

DERMATOFITOS: EVALUACION DE LA UTILIDAD DIAGNOSTICA DEL MEDIO D.T.M. (DERMATOPHYTE TEST MEDIUM).

*Omaira Urbina de Guanipa**
*Felipe San Blas***
*Francisco Yegres**

RESUMEN

Una gran variedad de medios han sido propuestos para simplificar el diagnóstico de las dermatofitosis. DTM permite el aislamiento y reconocimiento de los dermatofitos. Los resultados pueden ser evaluados por el cambio de color del agar, de amarillo a rojo, sin necesidad de examen Microscópico ni de entrenamiento especial en micología. Se utilizó el medio DTM, para evaluar su utilidad práctica en el diagnóstico rápido de las dermatofitosis. Se estudiaron 100 pacientes con diagnóstico presunto de dermatofitosis. Para el examen directo se usó KOH-20%, lugol 3% y tinta Parker. Para el cultivo se usó DTM y lactritmel. En DTM, se recuperaron 58 (95%) cepas de dermatofitos, los cuales modificaron el color del agar en los 4-6 primeros días de siembra. Se observó contaminación por bacterias (2 casos) y hongos (1 caso). Se observó 1 (2%) caso "falso positivo". Por subcultivos en lactritmel se identificaron 3 especies de dermatofitos: *T. rubrum* 22 (38%) casos, *T. mentagrophytes*, 22 (38%) casos, y *M. canis*, 13 (22%) casos. En 1 (2%) caso no se identificó el agente causal. En lactritmel se recuperaron 50 (82%) cepas de dermatofitos. Se observó contaminación en 11 cultivos: hongos saprófitos (9), bacterias (2). Se consideran algunas ventajas del medio lactritmel. Los resultados indican que DTM permitió

* Profesores de la Universidad Francisco de Miranda. Coro, Estado Falcón

** Investigador del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Caracas.

una mayor recuperación de dermatofitos que lactritmel, reduciendo la contaminación por hongos saprófitos y bacterias. Se concluye que el DTM es un medio útil y rápido para el diagnóstico de las dermatofitosis, lo que facilita la instalación de una terapia adecuada y temprana.

ABSTRACT

A great variety of media have been designed to simplify the diagnosis of dermatofitosis. DTM medium allows the isolation and recognition of the dermatophytes. Results can be evaluated by a color change in the medium without detailed knowledge of colony morphology, which enables unskilled personnel to determine the presence of dermatophytic fungi under most environmental conditions. DTM medium was used to evaluate its usefulness in the rapid diagnosis of dermatophytosis. Patients (100) with positive diagnosis of dermatofitosis were studied. The direct microscopic exam used KOH-20% , lugol 3% , and Parker ink. The culture test used DTM and lactritmel media. A total of 58 (95%) dermatophytes strains were isolated in DTM medium which changed the agar color in 4-6 days. Contamination by bacteria (2 cases) and fungi (1 case) were observed. A "false positive" case was also observed. Subculture in lactritmel medium allowed to identify 3 different species of dermatophytes: *T. Rubrum*, 22 (38%) cases, *T. Mentagrophytes*, 22 (38%) cases, and *M. canis* 13 (22%) cases. In 1 (2%) case, the causal agent was not identified. Lactritmel medium allowed to recover 50 (82%) dermatophytes strains. Contamination was observed in 11 cultures: saprophytic fungi (9) and bacteria (2). Some advantages of lactritmel medium are considered. The results indicate that DTM medium allowed a major recovery of dermatophytes strains than lactritmel medium and reduced fungal and bacterial contamination. It is to conclude that DTM medium is a rapid and useful method to diagnoses dermatophytosis, which facilitates the instalation of an early and adequeted therapy.

INTRODUCCION

El diagnóstico de laboratorio de las dermatofitosis, está basado en la demostración microscópica de las hifas características de los dermatofitos en muestras de capa córnea de la piel, cabellos y uñas y sus detritus. La identificación o diferenciación por especies, de los dermatofitos, se basa en las características macro y microscópicas de las fase asexual del hongo en el cultivo (Beneke, E. 1980). El diagnóstico de estas micosis y la identificación de sus agentes causales requiere una formación o entrenamiento en micología y experiencia necesaria para realizar la diferenciación de las colonias en el cultivo.

Se han invertido grandes esfuerzos tratando de establecer medios de cultivo que permitan el aislamiento e identificación de los dermatofitos en una forma sencilla, rápida, confiable y a un bajo costo. Una gran variedad de medios (Beneke, E. 1980; Borelli, D. 1962; Banerjee, U. 1984; Kaminski, G. 1985) han sido propuestos con este propósito.

En 1969, Taplin, D. y colaboradores desarrollan un medio de cultivo, conocido como Dermatophyte Test Medium o DTM, que permite el aislamiento y reconocimiento de los dermatofitos, por el cambio de color del medio, sin necesidad de examen microscópico ni de entrenamiento especial en micología. El valor de este medio reside en su capacidad para inhibir bacterias y hongos saprófitos contaminantes, permitiendo a los dermatofitos crecer y producir metabolitos alcalinos, los cuales, cambian el indicador "rojo de fenol" del medio, de amarillo a rojo. (Taplin, D. 1969).

En el Laboratorio de Micología del CIB-UNEFM, se utilizó el medio DTM suministrado por el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), para evaluar la utilidad práctica del medio con fines de diagnóstico, lo cual aseguraría una terapéutica acertada.

MATERIALES Y METODOS

Se practicó estudio micológico a 100 pacientes que acudieron al Laboratorio de Micología del CIB-UNEFM, con diagnóstico clínico presuntivo de dermatofitosis.

Se utilizaron cepas de *C. carrionii*, *C. albicans* y *P. brasiliensis* como control en la observación del cambio de color del medio DTM.

Examen Microscópico Directo

Muestras de capa córnea de la piel, cabellos y uñas y sus detritus fueron tratadas según fórmula preparada en nuestro laboratorio (YOMA): KOH al 20% ; lugol al 3% y tinta Parker, para el análisis microscópico directo.

Cultivo

Para el aislamiento e identificación de los agentes causales, se usaron el medio DTM (Taplin, D. 1969) y el medio lactritmel (Borelli, D. 1962) en tubo y lámina (micro-cultivo).

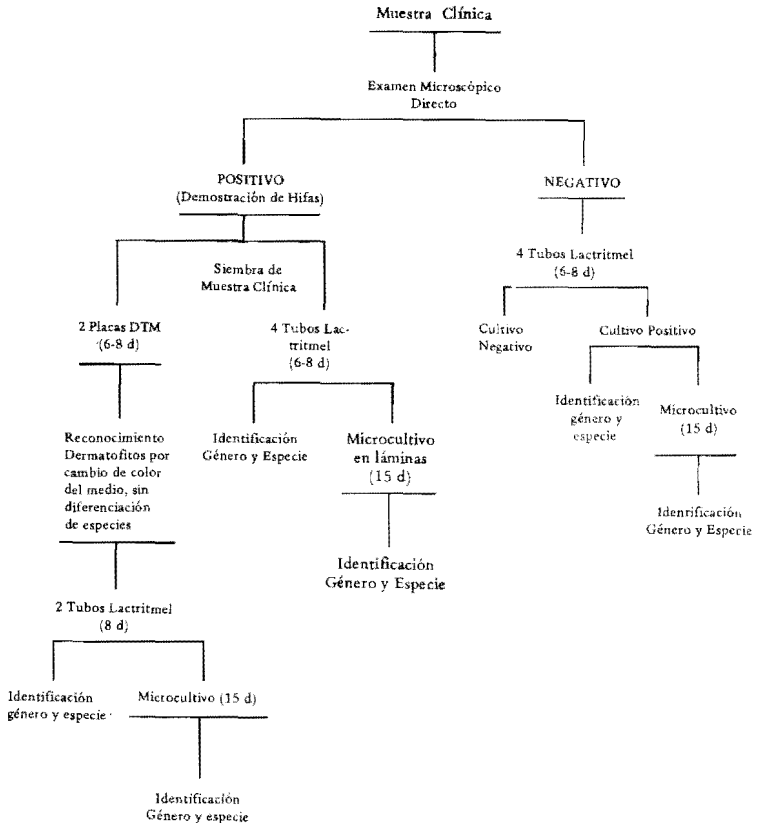
DTM

Agua destilada	1000 m
Phytonea	10 gm
Dextrosa	10 gm
Agar agar	20 gm
Rojo fenol	40 ml
HCL 0.8 M.	6 ml
Cicloheximida	0.5 gm
Sulfato de Gentamicina	100 μ /ml
Clortetraciclina HCL	100 μ /ml

LACTRITMEL

Agua destilada	800 ml
Harina de trigo	20 gm
Leche pasteurizada	200 ml
Miel	10 gm
Agar (Bacto) agar	10 gm
Cloranfenicol	250 mg

Se cumplió con el siguiente esquema, para el aislamiento e identificación de los agentes causales.



RESULTADOS:

Medio DTM:

La *tabla 1*, muestra que en 61 casos se comprobó, por examen microscópico directo, el parasitismo por dermatofitos. Se observó que tinea pedis, 30 (49%) casos y tinea corporis, 20 (39%) casos fueron las afecciones micóticas más frecuentes.

TABLA 1: DISTRIBUCION DEL NUMERO DE CASOS ESTUDIADOS.

Número de casos atendidos	100
Número casos positivos	61 (61%)
Tinea pedis	30
Tinea corporis	20
Tinea cruris	6
Tinea unguis	4
Tinea capitis	1

La *tabla 2*, muestra las diversas localizaciones de las lesiones de las cuales se tomaron las muestras clínicas estudiadas, con examen microscópico directo positivo. Se observó mayor frecuencia en pies 30(49%) y manos 10(16%).

TABLA 2: LOCALIZACION DE MUESTRAS CLINICAS POSITIVAS AL EXAMEN DIRECTO

Localización	N°
Pies	30
Región inguinocrural	6
Nariz	1
Piernas	1
Glúteos	3
Manos	10
Oreja	1
Uñas	4
Boca	1
Cuello	1
Tórax	1
Espalda	1
C. Cabelludo	1

La *tabla 3*, muestra los resultados del cultivo. Se observó el cambio de color, de amarillo a rojo, del medio DTM en 58 (95%) de los 61 casos positivos al examen directo. En los 3 (5%) casos restantes, se observó el crecimiento de bacterias (2 casos) y hongos saprófitos contaminantes (1 caso). Se confirmó la presencia de dermatofitos, en los 58 casos, por microscopía, morfología y subcultivos. Se observó 1 (2%) caso falso positivo debido a la producción de alcali, en el medio, por bacterias. Los hongos contaminantes aislados (2%) y las cepas de *C. carrionii*, *C. albicans* y *P. brasiliensis* no produjeron cambio de color en el medio DTM.

TABLA 3: N° DE ORGANISMOS AISLADOS Y N° DE ORGANISMOS PRODUCIENDO CAMBIO DE COLOR EN EL MEDIO D.T.M.

	Derma- tofitos	<i>C. albi- cans</i>	<i>C. carrio- ni</i>	<i>P. bras- liensis</i>	Hongos Contami- nantes	Bacterias
N° de Organismos aislados	58	1		1	1	2
N° de Organismos que viraron el medio a rojo	58	0	0	0	0	1

La *tabla 4*, señala las tres especies de dermatofitos aislados: *T. rubrum* 22 (38%); *T. mentagrophytes*, 22 (38%) casos y *M. canis* 13 (22%) casos. En 1 (2%) caso, no se pudo identificar el agente aislado.

TABLA 4: DISTRIBUCION POR LOCALIZACION Y AGENTES CAUSALES

	<i>M. canis</i>	<i>T. rubrum</i>	<i>T. mentagro- phytes</i>	Dermatofi- to Sp.	Total
Pie	6	7	14		27
Ingle		6			6
Uña	2	1		1	4
Nariz	1				1
Glúteo		2	1		3
Piernas	1				1
Manos	2	4	4		10
Oreja			1		1
Boca			1		1
Cuello		1			1
Tórax		1			1
Espalda			1		1
C. Cabelludo	1				1
Total	13	22	22	1	58

La *tabla 5*, resume los resultados del estudio y muestra que de 100 pacientes estudiados, hubo confirmación positiva para dermatofitosis, por microscopía, en 61 casos y por cultivo en DTM en 58 (95%) casos. Se observó crecimiento bacteriano en 2 (3%) casos y contaminación por hongos saprófitos en 1 (2%) caso. Se identificaron 57 (99%) cepas de dermatofitos subcultivando en lactritmel, los microorganismos aislados en DTM. En las placas inoculadas con las muestras negativas al examen directo no se observó crecimiento microbiano.

Medio lactritmel

La *tabla 6*, indica que de los 61 casos positivos, al examen directo, se recuperaron 50 (87%) cepas de dermatofitos en el medio lactritmel. En 9 (15%) cultivos, se observó contaminación por hongos y 2 (3%) por bacterias. En los tubos inoculados con las muestras clínicas negativas al examen directo no se observó crecimiento microbiano.

TABLA 5. DTM: ESTUDIO MICOLOGICO COMPUTO TOTAL

Pacientes examinados	100
Examen Microscópico Directo Positivo	61
Examen Microscópico Directo Negativo	39
Cultivos Positivos en DTM (Cambio de color del medio)	58
Cultivos Negativos en DTM.	42
Bacterias (Sin modificar el color del medio)	1
Bacterias (Con modificación del color del medio: "falso positivo")	1
Hongos contaminantes (Sin modificar del color del medio)	1
Subcultivo en Lactritmel a partir del DTM.	58
Cepas cultivadas en DTM e identificadas usando Lactritmel	57
<i>T. rubrum</i>	22
<i>T. mentagrophytes</i>	22
<i>M. canis</i>	13
Dermatofito Sp.	1
Crecimiento de otras especies no Dermatofíticas en DTM.	3
* <i>C. albicans</i>	1
* <i>C. carrioni</i>	1
* <i>P. brasiliensis</i>	1

* Microorganismos usados como control en la observación del cambio de color del medio DTM.

TABLA 6: NUMERO DE AISLAMIENTOS EN LACTRITMEL VS. DTM.

	Dermatofitos	* <i>C. albicans</i>	* <i>C. carrioni</i>	* <i>P. brasiliensis</i>	Hongos Contaminantes	Bacterias
Lactritmel	50 (82%)	1	1	1	9 (15%)	2 (3%)
DTM.	58 (95%)	1	1	1	1 (2%)	2 (3%)
Total cultivos	108	2	2	2	10	4

* Cepas usadas como control en la observación del cambio de color del medio DTM.

DISCUSION

Los resultados indican que el medio DTM permitió una mayor recuperación (95%) de dermatofitos que el medio lactritmel (82%). Se observa que el crecimiento de hongos contaminantes es menor en el medio DTM (2%) que el medio lactritmel (10%), tabla 6.

El medio casero de Borelli (lactritmel) permitió no sólo el aislamiento de dermatofitos sino la identificación de éstos en un período de 8-10 días. Este medio permite hacer diferenciación de especie en el tubo y/o lámina de cultivo, por morfología de colonias, producción de pigmentos y la presencia de las estructuras reproductoras características de los dermatofitos. La identificación del hongo en el tubo de cultivo, en algunos casos, no sólo hizo innecesario el microcultivo sino que acortó el tiempo de la confirmación del género y especie implicado en el proceso infeccioso.

El medio DTM permitió el aislamiento y reconocimiento, por cambio de color del medio, de dermatofitos en el 95% de los casos positivos al examen directo. El cambio de color del indicador "rojo de fenol", en el medio DTM, de amarillo a rojo se pudo observar entre los 4 y 6 primeros días después de la siembra de la muestra clínica, por lo que se considera como un método rápido y seguro para el aislamiento y reconocimiento de los dermatofitos.

El medio DTM, interfirió con la morfología microscópica de los dermatofitos siendo necesario subcultivar, en lactritmel en tubo, para la recuperación de las cepas y posterior identificación o diferenciación de especies. Se considera que algún compuesto del medio, o algún metabolito producido después del crecimiento del hongo, inhibe la formación de las estructuras reproductoras características de los dermatofitos, lo que impide el reconocimiento de los géneros cuando se realiza el microcultivo a partir del DTM.

CONCLUSIONES

El análisis de los resultados del estudio permite concluir:

El medio DTM, si se compara con el medio lactritmel, permite una mayor recuperación de dermatofitos reduciendo la contaminación por hongos saprófitos y bacterias. Sin embargo, ciertas bacterias pueden alcalinizar el medio DTM y hacer virar el "rojo de fenol" de amarillo a rojo, dando lugar a "falsos positivos". El profesional encargado de interpretar los resultados debe poseer cierta experiencia en Bacteriología y/o Micología para diferenciar bacterias de dermatofitos, en estos casos.

En comparación con el medio lactritmel, el medio DTM es más costoso ya que utiliza ingredientes más sofisticados y de difícil importación (materiales y métodos). El lactritmel se prepara con ingredientes que están al alcance de cualquier laboratorio (leche, harina de trigo, miel, agar, etc.).

El medio DTM, aunque limita la investigación debido a que no permite la diferenciación de los dermatofitos por especies, es un medio útil y rápido para el aislamiento y reconocimiento de los dermatofitos y permite además el crecimiento de otras especies no dermatofíticas, tales como: *C. carrionii*, *C. albicans* y *P. brasiliensis*, las cuales no modifican el color del medio. Las personas no especializadas en micología pueden reconocer la presencia de dermatofitos en una muestra clínica, cultivada en DTM, por la observación del cambio de color del agar de amarillo a rojo. El medio DTM facilita el diagnóstico y permite sólo en 4-6 días la instalación del tratamiento apropiado. Se considera, por lo tanto, que el medio DTM es útil en el diagnóstico, rápido de las dermatofitosis, lo cual, asegura una terapéutica acertada.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- BANERJEE, U. and TALWAR, V. Evaluation of modified dermatophyte test medium for isolation of dermatophytes. *Mycosen* (1984) 27, N° 9, p. 465.
- BENEKE, E.S. y ROGERS, A.L. *Medical Mycology Manual*. Fourth Edition. Burgess Publishing Co. U.S.A., 1980. p.p. 30-40.
- BORELLI, D. Medios caseros para Micología. *Arch. Venez. Med. Trop. y Paras. Med.* IV/2: 301-310, 1962.
- KAMINSKI, G. The routine use of modified Borelli's lactritmel agar (MBLA). *Mycopathologia* 91, 57-59 (1985).
- TAPLIN, D., N. ZAIAS; G. REBELL, and H. BLANK. Isolation and Recognition of Dermatophytes on a New Medium (DTM). *Arch. Dermatology* (1969). Vol. 99 N° 1-3 p.p. 203-209.