

QUERATINOLISIS CAUSADA POR HONGOS NO DERMATOFITOS AISLADOS DE UNA TENERÍA Y UN MATADERO EN MARACAIBO-VENEZUELA: REVISIÓN DE LA EXPRESIÓN MORFOLÓGICA

KERATINOLYSIS CAUSED BY NON-DERMATOPHYTES FUNGI ISOLATED FROM A TANNERY AND A SLAUGHTERHOUSE IN MARACAIBO-VENEZUELA: REVIEW OF THE MORPHOLOGICAL EXPRESSION

Mitola, G.¹; Escalona, F.²; y Ledesma, A.¹

1. Laboratorios de Microbiología Industrial y del Petróleo.

2. Micología Departamento de Biología. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia, 4011. Maracaibo-Venezuela P.O. Box. 526. aledesma@luz.ve.

Resumen

La queratinolisis por hongos, un proceso enzimático, puede ser evidenciada "*in vitro*" a través de la colonización de sustratos queratináceos. Las observaciones microscópicas de pelo humano atacado por especies y/o cepas de *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Chrysosporium*, *Curvularia*, *Dreschlera*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Trichoderma*, aisladas mediante el método de "cebo de pelo", en una tenería y un matadero de Maracaibo-Venezuela, manifestaron la producción de estructuras fúngicas especializadas típicas, más un "desfibrilamiento" del sustrato causado por algunos aislamientos. Se presenta una revisión de literatura referida al análisis de la expresión morfológica de la queratinolisis.

Palabras clave: Queratinolisis, sustratos queratináceos, hongos mitospóricos y ascomicetos, expresión morfológica.

Abstract

Keratinolysis caused by fungi, an enzymatic process, can be observed "*in vitro*" through the colonization of keratinous substrates. Microscopic observations of human hair attacked by species or strains of *Aspergillus*,

Chaetomium, *Chrysosporium*, *Curvularia*, *Dreschlera*, *Fusarium*, *Penicillium* and *Trichoderma* isolated by means of the hair bait method in a tannery and slaughterhouse in Maracaibo, Venezuela, indicate the production of typical specialized fungi structures and a de-fiberizing substrate caused by certain isolates. A review of literature is presented in reference to the morphological expression of keratinolysis.

Key words: Keratinolysis, keratinous substrates, mitosporic and ascomycetes fungi, morphological expression.

Recibido: 27-07-2001. Aceptado: 10-10-2001.

Introducción

La queratina (15), una escleroproteína altamente resistente, integra la mayor parte del material contenido en las células que forman la epidermis de la piel de mamíferos, pelos, uñas, escamas, plumas, espinas, cuernos y pezuñas de animales; también, es componente de la lana y la matriz de los dientes (16, 32).

Los residuos de material queratinizado al acumularse en el suelo, generalmente cerca de zonas pobladas, constituyen un factor de contaminación; en este sentido, los hongos capaces de ejercer una acción de queratinolisis sobre estos sustratos juegan un rol ecológico importante en la descomposición de estos residuos (31).

La degradación de la queratina, un proceso enzimático (18), puede ser evidenciada morfológicamente, sobre los sustratos queratináceos a través de la expresión de estructuras fúngicas especializadas emitidas por los hongos que los atacan. Bioquímicamente, la sulfitólisis es la reacción clave de la queratinolisis producida por hongos; sin embargo, no se descarta que en este proceso enzimático también intervengan reacciones de deaminación y proteólisis. Kunert (18) señala, que estas tres actividades también las manifiestan, parcialmente, hongos no queratinolíticos.

En los hábitats naturales, la queratinolisis fúngica, la ejercen especies de hongos queratinolíticos, casi siempre acompañados por especies queratinofílicas. Las primeras se definen como las que presentan capacidad para destruir y/o descomponer a la queratina, mientras las segundas, las cuales ocurren con frecuencia sobre los sustratos queratináceos, sólo son capaces de utilizar

materiales asociados a la queratina tales como el contenido intercelular, sedimentos protoplasmáticos o algunos derivados de la degradación parcial de ésta ([11](#), [17](#), [21](#), [23](#)).

Los hongos queratinolíticos más activos son los dermatofitos (particularmente especies de *Microsporum* y *Trichophyton*) y los relacionados con éstos (*Aphanoascus*, *Chrysosporium*, *Geomyces*, *Malbranchea*, *Gymnoascus*, y *Myceliophthora*, entre otros). Los dermatofitos son un grupo de especies conformados en los géneros pertenecientes a *Epidermophyton*, *Microsporum* y *Trichophyton* y las cuales están relacionadas con las tiñas o empeines, (dermatofitosis en humanos y animales), también poseen propiedades queratinofílicas por excelencia ([10](#), [29](#)). Estos hongos, aislados del suelo, como saprófitos digieren la queratina "in-vitro" al utilizarla como sustrato y, como patógenos invaden tejidos "in-vivo". No obstante, su morfología en la fase de crecimiento parasítico es diferente de la exhibida en cultivo ([29](#)). Muchas analogías han sido demostradas "in-vitro" referidas al modo en como son atacados los pelos por dermatofitos y hongos comunes del suelo tales como *Chrysosporium tropicum* y *Scopulariopsis brevicalis* ([10](#)).

Kunert ([18](#)), en una extensa revisión bibliográfica, sugiere que entre hongos considerados fuertemente queratinolíticos, débilmente queratinolíticos y aquellos que sólo digieren componentes no queratínicos no hay una clara separación de grupos. Cepas fúngicas queratinolíticas han sido encontradas entre los Onygenales y también en otros grupos fúngicos, incluidos los Mucorales.

El conocer que estos "grupos" fúngicos ocupan hábitats tales como sitios de trabajo y de recreación, es de importancia en cuanto muchas especies de los hongos queratinolíticos propiamente, y también queratinofílicos, son patógenos potenciales de humanos y animales ([3](#), [4](#), [11](#)). Por otro lado, los estudios que revelan la frecuencia de hongos queratinolíticos y los hábitats que ocupan, los señalan como posibles bioindicadores de polución ambiental ([31](#)); también, a futuro se pueden considerar las posibilidades de la queratinolisis fúngica en la industria de cosméticos, tal como en la actualidad son empleadas las queratinasas proteolíticas alcalinas en la curtiembre de pieles ([7](#)).

Este trabajo, además de comunicar los resultados de una investigación referida a la queratinolisis producida por hongos, plantea una discusión, a modo de revisión, sobre la queratinolisis expresada morfológicamente en la forma de

colonización de los sustratos queratináceos.

Materiales y Métodos

El aislamiento de los hongos, procedentes de una tenería y un matadero municipal ubicados en Maracaibo-Venezuela, se realizó según el método de "cebo de pelo" (TO-KA-VA) ([2](#), [5](#)), en medio agar-Czapek (1,5%) modificado (sin azúcares). Muestras de suelo y/o materiales queratinizados, más 0,5 gr. de trocitos de cabello humano castaño procesado (lavado y desgrasado) y estéril ([6](#), [24](#), [25](#)), fueron sembrados en cajas de Petri: por dispersión superficial, inmersión en agar y cámara húmeda; en esta última se empleó solución Czapek modificada. A continuación, se incubaron a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 6-8 semanas; observaciones macroscópicas al ojo desnudo y con estereoscopio, se hicieron con periodicidad para verificar el crecimiento y desarrollo del micelio ([11](#), [13](#), [24](#)).

Los cultivos puros se obtuvieron resemebrando, en placas de Petri con agar-papa-dextrosa (PDA) más antibióticos ([24](#)) y por el método de diluciones, los hongos que crecieron sobre el sustrato queratináceo. Las placas sembradas se incubaron a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ por 1-2 semanas.

Las colonias puras se transfirieron a tubos de ensayos con PDA, manteniéndolas a temperatura del laboratorio hasta el momento de realizar las pruebas de crecimiento para la determinación de la actividad queratinolítica, como también su posterior identificación.

Las pruebas de crecimiento también se realizaron según el método TO-KA-VA. Secciones de cultivos puros fueron sembradas, separadamente, por dispersión superficial en medio agar-Czapek (1,5%) modificado y, se incubaron a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 30 días.

Concluido el tiempo de incubación, el crecimiento de los hongos se observó en el microscopio estereoscópico y la evaluación de la actividad queratinolítica se realizó bajo el microscopio compuesto. Para esta última, se montaron secciones de cabello atacado, en láminas portaobjetos conteniendo medio de Amann (lactofenol) más azul de algodón; asimismo, secciones de cabellos atacados fueron cortadas, sin orientación definida ni tratamiento especial, en un ultramicrotomo y, con tinción policromática se montaron en láminas portaobjetos ([26](#)), para ser observadas al microscopio. Se realizaron microfotografías de las

estructuras de ataque observadas y dibujos en cámara clara para la representación diagramática de éstas.

La actividad queratinolítica se expresó, como intensidad de actividad queratinolítica (IKA , siglas en inglés); ésta, indicada con una escala de 0 a 100%, es igual a: crecimiento fungal (0-5%) + fructificación (0-5%) + erosión superficial uniforme (10%) + erosión superficial de bolsillo (20%) + hifas barrenas (10%) + hifas barrenas infladas (10%) + hifas barrenas anchas (20%) + órganos de perforación (20%) (3).

La identificación de la taxa fúngica se realizó montando micelio vegetativo y de reproducción, desde cultivos en pruebas de crecimiento, en láminas portaobjetos con azul de algodón en lactofenol. Para la identificación de las especies de *Chrysosporium*, se siguió la metodología empleada por Van Oorschot (33), más el empleo de la técnica del cultivo en láminas (30).

Resultados y Discusión

En las localidades muestreadas se obtuvieron un total de 67 aislamientos con actividad queratinolítica. En la Tabla 1 se muestran la taxa identificada y localidad correspondiente. La mayor cantidad de aislamientos se obtuvo de la tenería; el número y diversidad de queratinolíticos allí aislados se corresponde con la abundancia y tipos de material queratináceo que se ha almacenado en ese lugar durante varios años; en consecuencia, los hongos saprofitos, ocupantes de estos hábitats, tienen una mayor oportunidad para colonizar los sustratos propios de estos depósitos.

Tabla 1
Número de aislamientos obtenidos
por localidad muestreada

Taxa	Tenería	Matadero
<i>Aspergillus</i> spp.	16	4
<i>Chaetomium</i> spp.	2	--
<i>Chrysosporium</i> spp.	4	5
<i>Curvularia</i> spp.	--	3
<i>Dreschlera</i> spp.	1	1
<i>Fusarium</i> spp.	10	2
<i>Micelia esterilia</i>	8	--
<i>Monileaceae</i>	1	1
<i>Penicillium</i> spp.	3	1
<i>Trichoderma</i> spp.	3	--
<i>Zygomycota</i>	1	1
Total	49	18

El método de “cebo de pelo” empleado, demostró eficiencia para el aislamiento. Asimismo, la mayor cantidad de hongos se aisló a partir de la siembra por dispersión superficial; por este procedimiento de siembra los hongos presentaron un mayor crecimiento sobre el sustrato. El ambiente aeróbico dado en la superficie del medio y la ausencia de competidores, los cuales ocurren con mayor frecuencia en la cámara húmeda, aseguran en parte, el éxito de los hongos en la colonización de sustratos queratináceos (8).

Para el estudio de la intensidad de actividad queratinolítica, fueron seleccionados 37 aislamientos correspondientes a las diferentes taxa. Se observaron intensidades de actividad queratinolítica entre 10 y 80% (Tabla 2).

Tabla 2
Expresiones morfológicas de queratinolisis fúngica "in-vitro"

Género y/o especie	C	F	ES		PR				IKA	Obs
			esu	esb	hb	hbi	hba	op		
<i>Aspergillus sp.</i>	5	5							10	D
<i>Aspergillus sp.</i>	5	5	10						20	D
<i>Aspergillus spp. (7)*</i>	5	5	10						20	
<i>Chaetomium spp. (2)</i>	4	4	10						18	D
<i>Ch. georgii</i>	5	5	10		10				30	
<i>Ch. Keratinophilum</i>	5	5	10		10			20	50	D
<i>Ch. lucknowense</i>	5	5	10		10				30	D
<i>Ch. Anamórfico</i>	5	5	10		10	10	20		60	
<i>de Pectinotrichum</i>										
<i>llanense</i>										
<i>Ch. queenslandicum</i>	5	5	10		10	10	20	20	80	D
<i>Ch. anamórfico de</i>	5	5	10		10				30	D
<i>Rollandina vriesii</i>										
<i>Ch. tropicum</i>	5	5		20			20		50	
<i>Chrysosporium sp.</i>	5	5	10		10			20	50	E
<i>Curvilaria spp. (2)</i>	3	4	10						17	
<i>Curvilaria sp.</i>	5	4	10					20	39	
<i>Dreschlera sp.</i>	2	4	10						16	
<i>Fusarium sp.</i>	5	5	10			10	20		49	
<i>Fusarium spp. (9)</i>	4	5	10						19	
<i>Penicillium spp (2)</i>	4	5	10						19	
<i>Trichoderma sp.</i>	4	5	10						19	E
<i>Trichoderma spp. (2)</i>	4	5	10					20	39	

* La cifra entre paréntesis refiere el número de aislamiento probados.

D: Se observó un desfribilamiento del sustrato.

C: Crecimiento

F: Fructificación

Modo de ataque y/o estructura fúngica especializada producida (3-11): ES, erosión superficial (esu, superficial; eub, de bolsillo); PR, penetración radial (hb, hifa barren hbi, inflada; hba, ancha; op, órgano de perforación).

IKA (3) (Intensidad de la actividad queratinolítica): 0-10, sin actividad queratinolítica; 10-40, con actividad queratinolítica débil; 40-60, con actividad queratinolítica media; 60-100, con actividad queratinolítica fuerte.

Un IKA con un valor de 100% corresponde a una degradación completa del

pelo como sustrato (3). Para los hongos, valores de IKA entre 0 y 10 indican no actividad queratinolítica; 10-40, débilmente queratinolítico; 40-60 medianamente queratinolítico; y 60-100, fuertemente queratinolítico.

El IKA, es la expresión de los cambios producto del crecimiento y desarrollo del hongo sobre el pelo y el modo de ataque a éste; todo ocurrido "in-vitro" (3). Es igual a la sumatoria del crecimiento y desarrollo (producción de estructuras reproductivas-fructificación) del hongo, más su colonización del sustrato; expresada morfológicamente, como la ocurrencia de erosión superficial y producción de órganos de perforación.

La erosión superficial, puede ser uniforme (Fig. 1, 2, 3, 4) y de bolsillo (Fig. 5). La penetración radial (de estructuras fúngicas especializadas), puede producirse mediante hifas barrenas infladas y anchas (Fig. 1, 4), y órganos de perforación (Fig. 6). Filipello (12) define las hifas barrenas anchas como estructuras intermedias en diámetro entre hifas barrenas y órganos de perforación y, a las hifas barrenas infladas como estructuras semejantes a las hifas barrenas, sólo que dilatadas en el extremo distal.

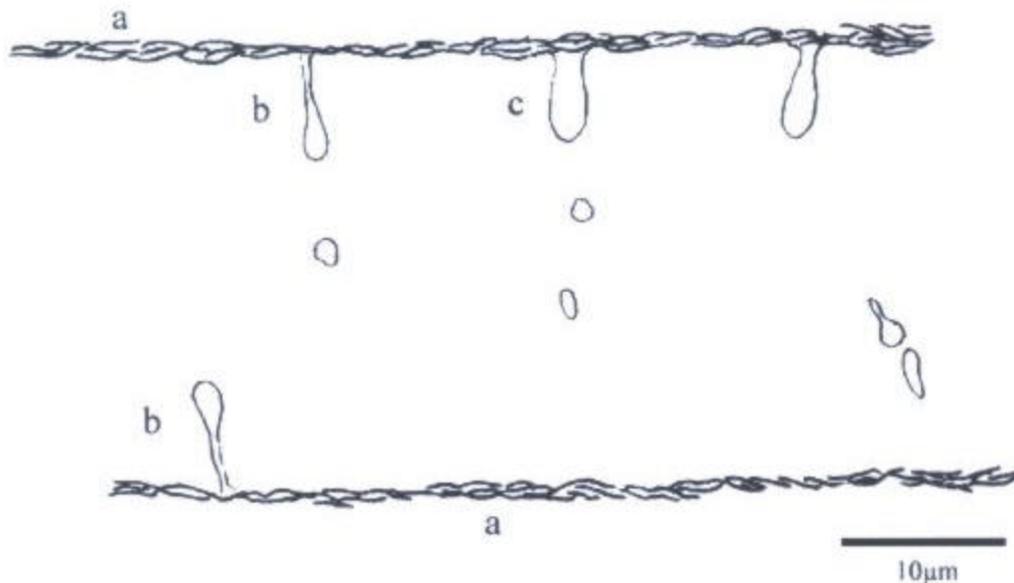


Figura 1. Fusarium sp. Dibujo esquemático de pelo humano. Montaje directamente en solución de Amann - azul de algodón. a, erosión superficial uniforme; b, hifas barrenas ancha; c, micelio frondeado interno.

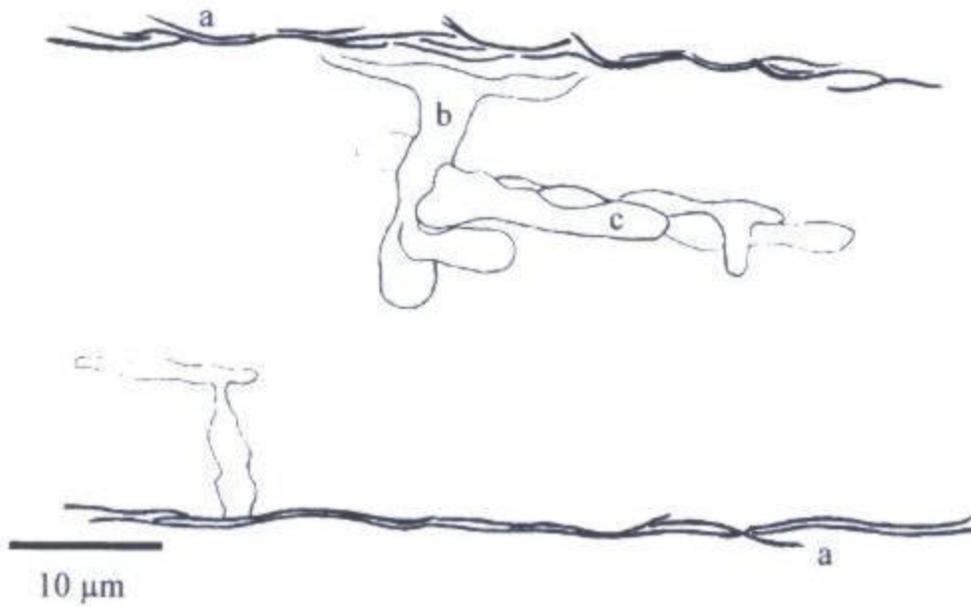


Figura 2. Chrysosporium anamorfo de Pectinotrichum llanense. Dibujo esquemático de pelo humano montado directamente en solución de Amann azul de algodón. a. erosión superficial uniforme; b. hifas barrena anchas; c, micelio frondeado interno.

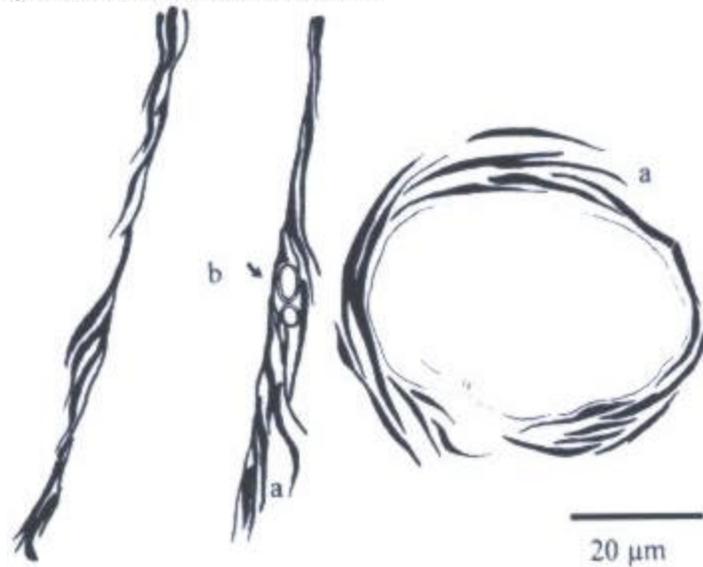


Figura 3. Dibujo esquemático de pelo humano cortado longitudinal y transversalmente. en ultramicrotomo. a. erosión superficial uniforme; b. clamidosporas producidas por la cepa fúngica.

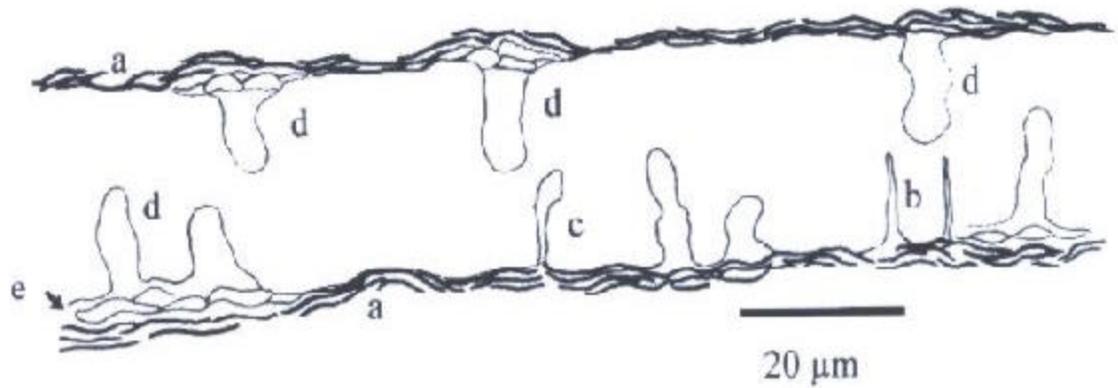


Figura 4. *Chrysosporium queenslandicum*. Dibujo esquemático de pelo humano montado directamente en solución de Amann-azul de algodón, a, erosión superficial uniforme; hifas barrenas; c, hifas barrenas infladas; d, hifas barrenas anchas; e, fronda micelia

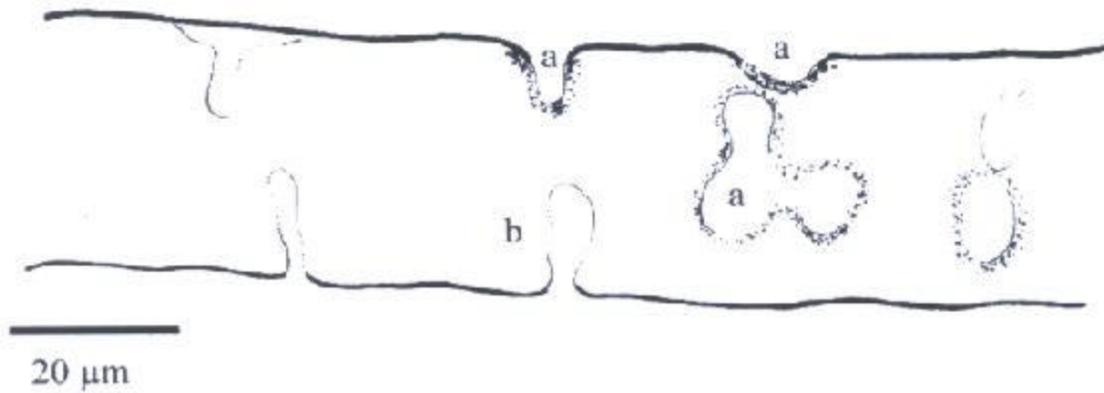


Figura 5. *Chrysosporium tropician*. Dibujo esquemático de pelo humano montado directamente en solución de Amann-azul de algodón, a, erosión superficial de bolsillo; b, hifas barrenas anchas.

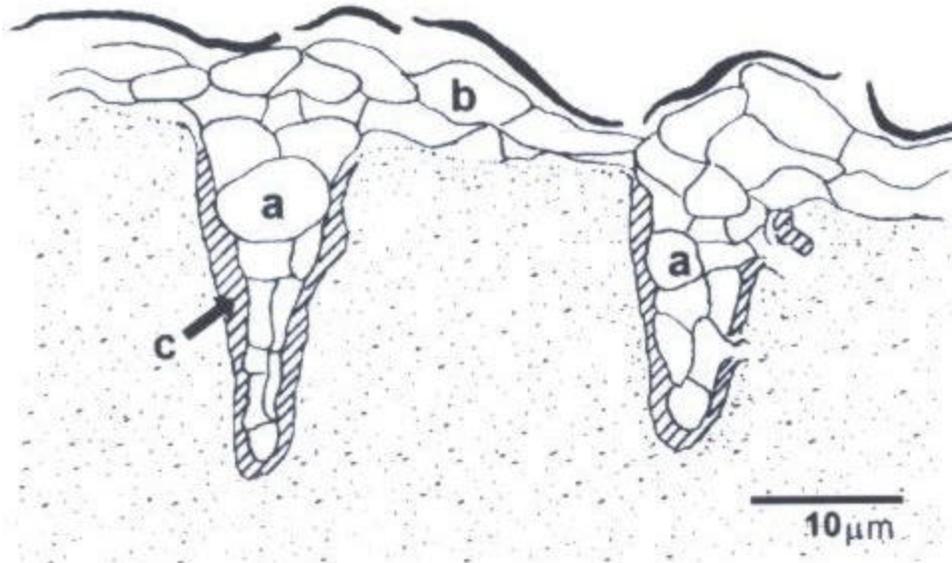


Figura 6. *Chrysosporium* sp. Dibujo esquemático de pelo humano montado directamente en solución de Amann-azul de algodón, a, órgano de perforación; b, fronda micelial; c, espacios líticos alrededor de los órganos de perforación.

English (8) sugiere, que el total de hongos con capacidad para atacar materiales queratinizados forman frondas miceliales (Fig. 4, 6); esta habilidad puede ser una condición previa para el posterior crecimiento del hongo sobre materiales estratificados físicamente resistentes. Las frondas miceliales típicamente ocurridas a nivel de cutícula, también pueden formarse internamente (Fig. 2). La presencia de estas, bien externa o internamente, no tienen valor en la sumatoria del IKA.

Las frondas miceliales en los hongos queratinofílicos tienen capacidad para erosionar, no así las frondas miceliales de los hongos no queratinofílicos. English (9) no pone en duda que ambos tipos sean análogos, sólo que las frondas de los queratinofílicos ejercen una acción queratinolítica. Por otro lado, los dermatofitos, los cuales poseen propiedades queratinolíticas y queratinofílicas (29), en su fase parasítica no forman frondas que erosionan, como tampoco órganos de perforación. Similar caso se presenta cuando hongos saprófitos actuando como oportunistas infectan uñas, orejas o corneas (9): no producen frondas miceliales ni hifas barrenas.

Las frondas miceliales en los hongos queratinofílicos tienen capacidad para

erosionar, no así las frondas miceliales de los hongos no queratinofílicos. English (9) no pone en duda que ambos tipos sean análogos, sólo que las frondas de los queratinofílicos ejercen una acción queratinolítica. Por otro lado, los dermatofitos, los cuales poseen propiedades queratinolíticas y queratinofílicas (29), en su fase parasítica no forman frondas que erosionan, como tampoco órganos de perforación. Similar caso se presenta cuando hongos saprófitos actuando como oportunistas infectan uñas, orejas o córneas (9): no producen frondas miceliales ni hifas barrenas.

Las hifas barrenas son producidas también por hongos celulolíticos, como por ejemplo *Chaetomium globosum*, *Curvularia lunata* (9); estas estructuras fúngicas especializadas tienen bastante similitud en origen, forma y propósito, a la punta (hifa) de penetración de los haustorios que producen algunos hongos fitopatógenos.

Las hifas barrenas, producidas sólo por ciertas especies de hongos capaces de atacar la corteza de materiales queratinizados, a diferencia de las frondas no tienen función de nutrición; son producidas sólo sobre sustratos físicamente resistentes incapaces de desintegrarlos, tienen una función única: penetración mecánica (9). English señala además, que la queratina dura presente en uñas y corteza de pelos y espinas, puede ser penetrada por hifas barrenas, mas no digerida. Böhme y Ziegler, referidos por Filipello (11), han demostrado la actividad queratinolítica de las hifas barrenas.

Los órganos de perforación (los cuales tienen propiedades queratinolíticas intrínsecas) y las hifas barrenas son semejantes en cuanto a forma (columnares) y modo de penetrar el sustrato (radialmente, ejerciendo presión mecánica), pero difieren en estructura y origen. Los primeros son anchos, cortos y de varias células, siempre derivando desde frondas que erosionan; en contraste, las segundas estrechas y con pocos o ningún septo ocurren desde frondas miceliales que no erosionan (9).

Las estructuras fúngicas especializadas producidas por los hongos queratinofílicos para atacar la queratina, no se ha demostrado que sean únicas dentro de este grupo de hongos; pero sí el desarrollo de las misma, consecuencia de sus propiedades queratinolíticas (9).

Kunert (18) indica que la producción de estructuras especializadas, producidas por hongos que utilizan sustratos queratinizados, puede ser afectada por la

desnaturalización parcial de los sustratos, ocasionada por un mal procesamiento y esterilización inapropiada del material queratináceo. Además, señala diferentes modos y/o formas adecuados para ejecutar los procedimientos referidos.

La queratinolisis al ser medida "*in-vitro*" en base a la evidencia de una expresión morfológica desarrollada por hongos, además de ser referida en porcentaje de intensidad de actividad queratinolítica (IKA), también puede ser evaluada utilizando otros parámetros.

Filipello (11) y Filipello, Fusconi y Rigo (12) refieren esta misma colonización en sustratos queratinizados; no obstante, sólo le asignan valores cualitativos.

English (9) al cultivar hongos no queratinolíticos en queratina, como única fuente de nutriente, estableció una clasificación para estos según la naturaleza del sustrato queratinizado atacado y el modo como se produjo el ataque. Para 33 especies de estos hongos correspondientes a 25 géneros, formó 6 grupos: **Grupo Ia**, aquellos que desintegraron la corteza de pelos humanos, de ganado y espinas de erizo, formando hifas barrenas y micelio frondeado; también, capaces de desintegrar médula del pelo de ganado y espinas, uñas y callos. **Grupo Ib**, semejante al grupo **Ia**, pero con una desintegración producto del micelio frondeado solamente. **Grupo II**, aquellos que penetraron corteza de pelo y espinas con hifas barrenas, sin desintegrarlo al no formar frondas. **Grupo III**, aquellos que no penetraron o desintegraron corteza de pelos o espinas; no obstante, sí desintegraron médula de pelo de ganado y espinas, también uñas y callos. **Grupo IV**, aquellos que no penetraron o desintegraron corteza de pelos o espinas; con crecimiento leve y sin destrucción visible en médula de pelos de ganado y espinas y, callos. **Grupo V**, aquellos que no crecieron sobre ninguno de los sustratos probados.

Filipello (11, 12, 14), para medir la intensidad de ataque al pelo, tanto de hongos queratinolíticos como queratinofílicos, estableció una escala de 0 a 4, discriminada así: 0, ningún ataque; 0-1, ligero ataque sobre la cutícula; 1, moderado ataque sobre la cutícula y/o rara formación de hifas barrenas; 2, ataque sobre la cutícula y corteza, con un 20% aproximado de destrucción del pelo; 3, como en 2, con alrededor de 50% de destrucción del pelo y, 4, como en 2, con alrededor de 80% de destrucción del pelo. Este modelo considera el ataque a la cutícula y corteza del pelo (al igual que la colonización referida al IKA) y además incluye el porcentaje de pelo destruido. El ataque hace

referencia a la misma colonización para la estimación del IKA, incluido, por supuesto, el crecimiento y la colonización.

Filipello (11) refiere que los valores obtenidos producto de las pruebas de queratinolisis podrían ser una guía para evaluar la eficiencia de ésta; no obstante, en caso que la evaluación se haga en base a la expresión morfológica emitida por el hongo atacante, es oportuno destacar que los modos de invasión varían de acuerdo a la naturaleza física del sustrato. English (9), luego de trabajar con hongos no queratinofílicos señala que aquellos sustratos de estructura estratificada y resistente inducen la formación de frondas miceliales y estructuras barrenadoras sobre queratina blanda (callos) y tricohialina (medula de pelos y espinas), raramente se producen frondas y nunca hifas barrenadoras.

Todas las cepas de *Aspergillus* examinadas crecieron y se desarrollaron sobre el sustrato queratináceo; en su mayoría, causaron erosión superficial uniforme. Dos cepas produjeron un **“desfibrilamiento”** del sustrato. Este tipo de efecto, considerado una acción queratinolítica ocasionada por el ataque de hongos, no se encontró reportado en la literatura revisada. El mismo, se describe como una desintegración de la estructura capilar, principalmente en los extremos del pelo (Fig. 7). Un rompimiento axial del cabello es observado en muestras completas de pelo montadas al microscopio óptico compuesto. El “desfibrilamiento” evidencia un ataque avanzado al sustrato, pudiéndose relacionar con acciones enzimáticas ejercida por el hongo. El “desfibrilamiento” del sustrato también lo produjeron cepas de *Chaetomium*, *Trichoderma* y, especies de *Chrysosporium*.

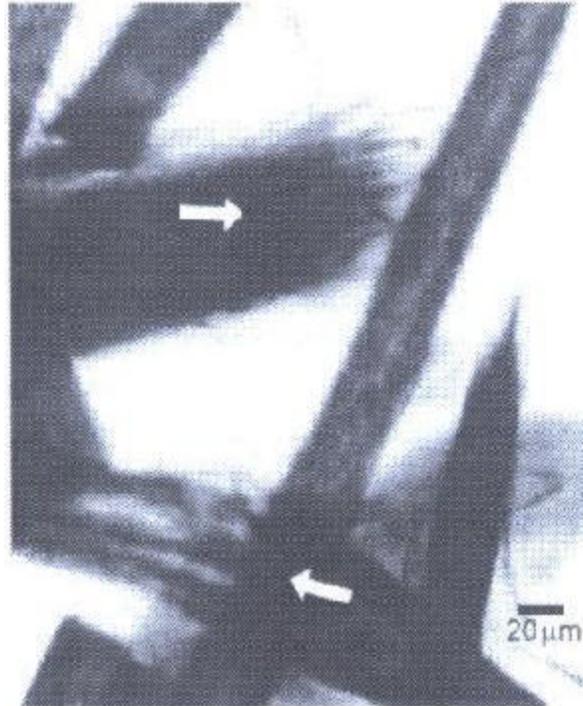


Figura 7. *Chrysosporium queenslandicum*. Fotografía de pelo humano montado directamente en solución de Amann-azul de algodón. Se indica el "desfibrilamiento".

Filipello (11) refiere que un comportamiento fúngico donde sólo ocurra crecimiento y desarrollo, con ausencia de cualquier estructura fúngica especializada, como en las especies de *Aspergillus* estudiadas, probablemente indica la explotación de sustratos no queratínicos presentes en la superficie del pelo.

Especies queratinofílicas de *Aspergillus* aisladas desde aguas y suelos poluidos, como *A. carneus*, *A. ochraceus*, *A. terreus* var. *aureus* (2 aislamientos), *A. versicolor* y *A. wentii*, han presentado una IKA "in-vitro" de 9, 20, 13, 23, 20 y 17, respectivamente (3). Todos estos valores son considerados bajos e indican ninguna y débil actividad queratinolítica.

Santos y col. (27) trabajando con filtrados de *A. fumigatus* demostraron que estos hidrolizan la queratina natural y entre estas, la elastina.

Shrivastava, Ghawana y Kumar (28) trabajando con *Trichophyton simii* y *Aspergillus niger* en medio de cultivo líquido, demostraron que aunque en menor

grado en relación a *T. simii*, bioquímicamente *A. niger* también degrada la lana.

Aspergillus fumigatus y *A. terreus*, especies no queratinofílicas, produjeron micelio frondeado y desintegraron corteza de pelo humano, de ganado, espinas de erizo y también médula de pelo de ganado, espinas, uñas y callos (9).

Especies de *Aspergillus* al igual que especies de *Curvularia* y *Fusarium*, ocasionalmente implicadas en infecciones de tejidos queratinizados en el hombre, fueron capaces de desintegrar toda las formas de queratina dura probada por English (9).

Los reportes referidos a la queratinolisis ocasionada por especies de *Aspergillus* indican que la misma, ocurrida sobre diferentes sustratos queratináceos, se expresa de modo diverso.

El valor de IKA para las cepas de *Chaetomium* estudiadas alcanzó un 18%; el mismo, producto del crecimiento y desarrollo del hongo, sumado a una erosión superficial uniforme. Un comportamiento semejante al manifestado por la mayoría de las especies de *Aspergillus* probadas. Mahmoud, A. (20) reporta a *Chaetomium globosum* como especie queratinofílica.

Los porcentajes de IKA mostrados en la tabla 2 señalan a *Chrysosporium queenslandicum*, *Ch. keratinophilum*, *Chrysosporium* anamórfico de *Pectinotrichum llanense*, *Ch. tropicum* y *Chrysosporium* sp. como las especies con una mayor actividad queratinolítica; éstas alcanzan una IKA que va desde media hasta fuerte; para este último extremo, es el caso específico de *Ch. queenslandicum*. Todas las especies de *Chrysosporium* estudiadas por Van Oorschot (33) son señaladas en términos cualitativos, como queratinolíticas, ligeramente queratinolíticas y no queratinolíticas.

Ch. keratinophilum, *Ch. lucknowense*, *Ch. queenslandicum*, *Chrysosporium* anamórfico de *Rollandina vriesii* y *Chrysosporium* sp., además de ejercer una erosión superficial y una penetración radial, también produjeron un "desfibrilamiento" del sustrato.

En el sustrato queratináceo (pelo) atacado por las especies de *Chrysosporium* fueron muy evidente los espacios líticos (Fig. 6) formados alrededor de los órganos de perforación. Filipello (10), sostiene que estos espacios son considerablemente superiores en tamaños a las estructuras especializadas involucradas en el ataque.

Chrysosporium Corda, es un género de importancia en cuanto a su

potencialidad en la industria farmacéutica y como biorrecuperador de ambientes poluidos y, también como patogénico en humanos y animales (19).

Cepas de *Curvularia*, además de crecer y desarrollarse sobre el sustrato queratináceo lo erosinaron superficialmente. Una especie en particular también penetró el sustrato con órganos de perforación; ésta, al alcanzar una IKA de 39%, se le considera débilmente queratinolítica. *Curvularia lunata* es reportado por Ogbonna y Pugh (22) como especie queratinofílica.

Para cepas de *Dreschlera* no se encontraron en la literatura revisada, referencias sobre queratinolisis; *Dreschlera*, un género con especies habitantes del suelo, como saprófito podría ejercer una acción queratinofílica dentro de este hábitat.

La mayoría de las cepas de *Fusarium* probadas en esta investigación resultaron, en atención a las categorías establecidas por Ali Shtayed, M.S. y M.F. Jamous (3), sin actividad queratinolítica; sin embargo, todas causaron erosión superficial. Sólo una cepa de *Fusarium* produjo además, hifas barrenas infladas y anchas (Fig. 1); con la producción de estas estructuras alcanza una IKA de 49%, lo cual la califica medianamente queratinolítica.

Ali Shtayed (4) reporta a especies de *Fusarium* entre varios hongos considerados principales consumidores de material queratináceo de suelo de parques escolares.

Fusarium nivale (2 aislamientos) y *F. tricinctum* especies queratinofílicas aisladas desde suelos altamente poluidos han desarrollado una IKA "in vitro" de 48, 40 y 30 respectivamente. Una cepa de *F. nivale* produjo erosión superficial uniforme y de bolsillo más hifas barrenas; la otra cepa de esta especie y *F. tricinctum* produjeron erosión superficial uniforme, hifas barrenas e hifas barrenas infladas (3).

Fusarium solani, al ser estudiado "in-vitro" no presentó actividad queratinolítica (11). Mangiaterra y col. (21) mencionan a *F. solani*, *F. oxysporum* y *F. verticilliodes* como especies queratinofílicas. Agut y col. (1), señalan *F. moniliforme* como queratinofílica.

Fusarium oxysporum y *F. solani* al igual que *Curvularia lunata*, *C. ramosa* y *Chaetomium globosum*, son especies no queratinofílicas según la clasificación de English (9); aunque son capaces de desintegrar, valiéndose de micelio frondeado e hifas barrenadoras, corteza de pelos humano y ganado y espinas de

erizo; también médula de pelo de ganado, espinas, uñas y callos.

Todos los aislamientos de *Penicillium* probados, presentaron un comportamiento semejante a los aislamientos de *Aspergillus* (Tabla 2).

Especies queratinofílicas de *Penicillium* aisladas desde hábitats poluidos (suelo y cuerpos de agua) (3), demostraron "in vitro" la IKA siguiente: *P. chrysogenum*, 16%; (porcentaje de IKA), *P. citrinum*, 9%; *P. frequentans*, 66%; *P. funiculosum* (3 aislamientos), 50, 8 y 10%; *P. griseofulvum* (3 aislamientos), 14, 24 y 23 %; *P. islandicum* (4 aislamientos), 25, 25, 50 y 10%; *P. nigricans* (2 aislamientos), 18 y 8% y, *P. verrucosum* var. *cyclopium*, 40%.

Penicillium viridicatum es reportada por Agut y col. (1), como queratinofílicas. *Penicillium citrinum* y *P. notatum* son especies no queratinofílicas clasificadas por English (9) como pertenecientes al Grupo III.

Las cepas de *Trichoderma* estudiadas, se comportaron como no queratinolítica y débilmente queratinolítica (Tabla 2). Dos cepas de *Trichoderma* causaron erosión superficial sobre el pelo y, también lo penetraron con órganos de perforación (Tabla 2). Filipello (10) señala que la erosión superficial y la penetración radial usualmente coexisten como formas de ataque. La IKA es considerada una característica propia del aislamiento o cepa, mas no de la especie en particular (3, 11). Filipello (11), al probar varios aislamientos de una misma especie (incluidas especies de dermatofitos), evidenció que la capacidad de ataque varió grandemente en cuanto a la intensidad de lisis inducida por cada uno y, a las estructuras morfológicas producidas por estos durante el ataque.

Agut y col. (1) reportan a *Trichoderma* sp. como queratinofílica. *Trichoderma viride*, especie no queratinofílica; penetró con hifas barrenas, corteza de pelos y espinas, mas no las desintegró (9).

En base a los resultados obtenidos con las 37 cepas fúngicas para las cuales se determinó IKA, y la revisión de literatura referida al crecimiento de hongos y modo de colonización de sustratos queratináceos, se puede asumir, en acuerdo con English (9) luego de evaluar el crecimiento de 33 especies de hongos no queratinofílicos, que la propiedad para degradar estos sustratos debe ser considerada una habilidad muy común entre los géneros saprofiticos revisados.

Agradecimiento

Los autores agradecen al CONDES el financiamiento de esta investigación.

Referencias Bibliográficas

1. Agut, M.; Bayó, M.; Larrondo, J. and Calvo, M.A. Keratinophilic fungi from soil of Brittany, France. *Mycopathologia*. 1995; 129: 81-82.
2. Alexopoulos, C.J. and Beneke, E.S. Laboratory Manual for introductory Mycology. Burgess Publishing Company. Minneapolis. 1968; pp. 13-14.
3. Ali Shtayeh, M. S. and Jamous Rana M.F. Keratinophilic fungi and related dermatophytes in polluted soil and water habitats: en Kushwaha R.K.S.; Guarro J. (Eds.) *Biology of Dermatophytes and other keratinophilic Fungi*. Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao, 2000; 51-59.
4. Ali Shtayeh, M. S. Keratinophilic fungi of school playgrounds in the Nablus area, West Bank of Jordan. *Mycopathologia*. 1989; 106: 103-108.
5. Benedek, T. *Fragmenta Mycologica*. I. some historical remarks on the development of hair baiting of Tomakarling-Vanbreuseghem (the TOKAVA-hairbaiting method) *Mycopath. Mycol. Appl.* 1962; 16: 104-106.
6. Daniels, G. The digestion of human hair keratin by *Mycrosporium canis* Bodin. *Journal Gen. Microbiol.* 1953; 8:289-294.
7. Dozie, I.N.S.; Okeke, C.N.; and Uneze, N.C. A thermostable, alkaline-active, Keratinolytic proteinase from *Chrysosporium Keratinophilum*. *World Journal & Biotechnology*. 1994; 10:563-567.
8. English, M.P. Destruction of hair by two species of *Chrysosporium*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 1976; 66: 357-358.
9. English, M.P. The saprophytic growth of non-keratinophilic fungi on keratinized substrata, and a comparison with keratinophilic fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 1965; 48: 219-235.
10. Filipello M., V. Keratinophilic fungi: Their role in nature and degradation of keratinic substrates: en Kushwaha R.K.S.; Guarro J. (Eds.) *Biology of Dermatophytes and other keratinophilic Fungi*. Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao, 2000; 86-92.
11. Filipello M., V. Keratinolytic and keratinophilic fungi of children's sandpits in the city of Turin. *Mycopathologia*. 1986; 94: 163-172.
12. Filipello M., V., Fusconi A. and Rigo S. Keratinolysis and its morphological expression in hair digestion by airborne fungi. *Mycopathologia* 1994; 127: 103-

115.

13. Filipello M., V.; Curretti, D.; Cassinelli, C. and Bordese, C. Keratinolytic and keratinophilic fungi in the soils of Papua New Guinea. *Mycopathologia*. 1991; 115 : 113-119.

14. Fusconi, A. and Filipello, V. Ultrastructural aspects of the demolition of human hair *in vitro* by *Chrysosporium tropicum* Carmichael. *Mycoses* 1991; 34: 153-165.

15. Goddard, D. R. and Michaelis L. A study of keratin. *The Journal Biological Chemistry*. 1934; 106: 604-614.

16. Gutcho, S. J. *Microbial Enzyme Production*. Park Ridge, New Jersey: Noyes Data Corporation. 1974; pp. 172-173.

17. Hubalek, Z. Keratinophilic fungi associated with free-living mammals and birds: en Kushwaha R.K.S.; Guarro J. (Eds.) *Biology of Dermatophytes and other keratinophilic Fungi*. *Revista Iberoamericana de Micología*, Bilbao, 2000; 93-103.

18. Kunert, J. Physiology of keratinophilic fungi: en Kushwaha R.K.S.; Guarro J. (Eds.) *Biology of Dermatophytes and other keratinophilic Fungi*. *Revista Iberoamericana de Micología*, Bilbao, 2000; 77-85.

19. Kushwaha, R. K. S. The genus *Chrysosporium*, its physiology and biotechnological potential: en Kushwaha R.K.S.; Guarro J. (Eds.) *Biology of Dermatophytes and other keratinophilic Fungi*. *Revista Iberoamericana de Micología*, Bilbao, 2000; 66-76.

20. Mahmoud, A. L. E. Dermatophytes and other keratinophilic fungi causing ringworm of horses. *Folia Microbiologica*. 1995; 40 (3): 293-296.

21. Mangiaterra, M., Giusiano, G., Deluca y G., Alonso, J. Geohongos queratinofilicos en áreas de recreación de jardines de infantes en Rosario (Argentina). *Boletín Micológico*. 2000; 15: 101-106.

22. Ogbonna, C. I. C. and Pugh, G. J. F. Keratinophilic fungi from Nigerian soil. *Mycopathologia* 1987; 99: 115-118.

23. Piontelli, E., Toro, M. and Casanova, D. Diversity-Dominance and sucesion of fungal communities un sandy soils (A Beach of V region-Chile) on keratinic Substrata. I. *Boletín Micológico*. 1984; 2: 73-89.

24. Rai, M. and Qureshi, S. Screening of different keratin baits for isolation of keratinophilic fungi. *Mycoses*. 1994; 37, 295-298.

25. Rajak, R. C.; Parwekar, S.; Malviya, H. and Hasija, S.K Keratin degradation

by fungi isolated from the grounds of a gelatin factory in Jabalpur, India. *Mycopathologia*. 1991; 144 (2): 83-87.

26. Rebolledo, I. *Microscopía*. Parte I. Barquisimeto-Venezuela. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado. 1998; 27 pp.

27. Santos, R.; Firmino, A.; Sá, C. and Felix, C. Keratinolytic activity of *Aspergillus fumigatus* Fresenius. *Current Microbiology*. 1996; 33: 364-370.

28. Shrivastava, J.N.; Ghawana, V.K. and Kumar, A. Biodegradation of wool by *Trichophyton simii* and *Aspergillus niger*. *Mycoses*. 1996; 39 : 493-487.

29. Simpanya, M. Dermatophytes: Their taxonomy, ecology and pathogenicity: en Kushwaha R.K.S.; Guarro J. (Eds.) *Biology of Dermatophytes and other keratinophilic Fungi*. Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao, 2000; 1-12.

30. Tuite, J. *Plant pathological methods: fungi and bacteria*. Burges Publishing Company. Minneapolis, Minnesota. 1969; pp. 216-218.

31. Ulfig, K. The occurrence of keratinolytic fungi in waste and waste-contaminated habitats: en Kushwaha R.K.S.; Guarro J. (Eds.) *Biology of Dermatophytes and other keratinophilic Fungi*. Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao, 2000; 44-50.

32. Ulfig, K. and Korcz, M. Isolation of keratinolytic fungi from a coal mine dump. *Mycopathologia*. 1995; 129: 83-86.

33. Van Oorschot C.A.N. A revision of *Chrysosporium* and allied genera. *Studies in Mycology*. 1980; 20:1-89.