

ESTUDIO DE LA FLUORESCENCIA DE LOS
DERMATOFITOS. TRICHOPHYTON
MENTAGROPHYTES

Por GINES VIVANCOS

Desde que por primera vez Margarot y Devezé ⁽¹⁾ descubrieron que los cabellos infectados por dermatofitos poseían una fluorescencia a la luz de Wood (luz ultravioleta filtrada a través de filtro de Wood), han sido numerosos los estudios realizados con fines clínicos y fundamentalmente como diagnóstico de curación de las tiñas tön-surantes del cuero cabelludo habiendo sido muy bien sistematizada su técnica por Davidson y Gregory. ⁽²⁾.

Ya en 1929 Margarot y Devezé ⁽³⁾ observaron que los cultivos de los dermatofitos fluorescen y Vigne ⁽⁴⁾ mencionó que el Trichophyton crateriforme mostraba una intensa fluorescencia violeta en los cultivos.

Según Bommer ⁽⁵⁾ en cerca de 200 cultivos de hongos en medio de Sabouraud no pudo establecer una variación en la fluorescencia correspondiente a las distintas especies.

Redaelli y Cortesse ⁽⁶⁾ estudiaron la fluorescencia de diversos hongos parásitos y Actinomyces observando que varían mucho según la edad, cepa y composición del medio, aún dentro de una misma especie y llegaban a la conclusión que los resultados de las experiencias son relativos ya que no existe un medio absolutamente afluorescente, daban una escala de fluorescencia siendo en mayor grado aquellos medios que contenían peptona y miel siendo en los que menos influye donde las fuentes nutritivas son la asparagina y sacarosa.

Mallinckrodt-Haupt y Carrié ⁽⁷⁾ emplearon el medio de Finck cuyas fuentes nutritivas son la úrea y la sacarosa observando la fluorescencia a los 14 días con un color variable según las especies. En el Microsporum es amarillo verdosa, en el Trichophyton schönleini y Rhinocla-

Presentado para publicar el 18 de diciembre de 1951.

dium al principio amarillo verdosa para tornarse azulada con el envejecimiento del cultivo. El *Trichophyton mentagrophytes* tiene al principio una fluorescencia azulada y más tarde violeta.

La fluorescencia se hace verde si adicionamos una solución alcalina al filtrado de los cultivos y azul si se le agrega ácido clorhídrico. Los autores utilizando una solución "buffer" investigaron las variaciones de las fluorescencias de los filtrados de los cultivos a distinto pH que variaban desde 4,7 a 8,9. Los filtrados de *Trichophyton mentagrophytes* presentan una fluorescencia azul en medio ácido y verde en medio alcalino, pero los autores no pudieron aislar químicamente ni cristalizar la sustancia fluorescente.

Es interesante señalar que Cortesse ⁽⁸⁾ investigando varias especies de *Actinomyces* extrajo con alcohol una sustancia amorfa, inodora de color rojizo morenuzco que purificó con éter acidificando.

LEWIS ⁽⁹⁾ defendió la posibilidad del empleo de la luz de Wood para la diferenciación de los cultivos de dermatofitos y sobre todo dentro de los *Microsporum*, también señaló que tanto los cultivos viejos pleomorfizados como los trasplantes de ellos no dan fluorescencia.

Por último no debemos dejar de mencionar la gran utilidad que ha prestado a la Micología la luz de Wood en la observación de preparados microscópicos con técnicas especiales para el estudio de la morfología y fisiología de algunos Chitridiales por Negroni y Radice ⁽¹⁰⁾.

EXPERIENCIAS PERSONALES

Dividimos este trabajo en tres partes:

A) Obtención cristalina de la sustancia responsable de la fluorescencia del *Trichophyton mentagrophytes*.

B) Importancia del factor tiamina (vit B₁) sobre la producción de fluorescencia por el *Trichophyton mentagrophytes*.

C) Estudio de la fluorescencia en el *Trichophyton mentagrophytes* pleomorfizado.

En todas ellas utilizamos la cepa 1121 del Centro de Micología de la Facultad de Ciencias Médicas de Buenos Aires, clasificada como *Trichophyton mentagrophytes* (Negroni).

A) Hemos empleado como medios líquidos el M. de

Finck (Sacarosa 100 gr. Urea 1 gr., Cloruro cálcico 0,5 gr., sulfato de magnesio 0,40 gr., agua 1.000 c.c., fosfato monopotásico 0,75 gr., fosfato disódico 0,25 gr., carbonato de calcio 0,40 gr., para porfirinas; el de Beijerinck (Sulfato de amonio 5 gr., fosfato monopotásico 1 gr., sulfato de magnesio 0,5 gr., agua destilada 1.000 c.c.) para auxanograma con 1 % de glucosa y, como medios sólidos, agar miel y el mismo de auxanograma con 1 % de glucosa adicionado de 2 % de agar.

Los medios líquidos los repartimos en matraces con un contenido de 150 c.c. de medio.

En los sólidos preparamos placas de Petri (con un contenido de 20 c.c.) que dejábamos solidificar y una vez seca a la estufa la cubríamos con papel de filtro esteril de igual forma y tamaño que la placa.

Sembramos con una suspensión de esporos de *Tr. mentagrophytes* (cepa 1121) bien esporulada, en suero fisiológico que humedecía el papel de filtro, de esta forma conseguíamos un cultivo que se nutría a través del papel de filtro, y fácilmente retirable sin arrastrar el medio.

La observación de los cultivos y extracción del pigmento se hizo en la tercera semana.

Retiramos la película en los medios líquidos y en los sólidos nos llevamos el papel de filtro con pinzas y en ambos casos trituramos en mortero con el disolvente en estudio, dejamos macerar 24 horas en heladera. Pasado este lapso de tiempo filtramos a través de papel y el filtrado lo examinamos a la acción de la luz de Wood. La cristalización se hizo por evaporización lenta en estufa a 37° y una vez obtenido los cristales fueron observados con microscopio y como fuente luminosa la luz ultravioleta filtrada por Wood.

Los disolventes empleados fueron agua a pH 4 y pH 8, alcohol, alcohol clorhídrico al 2 %, éter y cloroformo.

Resultados: El medio con agar miel fué abandonado por dar los testigos una fluorescencia no despreciable, quizás por su contenido en miel y peptona como ya habían señalado Redaelli y Cortesse.

De todos los medios fué el de auxanograma de Beijerinck sólido el que dió una fluorescencia azul violeta más intensa, a partir de ellos conseguimos separar la sustancia fluorescente que sólo era soluble en los medios

ácidos, agua a pH 4 y alcohol clorhídrico al 2 % y fueron de ellos de donde obtuvimos unos cristales pertenecientes al sistema monoclinico con evidente fluorescencia verde azulada (Microfotografías 1 y 2).

B) Empleamos el mismo medio de Beijerink con 1 % de glucosa al que adicionamos 82 grs. por mil de carbón activado, agitamos durante 1/2 hora y filtramos por papel, así tenemos un medio líquido de composición definida y exento de tiamina.

Repartimos en cuatro matraces con un contenido de 150 c.c. esterilizamos a 115° 20' y ajustamos dos de ellos a pH 7,5 y otros dos a pH 6. A dos de ellos con pH diferentes le adicionamos tiamina a un tenor de 50 mg. por 1.000 c.c. de medio dejando los otros dos como testigos.

Sembramos con esporos de *Trichophyton mentagrophytes* (cepa 1121) e hicimos la extracción siguiendo la técnica señalada.

No observamos ninguna diferencia en la producción de fluorescencia comparativamente entre los matraces que contenían o no tiamina.

C) Hicimos un estudio comparativamente entre la cepa de *Trichophyton mentagrophytes* 1121 y la misma cepa previamente dejada pleomorfizar por pases a través de medios azucarados; de esta forma eliminábamos la posibilidad de que la diferente forma de comportarse pudiera interpretarse como carácter propio de cepa y no de su estado pleomórfico.

Sembramos en medio de Beijerink sólido con 1 % de glucosa a través del papel de filtro con la técnica anteriormente descrita.

Ni los cultivos ni las soluciones disolventes procedentes del cultivo de *Trichophyton mentagrophytes* pleomorfizada revelaron fluorescencia frente a la cepa esporulada que mostraba una intensa fluorescencia azul.

RESUMEN

1º — Hemos estudiado la fluorescencia del *Trichophyton mentagrophytes* comprobando los resultados de otros autores de la pérdida de esta propiedad cuando pleomorfizan.

2º — No hemos podido revelar ninguna variación que estuviera vinculada al contenido en tiamina del medio.

3º — Hemos obtenido por extracción con soluciones ácidas, alcohol clorhídrico al 2 % y agua pH 4 cristales fluorescentes de color azul violeta.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) MARGAROT J. y P. DEVÉZE. — *Bull. Soc. Sci. Méd. Biol. Montpellier* 6, 875, 1925.
- 2) DAVIDSON A. M. y GREGORY P. H. — *Canad. Med. Assoc. J.* 27, 176, 1932.
- 3) MARGAROT J. y DEVEZE, P. — *Ann. de dermat et syph.* 10, 581, 1929.
- 4) VIGNE, P. — *Présse Méd.* 35, 339, 1927.
- 5) BOMMER, S. — *Klin Wchschr*, 6, 1142, 1927.
- 6) REDAELLI, R. F. y CORTESSE. — *Boll. Soc. Med. Chirurg. Pavia.*
- 7) MALLINCKRODT-HAUPT, A. S. y CARRIÉ. — *Arch. f. Derm. u. Syph. Bd.* 169, 518, 1934.
- 8) CORTESSE, F. — *Boll. di Soc. ital. di biol. sper.* 5, 842, 1930.
- 9) LEWIS, G. M. — *Arch. Dermatol Syphilol* (Chicago) 31, 329, 1935.
- 10) NEGRONI, P. y RADICE J. C. — *Rev. Arg. Dermatosisif.* 30, 219, 1946.
- 11) NEGRONI, P. y RADICE, J. C. — *Rev. Inst. Bact. Malbrán*, 13, 355, 1947.
- 12) NEGRONI, P. — *DermatOMICOSIS*. Edit. A. López, Buenos Aires, 1942.