando otros géneros como *Chrysosporium*, *Aspergillus* y *Chaetomium*. Munguía y cols. encuentran únicamente a *Trichophyton* de los tres géneros de dermatofitos. Da Silva y Oliveira, así como Abu Shaqra y cols., encuentran a *T. mentagrophytes* como el más abundante de las especies del género *Trichophyton*.

Únicamente se aisló a un actinomiceto perteneciente al género *Streptomyces*.

Tabla 6. Muestras de suelos positivas al aislamiento de microorganismos (Guerrero)

Fco. Villa, Iguala de la Independencia, Guerrero		
Microorganismo	No. De muestras positivas	%
Dermatofitos	5	55,6
H. queratinofílicos	9	100,0
Actinomicetos	1	11,1

Tabla 7. Valores de pH de las muestras y porcentaje de aislamientos (Guerrero)

	pH de las muestras de suelo de Guerrero										Total	
	Suelo 2	Suelo 8	Suelo 6	Suelo 3	Suelo 4	Suelo 5	Suelo 7	Suelo 9	Suelo 1	Número	%	
Microorganismo	7,3	7,3	7,4	7,5	7,6	7,6	7,6	7,6	8,1			
Dermatofitos	2	-	1	1	-	3	-	3	-	10	17,2	
H. queratinofílicos	7	2	3	6	3	4	2	2	1	30	51,7	
Actinomicetos	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,7	
Total	Número	10	2	4	7	3	7	2	5	1	41	
	%	17,2	3,4	6,9	12,1	5,17	12,1	3,4	8,6	1,7		100

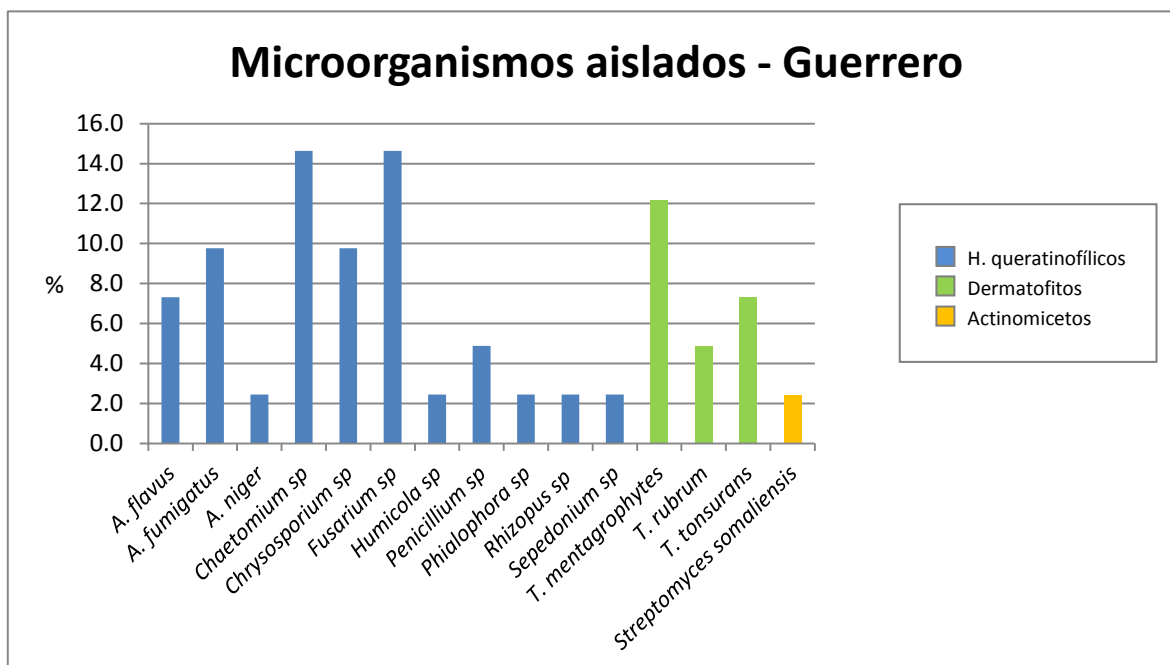


Gráfico 2. Dominancia de los microorganismos aislados en muestras de Guerrero.

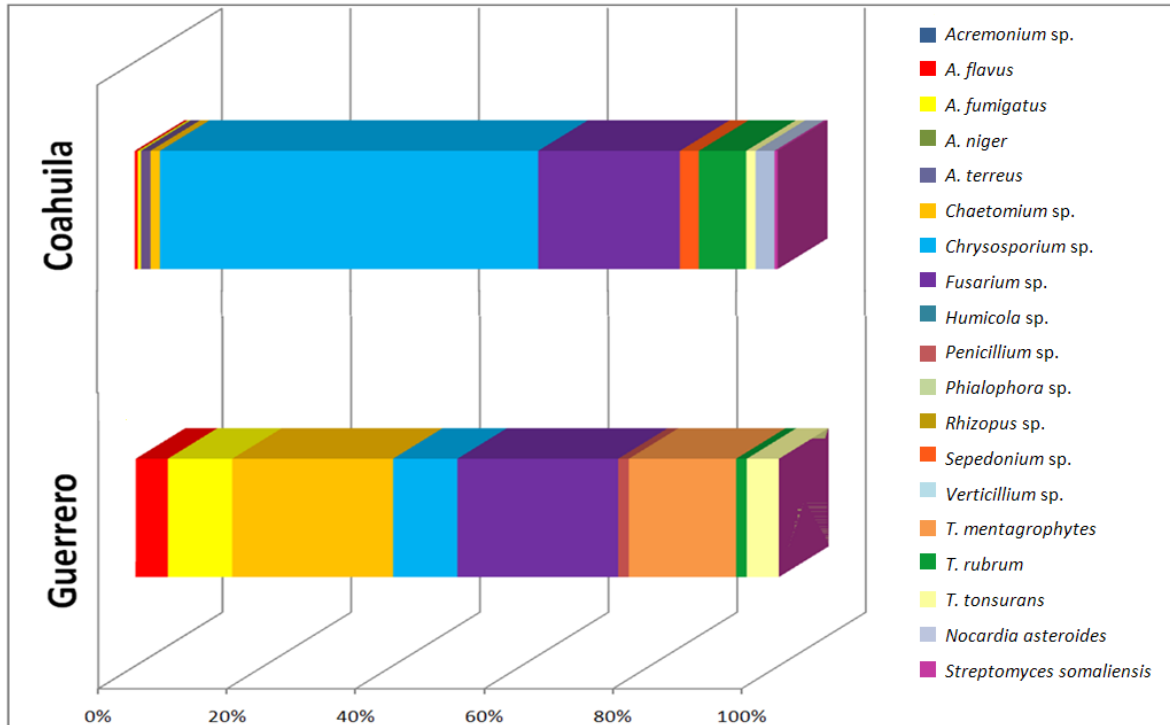


Gráfico 3. Comparación de la composición de especies entre las zonas de muestreo.

En el gráfico 3 se comparan a las dos regiones de muestreo en cuanto a la composición de especies de microorganismos queratinofílicos de cada una de ellas, observando la diversidad, la proporción y la dominancia de dichas especies.

Se observa una mayor abundancia de hongos queratinofílicos no dermatofílicos respecto a dermatofitos y actinomicetos. La baja recuperación de dermatofitos puede deberse a la ausencia de animales en las zonas; en el Cerro de las Noas, Coahuila se recuperaron dermatofitos clasificados como antropofílicos, probablemente por las visitas que recibe la zona, mientras que en Francisco Villa, Guerrero, *T. mentagrophytes* fue el dermatofito más abundante, considerado como zoofílico. De los tres géneros de dermatofitos sólo se aisló al género *Trichophyton*, comprendiendo tres especies: *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* y *T. tonsurans*. La ausencia del género *Epidermophyton* puede explicarse a que este dermatofito no suele ser aislado con facilidad usando cabello humano como anzuelo, debido a que éste no suele provocar infecciones asociadas al cuero cabelludo, como lo indican algunos autores, además de su baja distribución en suelos. La baja recuperación de actinomicetos puede deberse al pH de las muestras de suelo, ya que dichos suelos presentan pH neutro a alcalino, lo que no es propicio para el desarrollo de estos microorganismos.

Los organismos encontrados son potencialmente capaces de provocar diversas infecciones en humanos y animales, por lo que las zonas analizadas podrían ser consideradas como una fuente para dichas infecciones.

HONGOS AISLADOS

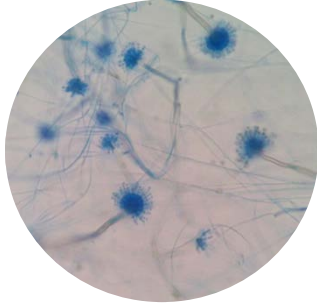


Fig. 25. *A. flavus*



Fig. 26. *A. fumigatus*



Fig. 27. *A. niger*

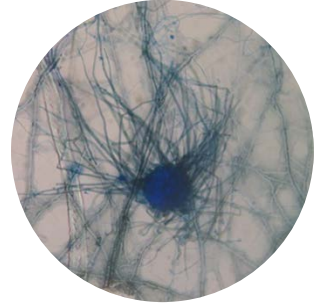


Fig. 28. *Chaetomium* sp.

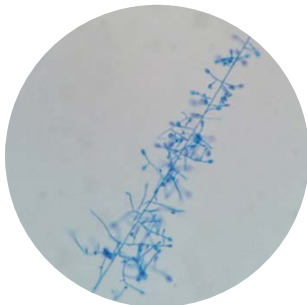


Fig. 29. *Chrysosporium* sp.

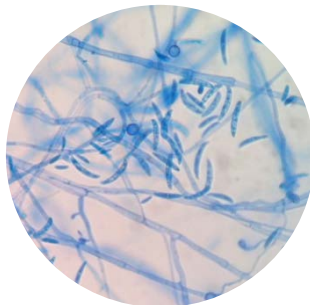


Fig. 30. *Fusarium* sp.

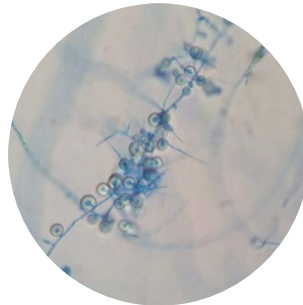


Fig. 31. *Humicola* sp.

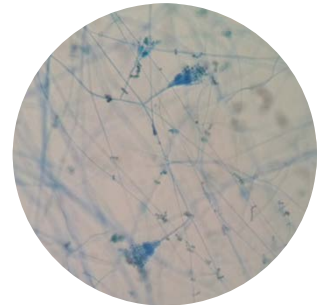


Fig. 32. *Penicillium* sp.

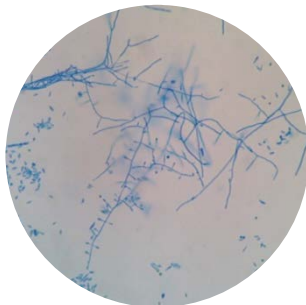


Fig. 33. *T. rubrum*

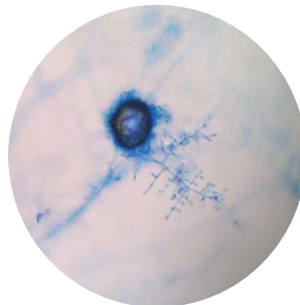


Fig. 34. *T. tonsurans*

PRUEBAS BIOQUÍMICAS PARA ACTINOMICETOS

Tabla 8. Identificación bioquímica para actinomicetos

Actinomicetos	BAAR	Hidrólisis de:				Descomposición de Tirosina
		Almidón	Caseína	Gelatina	Urea	
<i>N. brasiliensis</i>	+	V	+	+	+	+
<i>N. asteroides</i>	+	-	-	-	+	-
<i>A. madurae</i>	-		-	-	-	V
<i>A. pelletieri</i>	-	+	+	+	-	+
<i>S. somaliensis</i>	-	-	+	+	-	+

(+) Positivo, (-) Negativo, (V) Variable

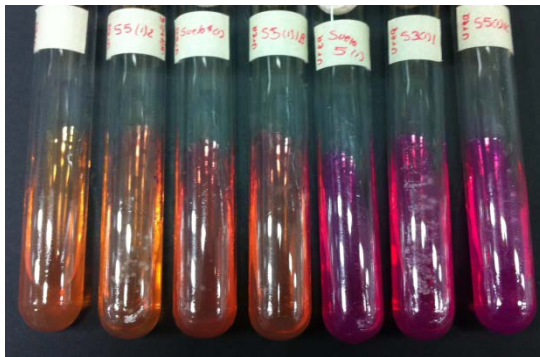


Fig. 35. Urea: negativos y positivos (izquierda a derecha)



Fig. 36. Almidón: positivos y negativo

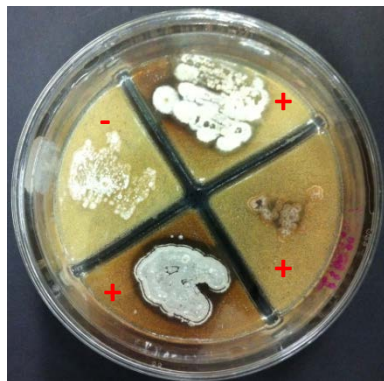


Fig. 37. Tirosina: positivos y negativos



Fig. 38. Caseína: positiva

pH

Los valores obtenidos de pH para las muestras de suelos de Coahuila (7,25 a 8,34) y Guerrero (7,38 a 8,1) son muy similares, ambos se encuentran en un rango de 7,2 a 8,4; donde crecieron todos los hongos aislados en este trabajo (Tabla 5 y Tabla 7). Dicho rango puede considerarse como un pH neutro a ligeramente alcalino. Tales resultados concuerdan con lo descrito por Pakshir y cols. que indican que la mayoría de los hongos aislados en su investigación se encontraron en las muestras de suelo con un rango de pH de 7 a 8; así como con los resultados de Da Silva y Oliveira que demuestran la presencia de dermatofitos en muestras de suelo correspondientes a valores de pH 7 a 9.

Esta preferencia por parte de los microorganismos queratinofílicos por pH ligeramente alcalino puede deberse a que las enzimas queratinolíticas son producidas a valores de pH de 6 a 9 y particularmente la queratinasa extracelular es activa a pH 9. Diversos trabajos mencionan que no se encuentran hongos queratinofílicos en suelos con pH ácido de 3 a 4,5; incluso algunos autores reportan que suelos con pH de 5,9 están libres de hongos queratinofílicos, tal como lo comenta Pakshir y cols.

Malek y cols. afirman en su investigación que los actinomicetos se encontraron en muestras de suelo con pH ácido, en un rango de 5,3 a 7,2, lo que puede explicar la baja cantidad de actinomicetos encontrados en nuestro análisis.

ÍNDICE DE SIMPSON

Coahuila

$D=0,12 \rightarrow 1-D=0,88$

Guerrero

$D=0,07 \rightarrow 1-D=0,93$

El índice de Simpson indica una mayor diversidad de microorganismos queratinofílicos en las muestras de suelo pertenecientes a Guerrero que aquellas pertenecientes a Coahuila. Resultado que puede apreciarse en los Gráficos 1 y 2. Posiblemente esta mayor diversidad se deba al clima húmedo, temperatura y precipitación superior de Guerrero, así como el tipo de suelo que predomina en esta región, el suelo chernozem, que es rico en humus y minerales, siendo uno de los tipos de suelos más fértiles. Esto provee mejores condiciones ambientales para el desarrollo de hongos y bacterias.

COEFICIENTE DE COMUNIDADES DE SORENSEN

$$CC=0,68 \rightarrow CC=0,68 \times 100 \rightarrow \% \text{ de similitud}=68\%$$

El coeficiente de Sorensen muestra una similitud entre las zonas de muestreo de Coahuila y Guerrero de un 68%; es decir, una similitud significativa, ya que de 14 y 15 especies respectivamente, ambas zonas comparten en común 10 de esas especies (Figura 39).

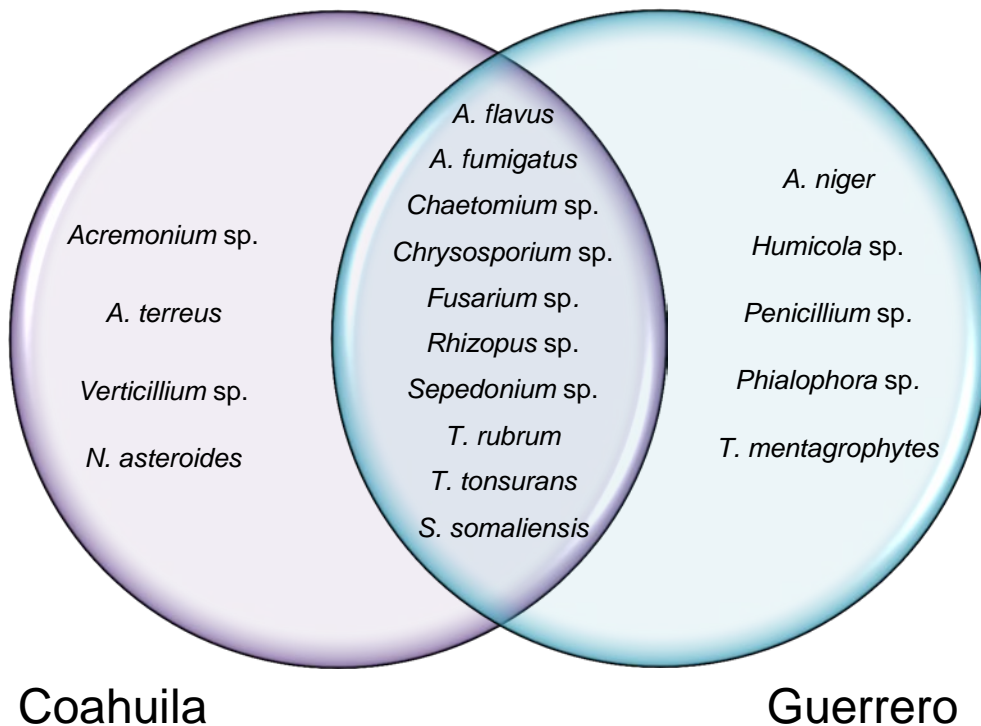


Figura 39. Similitud de microorganismos queratinofílicos entre las zonas de muestreo.

En la figura 39 se puede apreciar que la mayoría de las especies aisladas se encuentran compartidas entre ambas regiones a pesar de las diferencias climáticas y de suelos. Por lo que se confirma que estos microorganismos se encuentran ampliamente distribuidos y que son capaces de desarrollarse en una amplia variedad de condiciones ambientales.

CONCLUSIONES

Se aisló un total de 99 microorganismos queratinofílicos, pertenecientes a 14 géneros. Se encontró una mayor abundancia de hongos queratinofílicos no dermatofílicos que dermatofitos y actinomicetos en las muestras de suelo de ambas regiones analizadas. Destacando por el número de aislamientos *Chrysosporium* sp. en las muestras del Cerro de las Noas en Torreón, Coahuila y *Fusarium* sp. en las muestras de la comunidad de Francisco Villa en Iguala de la Independencia, Guerrero.

Ya que el rango de pH de las muestras de suelo es estrecho (7,2 a 8,4), no se apreció una relación entre éste y la distribución de los microorganismos aislados, debido a que dicho rango de pH es adecuado para el desarrollo de estos microorganismos.

La medición de la diversidad a través del índice de Simpson indica una mayor diversidad de microorganismos queratinofílicos en las muestras de suelo de Guerrero que en las de Coahuila.

La similitud de especies de microorganismos queratinofílicos entre las zonas de muestreo de Coahuila y Guerrero es del 68% a través del coeficiente de comunidades de Sorensen, lo que expresa una similitud considerable en la composición de dichos microorganismos entre ambas regiones a pesar de las diferencias ambientales de las regiones de muestreo, esto demuestra que estos tipos de microorganismos son capaces de subsistir en diversas condiciones ambientales.

BIBLIOGRAFÍA

- Abu Shaqra Q., Al Jamaien H. and Al Zoubi M. (2012). Isolation of soil dermatophytes from three distinct geographic locations in Jordan. *Fungal Ecology*. 5: 274-276.
- Anaissie E., McGinnis M. and Pfaller M. (2009). *Clinical Mycology*. Second Edition. Elsevier Inc. p313-320.
- Balser T. *et al.* (2010). The microbiology of natural soils. *Springer*.
- Bhatia V. and Sharma P. (2014). Epidemiological studies on Dermatophytosis in human patients in Himachal Pradesh, India. *Springer*. 3: 134.
- Bentley S., Chater K., Cerdeño A., Challis G., Thomson N., *et al.* (2002). Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*. 417: 141-147.
- Bonifaz J. (2010). *Micología Médica Básica*. 4ª Ed. Mc Graw Hill. México D.F. 30.
- Chinnapun D. (2015). Virulence Factors Involved in Pathogenicity of Dermatophytes. *Walailak Journal*. 12(7): 573-580.
- Cornejo P., Velásquez C., Martínez V., Rangel A., Volkow P. (2007). Fungemia asintomática causada por *Acremonium* sp asociada a colonización de catéter venoso central. *Gaceta Médica de México*. 143(3): 193-196.
- Costa A. and Menezes M. (2006). Identification and pathogenic characterization of endophytic *Fusarium* species from cowpea seeds. *Anais da academia Pernambucana da Ciência Agronômica*. 3: 203-215.
- Da Silva Z. and Oliveira A. (2009). Dermatophytes from urban soils in João Pessoa, Paraíba, Brazil. *Revista Argentina de Microbiología*. 40: 161-163.
- Dongyou L. (2011). Molecular detection of human fungal pathogens. London, UK. CRC Press, p. 203-204, 397.
- Eldor A. P. (2015) *Soil microbiology, ecology and biochemistry*. Fourth edition. London, UK: Elsevier, p. 15-20.
- Fozia I. *et al.* (2007). Keratinophilic fungi from the soil of District Jamshoro, Sindh, Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*. 39(4): 1377-1382.
- Frasset J., Pemán J., Blanes M., Hernández M., Cano J., Jiménez E., López J. (2014). Feohifomicosis cerebral: descripción de un caso y revisión de la literatura. *Revista Iberoamericana de Micología*. 31(3):197-202.
- Golinska P. and Dahm H. (2011). Occurrence of actinomycetes in forest soil. *Dendrobiology*. 66: 3-13.
- Gugnani H. (2000). Non dermatophytic filamentous keratinophilic fungi and their role in human infection. *Revista Iberoamericana de Micología*.
- Instituto Nacional para el Federalismo y Desarrollo Municipal (INAFED). Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México. En línea. Disponible en: [<http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/>].

- Javorekova S. *et al.* (2012). Keratinophilic Fungi Isolated from Soils of Long-Term Fold-Grazed, Degraded Pastures in National Parks of Slovakia. *Mycopathologia*. 174: 239-245.
- Lakshmipathy D. and Kannabiran K. (2010). Review on dermatomycosis: pathogenesis and treatment. *Scientific Research*. 2(7): 726-731.
- Logaprabha V. and Selvi T. (2012). Keratinophilic fungi: their occurrence in the environment. *J. Mycopathol, Res*. 50(2): 193-198.
- Magurran A. (2004). *Measuring Biological Diversity*. Blackwell Publishing. United Kingdom. P. 102-115.
- Mahmoudabadi A. and Zarrin M. (2008). Isolation of dermatophytes and related keratinophilic fungi from the two public parks in Ahvaz. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 1(1): 20-23.
- Malek E. *et al.* (2013). Isolation of keratinophilic fungi and aerobic Actinomycetes from park soils in Gorgan, North of Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 6(10).
- Mangiaterra M. *et al.* (2006). Algunos microhongos geofílicos de las planicies semiráridas del noroeste de la provincial de San Luis (Argentina). *Boletín micológico*. 21: 43-48.
- Martínez H. and Hernández S. (2013). El género *Aspergillus* y sus micotoxinas en Maíz en México: problemática y perspectivas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 31: 126-146.
- McGinnis M. (1980). *Laboratory Handbook of Medical Mycology*. Academic Press Inc. New York, USA. p 276-278.
- Molina A. (2011). Aspectos clínicos, diagnósticos y terapéuticos de las dermatofitosis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 29 (3): 33-39.
- Moreno C. (2001). Métodos para medir la biodiversidad. *M&T-Manuales y Tesis SEA*. 1: 1-84.
- Moriarty B., Hay R. and Morris R. (2012). The diagnosis and management of tinea. *British Medical Journal*.
- Munguía R. *et al.* (2011). Fungal diversity in soil samples from a Mexican region with endemic dermatomycoses. *Micología Aplicada Internacional*. 23(1): 11-19.
- Muricy E., Lemes R., Bombarda S., Ferrazoli L., Chimara E. (2014). Differentiation between *Nocardia* spp and *Mycobacterium* spp: critical aspects for bacteriological diagnosis. *Journal of the São Paulo Institute of Tropical Medicine*. 56(5): 397-401.
- Nelson D. and Cox M. (2005). *Principios de bioquímica*. 4ª Ed. Editorial Omega. Barcelona, España. 125-127.
- Norihiro Y., Leland S., Erlandson K. (2014). *Sepedonium* intra-abdominal infection: a case report and review of an emerging fungal infection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. P 2583.

- Oyeka C. and Okoli I. (2003). Isolation of dermatophytes and non-dermatophytic fungi from soil in Nigeria. *Mycoses*. 46: 318-320.
- Padilla M. (2003). Micosis superficiales. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*. 46(4): 134-137.
- Pakshir K., Rahimi M., Zomorodian K., Reza A. (2013). Isolation and molecular identification of keratinophilic fungi from public parks soil in Shiraz, Iran. *BioMed Research International*.
- Philpot C. (1978). Geographic distribution of the dermatophytes: a review. *Journal of Hygiene*. 80: 301.
- Rajendra K. (2000). The genus *Chrysosporium*, its physiology and biotechnological potential. *Revista Iberoamericana de Micología*. 66-76
- Rizwana H., Al Hazzani A. and Siddiqui I. (2012). Prevalence of dermatophytes and other keratinophilic fungi from soils of republic parks and playgrounds of Riyadh, Saudi Arabia. *The Journal of Animal & Plant Sciences*. 22(4): 948-953.
- Rubio M. *et al.* (1999). Perspectiva micológica de los dermatofitos en el ser humano. *Revista Iberoamericana de Micología*. 16: 16-22.
- Sánchez L., Matos R. and Kumakawa H. (2009). Infecciones micóticas superficiales. *Dermatología Peruana*. 19(3): 226-266.
- Santhanam R., Rong X., Huang Y. and Goodfellow M. (2013). *Strptomyces erringtonii* sp. nov. and *Strptomyces kaempferi* sp. nov. isolated from a hay meadow soil. *Antoine van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*. 103:79-87.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-021-SEMARNAT-2000 QUE ESTABLECE LAS ESPECIFICACIONES DE FERTILIDAD, SALINIDAD Y CLASIFICACIÓN DE SUELOS, ESTUDIO, MUESTREO Y ANÁLISIS.
- Sharma R. and Rajak R. (2003). Keratinophilic fungi: nature's keratin degrading machibes! Their isolation, identificaction and ecological role. *Resonance*. September 2003.
- Simpanya M. (2000). Dermatophytes: Their taxonomy, ecology and pathogenicity. *Revista Iberoamericana de Micología*.
- Singh I., Dixit A. and Kushwaha S. (2009). Antagonism of *Microsporum* species by soil fungi. *Mycoses*. 52: 32-39.
- Tedersoo L. *et al.* (2014). Global diversity and geography of soil fungi. *Science*. 246: 1078.
- Uribe M. and Cardona N. (2013). Mecanismos de adherencia e invasión de dermatofitos a la piel. *CES Medicina*. 27(1): 67-75.
- Van der Heijden M. *et al.* (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*. 11: 296-310.

- Visagie C., Houbraken J, Frisvad J., Hong S., Klaassen C., Perrone G., Seifert K., Varga J., Yaguchi T. and Samson R. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in mycology*. 78:343-371.
- Voet D. and Voet J. (2006). Bioquímica. Tercera edición. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, p. 239.
- Weitzman I. and Summerbell R. (1995). The Dermatophytes. *Clinical Microbiology Reviews*. 8(2): 240-259.

ANEXOS

Medios de cultivo utilizados

▪ Agar Borelli

Se utiliza para favorecer la conidiación y producción de pigmento de los dermatofitos.

Composición por litro de agua purificada:

- Harina de trigo 14 g
- Leche en polvo 14 g
- Miel de abeja 7 g
- Agar 14 g

▪ Agar dextrosa de Sabouraud

Se usa para el cultivo y mantenimiento de hongos patógenos y no patógenos, en especial dermatofitos.

Composición por litro de agua purificada:

- Digerido pancreático de caseína 5 g
- Digerido péptico de tejido animal 5 g
- Dextrosa 40 g
- Agar 15 g

▪ Agar micobiótico

Es un medio selectivo para el aislamiento de hongos patógenos de materiales que contienen una flora mezclada de otros hongos y bacterias.

Composición por litro de agua purificada:

- Digerido papaico de harina de soya 10 g
- Dextrosa 10 g
- Agar 15 g
- Cicloheximida 0.4 g
- Cloranfenicol 0.05 g

Pruebas bioquímicas utilizadas

▪ Almidón

Se utiliza para determinar la capacidad enzimática de un microorganismo para hidrolizar el almidón. Se toma lectura de la prueba 15 días después de su inoculación.

Composición por litro de agua purificada:

- Extracto de carne 3 g
- Almidón soluble 10 g
- Agar 12 g

- **Caseína**
 Se utiliza para determinar la capacidad de un microorganismo para hidrolizar las proteínas de la leche por acción enzimática. Se toma lectura de la prueba 15 días después de su inoculación.
 Composición por 200 ml de agua purificada:

 - Leche en polvo descremada 10 g
 - Agar 2 g

- **Gelatina**
 Se utiliza para determinar la capacidad proteolítica de algunas especies de hongos y bacterias. Se toma lectura de la prueba 10 días después de su inoculación.
 Composición por 100 ml de agua purificada:

 - Gelatina bacteriológica 10 g
 - Caldo infusión cerebro-corazón 2.5 g

- **Urea**
 Se utiliza para determinar la capacidad de un microorganismo de hidrolizar la urea por medios enzimáticos. Se toma lectura de la prueba 4 días después de su inoculación.
 Composición por litro de agua purificada:

 - Peptona de gelatina 1 g
 - Dextrosa 1 g
 - Cloruro de sodio 5 g
 - Fosfato monopotásico 2 g
 - Urea 20 g
 - Rojo fenol 0.012 g

- **Tirosina**
 Se utiliza para determinar si un microorganismo es capaz de hidrolizar dicho aminoácido. Se toma lectura de la prueba 15 días después de su inoculación.
 Composición por litro de agua purificada:

 - Agar nutritivo 23 g
 - Tirosina 5 g