UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TÏTULO:

IDENTIFICACIÓN DE DERMATOFITOS PRESENTES EN UÑAS DE PIES MEDIANTE EXAMEN DIRECTO Y CULTIVO MICÓTICO EN AGAR SABOURAUD Y AGAR PAPA EN GANADEROS DEL CANTÓN CELICA

Tesis previa a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico

Autora:

Martha Judith Ambuludí Cabrera

Director:

Dr. Tito Goberth Carrión Dávila, Mg.Sc.

LOJA – ECUADOR

2015

CERTIFICACIÓN

Dr.

Tito Goberth Carrión Dávila, Mg.Sc.

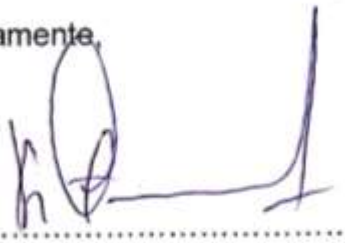
DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICA:

Que el trabajo investigativo titulado **"IDENTIFICACIÓN DE DERMATOFITOS PRESENTES EN UÑAS DE PIES MEDIANTE EXAMEN DIRECTO Y CULTIVO MICÓTICO EN AGAR SABOURAUD Y AGAR PAPA EN GANADEROS DEL CANTÓN CÉLICA",** presentada por la Egresada Srta. Martha Judith Ambuludí Cabrera, previo a optar el grado de Licenciada en Laboratorio Clínico, ha sido desarrollada, corregida y orientada bajo mi dirección y una vez revisada autorizó su presentación ante el Tribunal correspondiente.

Loja, Mayo 2015

Atentamente,



.....

Dr. Tito Goberth Carrión Dávila, Mg.Sc.

DIRECTOR DE TESIS

AUTORÍA

Yo **Martha Judith Ambuludí Cabrera,** declaro ser autora del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autor: Martha Judith Ambuludí Cabrera
Firma:.....
Cédula: 110496950-5
Fecha: Mayo 2015

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL, Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO.

Yo, Martha Judith Ambuludí Cabrera, con cedula 110496940-5 declaro ser la autora de la tesis titulada **, Identificación de dermatofitos presentes en uñas de pies mediante examen directo y cultivo micótico en Agar Sabouraud y Agar Papa en Ganaderos del Cantón Célica,** como requisito para optar el grado de Licenciada de Laboratorio Clínico, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional del Loja para q con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI en las redes de información del País y del exterior, con cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja no se responsabiliza por el plagio o la copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, mes de Mayo del 2015.

Firma:.....

Autor: Martha Judith Ambuludí Cabrera

Cédula: 110496940-5

Dirección: Cdla. Julio Ordoñez

Correo: ambuludijudith@hotmail.com

Celular: 0992080469

Datos complementarios

Director de Tesis: Dr. Tito Goberth Carrión Dávila, Mg.Sc.

Tribunal de Grado: Lcda. Carmen Alejandra Ullauri González, Mg.Sc. (Presidenta)

Dra. Elsa Cumanda Ramírez Sanmartín, Mg.Sc. (Vocal)

Lcda. Glenda Alfarina Rodríguez León, Mg.Sc. (Vocal)

AGRADECIMIENTO

Primero y antes que nada, dar gracias a Dios, por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente, por brindarme una vida llena de aprendizajes y experiencias.

El presente proyecto de tesis es el resultado del esfuerzo y empeño, en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas, teniéndome paciencia y dando ánimo para poder culminarla, acompañándome en los momentos de crisis y en los momentos de felicidad.

Por esto agradezco a mi director de tesis Dr. Tito Carrión, el cual me asesoro, con cada una de sus valiosas aportaciones, a las licenciadas de los laboratorios VIDALAB Y REINA DEL CISNE las cuales me abrieron sus puertas para poder realizar mi investigación, a los ganaderos del cantón Célica por permitirme llevar a cabo este estudio, ya que sin ellos no lo hubiese logrado, muchas gracias.

A mis padres quienes a lo largo de toda mi vida han apoyado y motivado mi formación académica, ya que creyeron en mí en todo momento y no dudaron de mis habilidades. A mis Maestros quienes les debo gran parte de mis conocimientos, gracias a su paciencia y enseñanza y finalmente un eterno agradecimiento a esta prestigiosa Universidad la cual me abrió sus puertas preparándome para un futuro competitivo y formándome como persona de bien.

DEDICATORIA

La presente tesis se la dedico en primer lugar a Dios quien me dio la fortaleza necesaria para poder continuar cuando me sentía desmayar, a mis hijos que son el motivo y la razón que me ha llevado a seguir superándome día a día, para alcanzar mis metas e ideales de superación, a mis padres; Esteban y Martha a quien les debo toda mi vida, les agradezco el cariño y su comprensión, quienes supieron formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante buscando siempre el mejor camino.

A mis hermanos Maritza, Amparito y Rodrigo por quererme y apoyarme siempre, a ustedes también les debo este logro.

A ti Michael mi compañero de vida y amigo, gracias por todos los momentos que hemos compartido y a pesar de todas las dificultades hoy estás conmigo compartiendo este día tan importante para mí, solo quiero darte las gracias por todo el apoyo que me has dado para continuar y seguir con mi camino, y siempre recuerda que eres lo más importante para mí y que te amo.

TÍTULO

IDENTIFICACIÓN DE DERMATOFITOS PRESENTES EN UÑAS DE PIES MEDIANTE EXAMEN DIRECTO Y CULTIVO MICÓTICO EN AGAR SABOURAUD Y AGAR PAPA EN GANADEROS DEL CANTÓN CÉLICA

RESUMEN

Los dermatofitos son un grupo de hongos relacionados entre sí, que presentan la capacidad de invadir los tejidos queratinizados de la piel, pelo y uñas de hombre y de los animales, produciendo una enfermedad que se denomina dermatofitosis. La enfermedad se caracteriza por generar lesiones que afectan principalmente las uñas de los pies (ONICOMICOSIS), asociada a diferentes factores como la baja velocidad de crecimiento de la uña, la disminución de la circulación sanguínea alrededor de la placa ungueal, la manipulación de las uñas por manicuristas, el uso de calzado cerrado y estrecho y la presencia de la tiña pedís.

Debido a las condiciones existentes en nuestros medios tales como la humedad, falta de higiene, condiciones de hacinamiento; aparecen en personas de cualquier edad, raza, sexo, así como de cualquier medio socioeconómico y ocupacional, Por tal motivo la siguiente investigación estuvo encaminada a realizar: la identificación del agente etiológico predominantes en uñas de pies de los ganaderos de cantón Célica, así mismo determinar la sensibilidad del examen directo frente al cultivo micótico en medios de Agar Sabouraud y Agar Papa; relacionar la identificación de dermatofitos mediante cultivo en Agar Sabouraud con relación al cultivo Agar Papa.

El estudio fue de tipo descriptivo, de corte transversal, en el que se recolectaron 40 muestras de uñas de pies en ganaderos, para lo cual se utilizó métodos y protocolos estandarizados como el análisis directo con KOH al 20%, cultivo (Agar Sabouraud) y cultivo (Agar Papa). Tras realizar los análisis respectivos se determinó 37 (92%) muestras positivas: encontrando como principal agente causal *Trichophyton rubrum*; con una sensibilidad del 88% del examen directo frente al Agar Sabouraud y 83.3% frente al Agar Papa; *el Trichophyton rubrum* tuvo un mayor crecimiento en el Agar Sabouraud 18 (81.80%), medio más utilizado para el aislamiento de dermatofitos.

Palabras clave: Dermatofitos, Onicomicosis, Agar Sabouraud, Agar Papa

ABSTRACT

Dermatophytes are a group of fungi that are interrelated, that have the ability to invade the keratinized tissues of the skin, hair and nails of man and animals, producing a disease called dermatophytosis. The disease is characterized by injuries that affect mainly the toenails (ONYCHOMYCOSIS), associated with different factors such as low speed of growth of the nail, the decrease in circulation around the nail plate. Care should be taken by all especially by Manicurists, wearing closed and narrow shoes and the presence of ringworm.

Because of the conditions prevailing in our environment such as humidity, lack of hygiene, overcrowding; they appear in people of any age, race, sex, as well as any socio-economic and occupational environment. This research was intended to make: identification of the predominant Etiologic Agent in fingernails feet of ranchers in the town of Celica, likewise determine the sensitivity of direct examination against growing fungal in Agar Sabouraud and Agar Papa media; relate the identification of dermatophytes by culture in Agar Sabouraud with respect to growing Agar Papa.

The study was descriptive, of cross-cutting, in which were collected 40 samples of nails of feet on cattle, which used methods and standardized protocols as the direct analysis with KOH to 20%, cultivation (Agar Sabouraud) and culture (Agar Papa). 37 (92%) positive samples was determined after the respective analysis: finding as main causative organism Trichophyton rubrum; with a sensitivity of 88% of the direct examination against the Agar Sabouraud and 83.3% against the Pope Agar; Trichophyton rubrum had a greater growth in the Agar Sabouraud 18 (81.80%), medium most used for dermatophytes isolation.

Keywords: Dermatophyte, Onychomycosis, Agar Sabouraud, Agar Papa

1.-INTRODUCCIÓN

Los hongos son un reino de seres vivos unicelulares o pluricelulares que no forman tejidos y se agrupan formando un cuerpo filamentoso muy ramificado; cada filamento se denomina hifa y al conjunto de este micelio. Las células de los hongos tienen una pared celular de quitina (un polisacárido nitrogenado), y almacenan glucógeno en sus células como compuesto de reserva. (1)

Las onicomicosis representan el 50% de las enfermedades de las uñas y afectan del 2 al 8% de la población general. (2) Son una causa frecuente de consulta y, aunque generalmente son asintomáticas y no ponen en peligro la vida del paciente, producen detrimento de su calidad de vida y pueden ser la puerta de entrada de infecciones, cuando las condiciones inmunitarias se deterioran por cualquier circunstancia.

Existen poblaciones más vulnerables, como los ancianos, los pacientes diabéticos y los pacientes inmunosuprimidos, incluidas las personas con sida, cáncer o tratamiento inmunosupresor; también, los pacientes con problemas de circulación distal, agravada por el consumo de cigarrillo; el aumento del trauma por el calzado y los deportes; la hiperhidrosis favorecida por la oclusión y el clima cálido; la humedad y la maceración de las manos, como es el caso de las amas de casa y los manipuladores de alimentos. Se han implicado también factores genéticos, y la onicomicosis se asocia frecuentemente con el compromiso plantar.

Esta enfermedad afecta con mayor frecuencia las uñas de los pies. Puede ser causada por dermatofitos, levaduras y mohos. A nivel mundial, los dermatofitos son los principales agentes etiológicos de las onicomicosis de los pies y Cándida albicans afecta con mayor frecuencia las manos. Los mohos no dermatofitos causan de 2 a 20% de los casos. (2)

La proporción relativa de casos asociados a estos microorganismos es variable de acuerdo a diferentes estudios. Las manifestaciones clínicas no son totalmente características; un mismo agente fúngico puede ocasionar más de un tipo de alteración ungueal, según la forma en que invade la uña. (3)

Esta enfermedad representa la principal causa de onicodistrofias, ya que producen hasta el 50 % de las afecciones ungueales. Se las considera una de las micosis superficiales con mayor dificultad de diagnóstico y tratamiento

Los géneros micóticos causantes de estas infecciones son: *Trichophyton*, con características macroscópicas y microscópicas específicas de cada una de ellas, los que según su hábitat natural pueden ser: geófilo (tiene su hábitat en el suelo), zoófilos (que tiene afinidad por los animales), y antropófilos (que tienen afinidad por los seres humanos). (4)

La distribución de la dermatofitosis es universal, predominan en las zonas tropicales con climas cálidos y húmedos, existiendo diferencias en cuanto a la distribución geográfica de las distintas especies de dermatofitos, afecta ambos sexos y todas las edades, y su frecuencia es muy alta, encontrando que del 20 a 25% de la población en general presentan infecciones micóticas, de ellos el 5 – 10 % son causados por dermatofitos. (5)

En la Universidad de Costa Rica en un estudio realizado de 150 muestras de uñas de los pies 46 (30,6%) eran de hombres y 104 (69,4%) de mujeres. En 81 muestras (54%) se observó el examen directo positivo (en uno se observó micelio fuliginoso), pero sólo en 46 (56,7%) de éstas se logró aislar algún hongo; mientras que en 69 (46%) muestras el examen directo fue negativo, pero se obtuvo crecimiento de hongos en cuatro (5,75%) de estas muestras negativas. Los hongos aislados de uñas de los pies fueron: 32 (64%) aislamientos de *T rubrum*, 2 (4%) de *T mentagrophytes*, 8 (16%) de *Fusarium sp.,* 2 (4%) de *Trichosporon sp.,* 3 (6%) de *C albicans,* 1 (2%) *de C famata,* 1 (2%) de *C glabrata* y 1 (2%) de *C parapsilosis*, para un total de 50 aislamientos. (6)

En la ciudad de Valparaíso Chile en el año 2007-2009 se realizó un estudio de micosis superficiales en donde 1.004 pacientes fueron evaluados. La onicomicosis de pie fue la lesión más frecuente (58,1%), seguida de *tinea* plantar e interdigital (16,3%). Entre los dermatofitos aislados fueron, *Trichophyton rubrum* (78,9%), seguido por *Trichophyton mentagrophytes* (14,9%) y *M. canis* (5,4%). (7)

Con el propósito de determinar la prevalencia de los diferentes agentes etiológicos fúngicos, en Santiago de Chile se realizó un estudio en 1539 pacientes. El examen directo en KOH al 20% mostró un rendimiento global del 48,5%, mientras que el del cultivo en Sabouraud glucosado fue de un 50,2%, en donde el agente que predomino fue *Candida spp* con 54% y *T. rubrum* con 46,5% (8)

En nuestro país las estadísticas publicadas han reportado un porcentaje en la incidencia del agente etiológico el *Trichophyton rubrum* con 54.3%, seguido del *Trichophyton mentagraphytes* con el 20%, estos datos se obtuvieron en un estudio realizado en el año 2002 en las provincias de la parte norte de nuestro país como son: Esmeraldas, Manabí, Imbabura, Pichincha, Sucumbíos, Napo y Francisco de Orellana. (9)

Hoy en día, en nuestra provincia, existen pocas investigaciones dirigidas a estudiar las enfermedades micóticas, y tomando en cuenta que la presencia de dermatofitos en uñas de pies constituyen un problema muy serio de salud, y más aun viendo la necesidad de conocer la importancia de las complicaciones que se pueden presentar las lesiones tanto agudas como crónicas en las uñas encontradas en una población vulnerable como son los ganaderos del cantón Célica, debido al desconocimiento de estas patologías, y que en su mayoría no cuentan con un diagnóstico oportuno, viendo la necesidad que presenta esta población, he querido contribuir con el diagnostico de identificar dermatofitos en uñas de pies.

Por lo expuesto, la presente investigación está enfocada en: Identificar el agente etiológico que predomina en uñas de pies de los ganaderos del cantón Célica, así mismo determinar la sensibilidad del examen directo frente a los cultivos micóticos Agar Sabouraud y Agar Papa y finalmente relacionar la identificación de dermatofitos mediante cultivo en Agar Sabouraud con relación al cultivo en Agar Papa de los ganaderos del cantón Célica. Para determinar la presencia de hongos se ha utilizado la prueba de KOH al 20%, en esta prueba observamos la presencia de esporas, hifas, pero no podemos determinar qué clase de hongo es, cultivos en Agar Sabouraud, dura de 10 a 15 días se lo reporta como negativo a partir de los

30 días aquí observamos el crecimiento de colonias con características morfológicas y la producción de pigmentos correspondientes a cada especie de dermatofito, son colonias algodonosas, blanquecinas amarillentas y marrón y el Agar Papa es un medio que estimula la producción del pigmento rojizo característico de *T. rubrum*, siendo muy útil para diferenciarlo de *T. mentagrophytes*.

Luego del análisis respectivo de las 40 muestras recolectadas 37 (92%) muestras fueron positivas: encontrando como principal agente causal *Trichophyton rubrum*; con una sensibilidad del 88% del examen directo frente al Agar Sabouraud y 83.3% frente al Agar Papa; *el Trichophyton rubrum* tuvo un mayor crecimiento en el Agar Sabouraud 18 (81.80%), medio más utilizado para el aislamiento de dermatofitos.

Finalmente las dermatofitosis parasitan los tejidos del huésped humano ocasionando patologías, por lo que todas las personas especialmente los ganaderos deben tomar medidas preventivas en el uso del calzado ya que suministra calor y humedad ocasionando infecciones clínicas denominadas onicomicosis.

2.-REVISIÓN DE LITERATURA

MICROORGANISMOS

Los microorganismos, también llamados Microbios, son aquellos seres vivos que solo se pueden visualizar con el microscopio, pueden ser patógenos, en su mayoría son unicelulares, aunque en algunos casos se trate de organismos multicelulares. Los microorganismos carecen de cualquier implicación taxonómica o filogenética dado que engloba organismos unicelulares no relacionados entre sí, tanto procariotas como las bacterias, como eucariotas como los protozoos, una parte de las algas y los hongos, e incluso entidades biológicas de tamaño ultramicroscópico, como los virus.(10)

Dentro de las enfermedades infecciosas, intervienen tres partes:

- **Huésped infectado**.- este huésped será casi siempre un ser humano.
- **Agente infeccioso.-** esta designación es la descripción más amplia para diversas formas de vida que interactúan íntimamente con otras.
- **Ambiente**.- el ambiente natural, inanimado y animado, es esencial para el mantenimiento de la mayoría de los agentes infecciosos y para su transmisión de un huésped a otro. (11)

CLASES DE AGENTES INFECCIOSOS

Los agentes infecciosos pueden dividirse en un número finito de tipos. La mayoría vive en forma libre, contienen todo lo necesario para el mantenimiento de su especie y son conocidos como microbios, los agentes infecciosos tradicionales son:

- **BACTERIAS.-** Comprenden el mayor número de especies patógenas para los seres humanos. Son organismos unicelulares y contienen DNA y RNA, pero no están diferenciadas en núcleo y citoplasma, se reproducen por fisión binaria.
- **PARÁSITOS.-** Son un grupo grande y complejo de microbios, entre ellos se incluyen los animales unicelulares, como los protozoos, y los organismos

multicelulares muy complejos que tienen órganos y tejidos definidos, como el tracto gastrointestinal y los sistemas genitales.(12)

- **VIRUS.-** Comprenden un gran número de agentes infecciosos, que no son microbios porque carecen del equipamiento genético completo para su propia propagación, por lo tanto deben infectar otra forma de vida, como seres humanos, animales, plantas, bacterias e incluso virus.
- **HONGOS.-** Los hongos pertenecen al reino FUNGI. Existen más de 50000 especies de hongos reconocidos pero solo cerca de 200 son responsables de las enfermedades en los seres humanos, dentro de la importancia medica se agrupan en los *Duetoromycetes*, y las otras cuatro subdivisiones son *Mastigomycetes*, *Bacidiomycetes*, *Zygomycetes* y *Ascomycetes*, la mayoría de estos microorganismos viven en la naturaleza como saprofitos (sobre materia muerta o en descomposición). Las infecciones micóticas se da por la inhalación de esporas o por su ingreso en los tejidos por un traumatismo en donde el ser humano se convierte en huésped accidental. (1,23)

GENERALIDADES DE LOS HONGOS

Los hongos son organismos eucariotas, con núcleos bien organizados, una membrana nuclear bien definida, a nivel de citoplasma están provistos de mitocondrias, retículo endoplásmatico y aparato de Golgi y poseen externamente una membrana bien organizada con abundante cantidad de esteroles así como quitina, celulosa glucana y glicopéptidos que le proveen rigidez y estabilidad.

Son aerobios, heterótrofos y no motiles y se reproducen por esporas sexuales y asexuales.

Poseen 2 tipos de células fúngicas:

- ***Somáticas:*** contienen núcleos pequeños y su división la realizan por mitosis.
- ***Reproductoras***: tienen núcleos más grandes y su división es por meiosis.

Los hongos generalmente son pluricelulares, pero también pueden ser unicelulares como las levaduras. (13)

NUTRICIÓN. Los hongos no son fotosintéticos ya que no poseen cloroplastos. Su nutrición la realizan a través de la absorción de sustancias orgánicas simples o elaboradas y basándose en ello pueden ser:

- Saprofitas: cuando se nutren a partir de materia orgánica muerta o en descomposición.
- Parásitos: cuando se nutren de materia viva, pudiendo ser facultativos u obligados.

Los hongos son heterótrofos ya que no pueden elaborar sus propios nutrientes.

Basan su alimentación en CO2, H2O, sales de nitrógeno y carbohidratos (glucosa, sacarosa y maltosa), pueden sintetizar vitaminas como la biotina y la tiamina y almacenan en vacuolas ácidos grasos y glucógenos.

CRECIMIENTO. La mayor parte de hongos crecen entre 20 y 30 grados centígrados, pero los oportunistas y patógenos pueden crecer en temperaturas de hasta 40 grados. (14)

ESTRUCTURAS SOMÁTICAS.

La unidad funcional se denomina hifa o filamento y el conjunto se denomina micelio o talo.

Por su origen se dividen en:

- ***Hifas verdaderas:*** propio de los hongos mohos o filamentosos; se origina a partir de la germinación de un conidio o espora.
- ***Pseudohifas***: propio de las levaduras y se forman a partir de gemaciones; éstas no se desprenden de la célula madre, sino que sufren una elongación, lo que les da una estructura similar a una hifa.

Por su función el micelio puede ser:

- ***Vegetativo:*** llamado de nutrición, es aquel que penetra en el agar y se encarga de la absorción y transformación de los nutrientes.

- ***Reproductor:*** o aéreo, es aquel que brinda soporte y permite la reproducción

Por su forma el micelio es:

- ***Filamentoso:*** propio de los hongos filamentosos.
- ***Unicelular:*** propio de las levaduras.

Por el diámetro de la hifa puede ser:

- ***Macrosifonado:*** diámetro mayor a una micra, es propia de los mohos filamentosos.
- ***Microsifonado:*** diámetro menor a una micra, es propio de los actinomicetos

De acuerdo a la ausencia o presencia de pigmento puede ser:

- ***Hialino:*** es aquel que carece de pigmento.
- ***Pigmentado:*** es aquel que posee pigmento, principalmente de tipo melánico.

De acuerdo a la presencia o ausencia de tabiques puede ser:

- ***Micelio septado***: es aquel que tiene tabiques y divisiones y se observa en la mayor parte de mohos filamentosos.Cada una de las divisiones limita las células y el intercambio de nutrientes lo realizan a través de transporte activo o pasivo a través de diversos poros.
- ***Micelio cenocítico:*** es aquel que no posee divisiones; en éstos el núcleo y las organelas se encuentran dispersas en todo el citoplasma de las hifas.

MODALIDADES DE LAS HIFAS.

- Candelabro fávico: las hifas toman el aspecto de un candelabro.
- Cuerpos nodulares: las hifas parten de un nudo o masa.
- Espirales: hifas con aspecto de resorte.
- Hifas pectinadas: las hifas sufren elongaciones como peines.

- Raquetas: las hifas se ensanchan al final o a nivel intercalar.
- Rizoides: hifas en forma de raíz.
- Zarcillos: hifas en forma de ganchos. (15)

REPRODUCCIÓN.

Los hongos se reproducen a través de las esporas, las cuales pueden ser sexuales y asexuales.

REPRODUCCIÓN SEXUAL.

Este tipo de reproducción incluye 3 fenómenos reproductivos:

- ***Plasmogamia:*** unión de los protoplasmas.
- ***Cariogamia:*** unión de los núcleos.
- ***Meiosis:*** fusión y reducción de 2 núcleos, originando células haploides.

Los hongos para su reproducción pueden ser:

- **Heterotálicos (**requiere la unión de 2 talos diferentes)
- **Homotálicos** (requiere un solo talo especializado)

Las esporas sexuales son:

- **Basiodiosporas:** se forman de una bolsa o basidio de las que nacen esterigmas que producen las basiodiosporas.
- **Zigosporas:** se forman por la unión de dos hifas sexualmente diferenciadas como donadoras y receptoras. Las hifas al unirse sufren el fenómeno de plasmogamia de donde se forma el huevo o zigospora, el cual luego de la meiosis da origen al nuevo hongo.
- **Ascosporas:** resultan de la meiosis; se forman a partir de una bolsa o asca que produce un número determinado de espora.

REPRODUCCIÓN ASEXUAL O IMPERFECTA.

FORMAS DE REPRODUCCIÓN:

TALOSPORAS: se forman a partir de las hifas.

- **Artrosporas:** se forman de la fragmentación de las hifas.
- **Blastosporas**: se forman por gemación
- **Clamidosporas:** se forman del engrosamiento de las hifas.
- **Dictosporas:** se dividen tanto trasversal como longitudinalmente, son propias de algunos hongos dermatiáceos.
- **Aleuriosporas**: se forman de las hifas.

CONIDIOS.

- **Microconidios**: unicelulares.
- **Macroconidios:** son pluricelulares.

ESPORANGIOSPORAS O ENDOSPORAS.

Las esporas se encuentran dentro de una membrana o esporangio, cuando estas alcanzan su madurez la membrana se debilita y rompe por lo que son liberadas. (16).

ONICOMICOSIS.

El término Onicomicosis es un término general que refiere a la enfermedad de la uña causada por hongos, cuya etiología incluye tres grupos bien definidos: dermatofitos, mohos no dermatofitos y levaduras; siendo los últimos generalmente invasores secundarios a enfermedades previas de la uña o traumatismos, mientras que los dermatofitos pueden causar infecciones primarias (17)

HISTORIA.

Las infecciones de las uñas y pliegues ungueales causadas por levaduras del género Cándida fueron descritas en 1904 por Dubendorfer. En 1910 el dermatólogo- bacteriólogo Raymund Sabouraud hizo una descripción clínico micológica de las enfermedades producidas por dermatofitos, clasificándolos en 4 grupos: Achorion, Epidermophyton, Microsporum y Trichophyton; denominando tiña unguium a la infección de las uñas por estos microorganismos.

En 1934, Emmons, clasificó los dermatofitos en tres géneros: Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton. Pese a la poca importancia brindada a las micosis

superficiales, los dermatofitos estuvieron a punto de cambiar la historia de la medicina, ya que en 1942, durante la segunda guerra mundial, muchos soldados británicos presentaron formas incapacitantes de tiñas de los pies

Mary English, en 1960, sentó las bases que definirían la relación entre los hongos miceliales aislados de uñas y su significado clínico.

Desde entonces y a pesar de estar bien definidos los grupos de agentes micológicos y el advenimiento de numerosos fármacos anti fúngicos, se mantienen las dificultades para establecer un diagnóstico correcto y un tratamiento eficaz, ya que aun cuando aparentemente se realiza un diagnóstico y tratamiento correcto, uno de cada cinco pacientes no se cura; por lo cual la Onicomicosis sigue constituyendo un problema de salud pública cuyo impacto alcanza tanto salud del individuo como su calidad de vida.(18)

FACTORES PREDISPONENTES.

Los factores que pueden predisponer al desarrollo de Onicomicosis son:

- Factores sanitarios: antecedente de enfermedad crónica (diabetes, hipertensión arterial), antecedente de infección micológica en otras áreas del cuerpo. Patología inmunosupresiva que involucre el uso de corticoides sistémicos u otras drogas citostáticas.
- Factores laborales: personas cuya actividad laboral conlleva a estar constantemente expuestos al agua, como lavanderas, empleados de limpieza, auxiliares de enfermería, tecnólogos de laboratorio clínico.
- Hábitos personales: personas que usen diariamente calzado sintético o cerrado.
- Factores externos: antecedentes de trauma sobre el aparato ungueal.(19)

ETIOLOGÍA.

La infección micótica de la unidad ungueal puede involucrar el lecho ungueal, la lámina ungueal y la matriz en forma aislada o combinada y puede ser causada por tres grupos de patógenos: dermatofitos, levaduras y mohos.

DERMATOFITOS.

Los dermatofitos son hongos queratinolíticos; es decir, tienen la capacidad de digerir y utilizar la queratina como sustrato. Las infecciones producidas por estos hongos se denominan dermatofitosis, aunque comúnmente también son llamadas tiñas, término que procede del latín tinea y que significa gusano o polilla. Esta palabra se usa de forma descriptiva dado el aspecto de serpentina o anular que presentan las lesione cutáneas con una apariencia de gusano enterrado en la piel.

Las dermatofitosis son micosis superficiales que, aunque suelen estar restringidas al estrato córneo de la piel y sus apéndices, también pueden afectar la dermis y el tejido subcutáneo causando granulomas o pseudomicetomas. (20)

De acuerdo con su hábitat natural, los dermatofitos pueden dividirse en tres grupos ecológicos:

- Geofílicos: comprenden especies que se encuentran en el suelo actuando como saprobios y que se nutren de la queratina allí existente (pelos, escamas y plumas) y pueden infectar tanto el ser humano como los animales
- Zoofílicos: comprenden especies que infectan los animales y éstos, a su vez, pueden infectar el ser humano
- Antropofílicos: comprenden aquellas especies que infectan solamente el ser humano y que son transmisibles por contacto directo o indirecto

La actual taxonomía de los dermatofitos está basada en sus características morfológicas, ecológicas y genotípicas, y comprende diecinueve especies para el género Trichophyton, trece especies para el género Microsporum y una especie para el género Epidermophyton.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICA MICROSCÓPICAS DE ALGUNAS ESPECIES DE DERMATOFITOS

- **LEVADURAS.**

  Las levaduras siguen en frecuencia a los dermatofitos y son responsables de 5% a 17% de las Onicomicosis en general. Si bien su prevalencia es

menor que la originada por la infección dermatofítica, en los últimos años se ha incrementado, lo que ha llevado a considerarlos como patógenos primarios y no sólo como comensales y contaminantes.

La especie más frecuentemente aislada es Cándida albicans; esta especie forma parte de la flora normal del tracto digestivo y no se encuentra habitualmente colonizando la piel.

La proporción de infecciones ungueales atribuidas a estas levaduras varía predominando en la infección de las uñas de las manos, y están asociados generalmente a paroniquia y onicolisis. En las Onicomicosis de los pies las especies de Cándida producen entre el 17% al 22% de los casos, y se aíslan con mayor frecuencia especies distintas a Cándida albicans, considerada como la levadura de mayor prevalencia en infecciones humanas.

Con respecto a las formas de crecimiento, las blastosporas predominan en el estado saprófito y las pseudohifas o pseudomicelios en las invasivas, por lo tanto, para considerar a Cándida como patógeno primario capaz de producir enfermedad ungueal invasiva algunos autores establecen que deben observarse pseudohifas al examen microscópico directo y crecer en cultivo como colonias típicas en forma aislada, sin otros patógenos contaminantes (dermatofitos o mohos). La presencia de esporas puede observarse cuando la Cándida es un patógeno secundario o comensal.

Las levaduras del género *Trichosporum* son agentes de Onicomicosis de distribución geográfica universal, habitualmente se encuentran en el suelo; se caracterizan por presentar cadenas de artroconidios en los cultivos. Las especies descritas y aceptadas en el hombre son *T. cutaneum, T. ovoides, T. asahii, T. inkin, T. asteroides y T. mucoide*.

- **MOHOS NO DERMATOFITOS**.

  Se describen como agentes de Onicomicosis dos grupos: los mohos hialinos y los mohos dermatiáceos. Estos pueden encontrarse asociados a

dermatofitos y levaduras, en estos casos no se les da valor como agente causal y se les considera como contaminantes.

La frecuencia de Onicomicosis por este grupo de hongos oscila entre 1%-10% dependiendo de la región geográfica y de la zona de procedencia de la muestra.

Una de las teorías expone que estos mohos, por no poseer queratinasas, no son considerados patógenos primarios, por lo tanto no son causantes primarios de distrofia ungueal significativa, sino que se trata de especies invasoras secundarias a uñas enfermas o comensales secundarios no invasores. Se pueden exceptuar *Scytalidium dimidiatum* universalmente conocido como patógeno primario de uñas y piel por poseer queratinasas, y *Fusarium solani*, que con menor capacidad degrada la queratina. (21)

PATOGENIA Y CLÍNICA.

Las Onicomicosis en general se clasifican en cuatro tipos, con base en la ruta de invasión y a la presentación clínica

- **Onicodistrofias subungueal distal y lateral. (OSDL)**

  Es la forma de presentación más común. La invasión ocurre en el lecho ungueal comenzando en el hiponiquio y en los surcos laterales, a partir de los cuales se extiende en dirección proximal hacia la matriz.

  En el sitio de penetración puede existir una paroniquia leve, que retrocede o evoluciona a la cronicidad, siendo el signo inicial de la uña infectada, una superficie estriada o deprimida y una mancha blanquecino-amarillenta que se extiende indefectiblemente hacia la base de la uña. La invasión fúngica del lecho ungueal es el estímulo para la producción de queratina, lo que posteriormente determina una hiperqueratosis subungueal y en consecuencia engrosamiento de la lámina, además la uña se vuelve friable en forma progresiva desencadenando una distrofia total de la misma; todos estos eventos determinan la destrucción completa de la uña. La queratina subungueal contiene abundantes hifas, que finalmente pueden invadir la

lámina externa de la uña. Estas alteraciones favorecen la sobreinfección bacteriana y fúngica.

En la mayoría de los casos es producida por Trichophyton rubrum, aunque también se han aislado *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton tonsurans, Epidermophyton floccosum* y algunas especies de mohos.

Todo el proceso es lento y puede llevar muchos años para completarse; clínicamente se traduce por leuconiquia, distrofia ungueal y onicolisis con diferentes grados de intensidad, que afecta principalmente las uñas de los pies.

- **Onicomicosis blanca superficial. (OBS)**

  Este tipo de Onicomicosis es menos frecuente que la anterior. Se estima que aproximadamente 10% de las Onicomicosis se presentan bajo esta forma clínica; es más frecuente en uñas de pies y sobre todo las de primer dedo.

  Le caracteriza la invasión del estrato superficial de la lámina ungueal en cualquier área: lateral, proximal, distal, central; con manchas blancas, opacas en un área bien delimitada. Al principio estas lesiones pueden ser punteadas, de bordes irregulares, únicos o múltiples, las que se van extendiendo a medida que la invasión sea progresiva; observándose la lámina ungueal quebradiza, blanda y áspera. Posteriormente la infección puede extenderse a través de la lámina ungueal e infectar el estrato córneo del lecho ungueal e hiponiquio.

  El agente causante más frecuente es: T*. mentagrophytes var interdigitales*, además varios mohos no dermatofitos como *Aspergillus terreus, Acremoniunpotronii* y *Fusarium oxysporum.*

- **Onicomicosis proximal subungueal. (OPS)**

  Es un tipo de Onicomicosis de aparición infrecuente. Afecta por igual uñas de manos y pies y es causada por T. rubrum. Ocurre cuando los hongos penetran por el pliegue proximal de la uña (en el área de la cutícula),

invadiendo la lámina ungueal y migrando distalmente, comprometiendo en este proceso la matriz ungueal. Clínicamente esto se traduce por hiperqueratosis subungueal, onicomadesis, leuconiquia y destrucción de la lámina ungueal en el sector proximal.

- **Onicodistrofias total. (OT)**

  Es el estadio final de las Onicomicosis por dermatofitos, mohos no dermatofitos o por *Cándida spp.* Hay afectación de la matriz ungueal y la totalidad de la uña está destruida apareciendo masas queratósicas friables. (22)

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS.

- **Diagnóstico Micológico**

  Con frecuencia el diagnóstico es exclusivamente clínico, pero la identificación de la especie implicada contribuye al conocimiento de la epidemiologia, a la evolución así como la optimización terapéutica. En la anamnesis debe interrogarse por la existencia de cuadros micóticos previos, determinar el tiempo de evolución y la existencia de factores favorecedores.

  El diagnóstico de laboratorio es fundamentalmente directo y por lo tanto se basa en la visualización aislamiento e identificación del agente causal en base a la visualización en la muestra de hifas o esporos característicos en el examen microscópico directo y en el aislamiento del agente causal en los cultivos. Para ello se requiere una recolección de la muestra de la zona activa de la lesión y fundamentalmente indicar al paciente cómo debe prepararse. Esta es una importante etapa del estudio que tiene por objeto reducir en lo posible la contaminación con microorganismos presentes normalmente en la piel y evitar sustancias que dificulten la observación microscópica o que interfieran con el desarrollo del hongo.

Para el diagnóstico de las infecciones fúngicas se procede a partir de las muestras clínicas de modo parecido al utilizado para el diagnóstico de las infecciones bacterianas. (23)

- **TOMA DE MUESTRAS**

  El diagnóstico de las micosis comienza con su sospecha clínica por lo que una adecuada obtención de la muestra, a partir de la lesión, y su correcta manipulación, para mantener la viabilidad del agente etiológico y evitar posibles contaminaciones, son aspectos fundamentales que siempre deben tenerse en cuenta para un correcto diagnóstico micológico.

  El aspecto y localización de la lesión o lesiones debe tenerse en cuenta para la correcta orientación diagnostica, pero independientemente de la ubicación principal, debe procederse a la inspección de otras áreas corporales.

  La muestra clínica debe dividirse en dos porciones, o tomar dos muestras, para el examen microscópico directo y otra para el cultivo. El examen directo es importante porque puede ayudarnos a determinar el significado del posterior aislamiento y orientarnos sobre la etiología del agente fúngico. (24)

  Las uñas tras su limpieza con alcohol se cortan por la porción que muestre la más intensa alteración distrofia y se trocean mecánicamente si bien en onicomicosis muy superficiales el rapado con lanceta puede ser útil. No se obtendrá muestras de lesiones que estén siendo tratadas tópicamente, o lo hayan sido recientemente con fármacos anti fúngicos u otras sustancias como corticoides o compuestos queratolíticos, al afectarse el rendimiento de los métodos de diagnóstico.

  Para la toma de la muestra:

  - Debe disponerse de un protocolo de recogida de muestras actualizado periódicamente.

- Es necesario recoger las muestras asépticamente utilizando contenedores estériles y remitirlas al laboratorio antes de dos horas para su respectivo análisis, en el caso de que la muestra no se la tome en el laboratorio.
- La muestra debe recogerse antes de instaurar el tratamiento anti fúngico y siempre de la parte de la lesión.(25)

Examen Directo: Es la manera más rápida y sencilla de confirmar la sospecha clínica de invasión fúngica.

Este consta de la observación al microscopio del material infectado (pelos, piel y uñas). Se utiliza el Hidróxido de potasio (KOH al 20%) es el método de diagnóstico más barato y eficiente para confirmar las dermatomicosis. La muestra de escamas de piel o uña se traslada a un porta de objeto y se añaden unas gotas de una solución al 20% de KOH, calentamos ligeramente, y esperamos unos minutos el cual sirve para clarificar el material orgánico y dejar intactas las estructuras fúngicas. Esta muestra húmeda se puede observar en un microscopio óptico directamente. Siguiendo con el examen directo, se observan hifas macro sifonadas septadas, hialina células levaduriformes. Los resultados de ésta técnica varían mucho, según la formación del observador y el método utilizado en la toma de muestra. (26)

Cultivo de las muestras

Los medios de cultivo utilizados en micología han de contener los nutrientes suficientes para asegurar el desarrollo de los hongos (carbono, nitrógeno, vitaminas, oligoelementos, etc.). El pH bajo (pH 5-5.6) ha de ser ligeramente ácido para facilitar el crecimiento de los hongos e inhibir al mismo tiempo el desarrollo de otros microorganismos.

En algunos casos se añadirán antibióticos antibacterianos para inhibir el crecimiento de las bacterias saprofitas que suelen contaminar las muestras. Entre los más usados tenemos el Cloranfenicol y la Gentamicina. Se añade también actidiona (Cicloheximida) que inhibe el desarrollo de hongos saprofitos ambientales.

Generalmente utilizaremos varios medios de cultivo diferentes, ya sea en placa o en tubo.

Los medios en placa tienen la ventaja de ofrecer una gran superficie para el aislamiento pero, para soportar la deshidratación durante el largo período de incubación a que van a ser sometidos (un mes o más), has de contener una gruesa capa de medio (25 a 40 ml). Son más peligrosos a la hora de su manipulación y fáciles de contaminar. Por otra parte, los medios en tubo tienen una superficie de trabajo mucho más pequeña, pero ofrecen máxima seguridad en su manipulación y buena resistencia a la deshidratación y a la contaminación.

Los más usados en el área de micología son:

- **AGAR SABOURAUD**

  Este medio se adapta particularmente al cultivo de la mayoría de levaduras y hongos patógenos. El medio contiene una cantidad mínima de nutrientes y un pH ácido (5,6) que lo hace selectivo.

  El medio de agar de Sabouraud nos permite el aislamiento de los hongos implicados en patología humana. La adición de antibióticos al medio base inhibe el crecimiento de la flora bacteriana acompañante y se recomienda para la siembra estándar de todas las muestras. Suelen emplearse soluciones de cloranfenicol o Gentamicina o ambos simultáneamente, a concentraciones de 0.05 y 0.5g/l respectivamente.

  Medios de Sabouraud con cicloheximida. La adición de cicloheximida (0.5 g/L) al medio base de Sabouraud o Sabouraud con antibióticos es útil para evitar el sobre crecimiento de hongos contaminantes, pero algunos, como la mayoría de especies de aspergillus, fusarium, *Criptococcus neoformans* y algunas especies de cándida son sensibles a este anti fúngico por lo que es un medio que debe reservarse para recuperar hongos patógenos primarios, como los dermatofitos y los hongos dimórficos que por su crecimiento más lento pueden ser inhibidos por el sobre crecimiento de hongos contaminantes, no siendo recomendable para la siembras sistemáticas de todas las muestras.

- **AGAR GLUCOSADO DE SABOURAUD**

Medio utilizado para el aislamiento, identificación y conservación de hongos patógenos y saprófitos. También es útil para el cultivo de levaduras.

El agar Sabouraud con glucosa es un medio de amplia utilización y parcialmente selectivo para hongos debido a su bajo pH y alta concentración de glucosa. Dado que muchas bacterias toleran el bajo pH y la alta concentración de glucosa y crecen en agar Sabouraud, en especial durante incubación prolongada. Se ha demostrado que los antimicrobianos tales como penicilina, cloranfenicol, aminoglucósidos o combinaciones de los mismos son efectivos para inhibir bacterias sin afectar el crecimiento de los hongos.

- Peptona.- fuente de nitrógeno.
- Glucosa.- fuente de energía para el crecimiento de hongos.

- **CHROMagar CÁNDIDA**

Es un medio selectivo, sirve para el aislamiento e identificación de las levaduras (*C. albicans, C. tropicalis y C. krusei*).

Contiene:

- Peptona
- Glucosa
- Cloranfenicol
- Sustratos cromogénico

- **AGAR CEREBRO-CORAZÓN.**

Medios basados en caldo cerebro y corazón, medios ricos que pueden suplementarse con un 5-10% de sangre de carnero. Estos medios suplementados con antibióticos, son útiles para el aislamiento de hongos patógenos primarios. Sirven para estudiar el dimorfismo.

La infusión de cerebro de ternera, la infusión de corazón vacuno y la peptona, son la fuente de carbono, nitrógeno, y vitaminas. La glucosa es el hidrato de carbono fermentable, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el fosfato di sódico otorga capacidad buffer. El agar es el agente solidificante. Con el agregado

de 10% de sangre de caballo desfibrinada, fue utilizado para el crecimiento de *Histoplasma capsulatum* y de hongos patógenos.

Contiene:

- Infusión de cerebro de becerro
- Infusión de corazón de buey
- Peptona
- Glucosa
- Cloruro de sodio
- HNa2PO4
- Agua potable
- Se ajusta el pH de 7

- **MEDIO PARA DERMATOFITOS.**

Es un medio de aislamiento de dermatofitos. A este medio se le añade antibióticos (por lo que inhibe bacterias y hongos contaminantes). Contiene un indicador que es el rojo fenol el cual cambia de amarillo a rojo con la presencia de los dermatofitos.

Contiene:

- Peptona de soya
- Dextrosa
- Agar
- Rojo fenol
- HCl 0.8 N
- Agua destilada

Se agregan los antibióticos disueltos en acetona.

- **AGAR PATATA-ZANAHORIA BILIS DE BUEY.**

Es un medio de identificación, se usa para estudios morfológicos de levaduras siendo el medio de elección para evaluar la producción de clamidosporas por *C. albicans.*

Contiene:

- Pulpa de zanahoria
- Pulpa de patata
- Gelosa
- Agua destilada
- Bilis

- **AGAR PATATA GLUCOSA.**

Es un medio empleado para favorecer la esporulación de la mayoría de los hongos filamentosos.

Tanto la glucosa presente como la infusión de papa favorecen el desarrollo exuberante de hongos y levaduras, mientras que el desarrollo bacteriano es inhibido con el agregado de ácido tartárico luego de la esterilización hasta alcanzar un pH: 3.5 Una vez agregado el ácido no se puede recalentar ya que el agar se hidroliza.

Contiene:

- Pulpa de papa hervido y filtrado
- Glucosa
- Agar

Para poder realizar el cultivo se deberá.

- Sembrar las muestras tan pronto lleguen al laboratorio siguiendo las recomendaciones para su proceso y siembra.
- Incubar las cajas o tubos sembrados en una atmósfera húmeda a 25-30°C.
- Examinar los cultivos semanalmente para reportar resultados de crecimiento.(27)

IDENTIFICACIÓN DE LOS HONGOS

La identificación de los hongos se basa en tres caracteres:

1. El aspecto macroscópico de las colonias y su observación microscópica, que permite confirmar si se trata de hongos levaduriformes o filamentosos.

2. Las características bioquímicas, útiles para la identificación de las levaduras

3. La morfología microscópica, que permite identificar los hongos filamentosos.

MORFOLOGIA MACROSCOPICA DE LAS COLONIAS

- Los hongos levaduriformes dan lugar a colonias cremosas, opacas con un diámetro de 3 a 7 mm, y en general de crecimiento relativamente rápido (24-72 horas)
- Los hongos filamentosos dan lugar a colonias de mayor tamaño (10-30 mm), que crecen radialmente de modo progresivo, de aspecto inconfundible, velloso, algodonoso o pulverulento, de vistosos o variados colores, que deben ser observados en el anverso y reverso, su crecimiento suele ser más lento (3-20 días).
- Los hongos difórmicos dan lugar a colonias filamentosas cuando se incuban en medios usuales entre 25 y 30 °C, y a colonias levaduriformes si se incuban en agar sangre a 37 °C.(28)

IDENTIFICACIÓN DE LOS DERMATOFITOS

Los dermatofitos se dividen en tres géneros:

1. **MICROSPORUM (18 especies**): se caracterizan por la producción de muchos macroconidios como forma de espora predominante, se trata de conidios voluminosos, de pared gruesa y rugosa, multicelular, y fusiformes, formándose sobre los extremos de las hifas. Los microconidios son pequeños, hialinos y con forma de lagrima y adheridos directamente a los lados de las hifas. Parasitan piel, pelos y uñas.
2. **TRICHOPHYTON (22 especies):** producen muchos microconidios y pocos o ningún macroconidios que se pueden presentar en forma de lápiz, de pared lisa en forma de clava, con extremos romos y 8 a 10 tabiques cuyo tamaño varía de 4x8 um a 8x15um, nacen de manera individual en los extremos de las hifas. El tamaño y disposición de los microconidios son importantes para la identificación de la especie, que por lo común son esféricos, piriformes. Parasitan piel, pelos y uñas. (28, 29)
3. **EPIDERMOPHYTON:** solo forma macroconidios en forma de pera o de mazo con una o cinco células, con forma de clava y paredes lisas que nacen, ya sea de modo aislado de las hifas o más característicamente, en

grupos de dos o tres. Parasitan piel, rara vez a las uñas y nunca el pelo. (29)

ESPECIES DE DERMATOFITOS

- **MICROSPORUM CANIS:** Presenta una colonia blanca, plana, aterciopelada, que se desarrolla en 3 a 5 días. Tiene como característica un pigmento amarillo fuerte se puede observar en el reverso de la colonia cuando está madura. Si se observa con Azul de algodón se ven hifas septadas, macroconidios abundantes de forma de quilla de barco y presentan generalmente más de seis septos. Las microconidias son escasas y pequeñas en forma de bastón, otra estructura que puede presentarse son las clamidoconidias que son redondas y refringentes.
- **MICROSPORUM GYPSEUM:** Colonia plana polvorienta de color blanca-beige-canela se desarrolla a los 3 a 5 días. Si se observa con Azul de algodón se ven hifas septadas y un número considerable de macroconidios de pared delgada, elípticas y que muestran menos de 6 septos. Muy pocas microconidias con pared lisa y en forma de bastón pueden estar presentes.
- **MICROSPORUM NANUM:** Las colonias crecen con rapidez en 3 a 5 días, al comienzo son blancas, con la superficie algodonosa y más tarde de color beige. Se encuentra macroconidios de 3 células, ovalados con forma de clavas, de los lados de las hifas se originan microconidios pequeños de 3-5 um, cilíndricos con forma de clavas. (30)
- **TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES:** producen dos formas de colonias: la variedad vellosa que se aísla en casos de tiña de pie y la variedad granular aislada de lesiones adquiridas por contacto con animales. Las colonias de crecimiento rápido pueden ser colonias blancas, algodonosas o vellosas. Las colonias granulosas pueden mostrar una pigmentación roja. Se desarrolla en 3 a 5 días. Al reverso de la colonia puede observarse una coloración café. Se observan hifas delgadas septadas, un gran número de microconidias redondeadas que se presentan agrupadas en racimo sobre los conidióforos, las hifas en espiral se observan frecuentemente y macroconidios en forma de cigarro puro se presentan en algunos cultivos.

- **TRICHOPHYTON RUBRUM:** hongo de crecimiento lento de 4-7 días hasta la madurez. Produce colonias aplanadas o sobre elevadas por lo general de color blanca a rojizo, con una superficie algodonosa o aterciopelada. El color rojo cereza característico se observa mejor en el reverso de la colonia después de la 3 a 4 semanas de incubación. Los microconidios tienden a presentar formar de lágrimas y suelen distribuirse a cada lado de las hebras de las hifas, raras veces se observan macroconidios multicelulares largos y con forma de lápiz, con paredes lisas delgadas similares a los generados por *Trichophyton mentagraphytes*.(31)
- **TRICHOPHYTON TONSURANS:** De crecimiento lento de 7-10 días, las colonias presentan una superficie granular de color beige, con la formación de pliegues radiales profundos cuando están maduros. Casi nunca se observan macroconidios, presentan microconidios distintivos. Presentan variaciones en el tamaño y son alargados, en forma de maza o grandes con forma de globos y pueden mezclarse con microconidios ovalados más pequeños o con forma de lágrima.
- **TRICHOPHYTON VERRUCOSUM:** De crecimiento lento 7-14 días, las colonias son pequeñas, redondas, aplanadas, sin vello al comienzo o vellosas después y blancas a amarillo intenso. Pueden verse hifas tipo astas y también es característica la producción de numerosas clamidosporas dispuestas en cadena. Los macroconidios son raros, pero cuando se presentan son distintivos; son multicelulares, con paredes finas, lisas y delgadas con una configuración en paleta, palillo. Los microconidios, cuando están presentes, son pequeños, piriformes y nacen directamente de los lados de las hifas. (30,31)
- **EPIDERMOPHYTON FLOCCOSUM:** las colonias crecen con rapidez de 3 a 5 días, en un comienzo son blanco grisáceas y luego cuando maduran, adquieren una pigmentación verde caqui. Pueden verse serpentinas de hifas blanco amarillentas que se irradian desde el centro de la colonia hacia la periferia. Nunca producen microconidios. Los macroconidios suelen ser

abundantes, con forma de maza, de 3 a 5 células y paredes lisas y delgadas. Los clamidioconidios están típicamente presentes. (32)

3.-MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio.

La presente investigación es de tipo descriptivo de corte transversal ya que son estudios en los cuales no se interviene o manipula el factor de estudio, es decir se observa lo que ocurre con el fenómeno en condiciones naturales, en la realidad.

Universo

Personas que conforman la asociación de ganaderos del cantón Celica.

Muestra

Representada por 40 pacientes que accedieron a realizarse el examen para la identificación de dermatofitos presentes en uñas de pies.

Criterios de inclusión

- Ganaderos que tuvieron la decisión voluntaria de participar en el estudio.
- Ganaderos que firmaron el consentimiento informado.

Criterios de exclusión

- Pacientes medicados con antimicóticos, cremas, talcos y/o anti fúngicos por lo menos 24 horas antes de la toma de muestra.
- Muestras recolectadas con un volumen insuficiente.

TECNICAS, MÉTODOS Y PROCEDIMIENTO

PROCEDIMIENTO

En el presente trabajo investigativo se realizaron los siguientes trámites:

- Oficio dirigido al presidente de la asociación de ganaderos del cantón Celica solicitando autorización para la realización del presente trabajo investigativo.(Anexo 1)
- Oficio dirigido al responsable del laboratorio Reina del Cisne de la ciudad de Macara, para la elaboración de medios de cultivo.(Anexo 2)

- Oficio dirigido al responsable del laboratorio Vidalab del cantón Puyango (Alamor), para que se me permita realizar el debido procesamiento de las muestras.(Anexo 3)

Tras las autorizaciones respectivas, la presente investigación se efectuó en tres fases:

FASE PREANALÍTICA:

La población seleccionada para este estudio fueron los ganaderos del cantón Celica, a los cuales se les aplicó los siguientes procedimientos:

- Se les entregó las indicaciones previas a la obtención de la muestra. (Anexo4).
- Obtención del consentimiento informado. (Anexo 5)
- Mediante un raspado con lanceta, se procedió a la obtención de muestras de las uñas de los pies, material biológico que fue recolectado en un recipiente estéril. (Anexo 6)
- Las muestras fueron transportadas, debidamente rotuladas y selladas al laboratorio Vidalab del cantón Puyango para su procesamiento y análisis. (Anexo 7)
- La preparación de los medios de cultivo de Agar Dextrosa Sabouraud, Agar Dextrosa Patata, se los realizaron en el laboratorio Reina del Cisne del cantón Macara. (Anexo 8)

Formatos:

- Hoja de registro diario. (Anexo 9)
- Hoja de reporte de resultados (Anexo 10)

FASE ANALÍTICA:

Luego del procesamiento de las muestras se realizaron los siguientes procedimientos, los mismos que fueron desarrollados en el laboratorio Vidalab del cantón Puyango (Alamor):

- Examen directo con KOH 20%, donde se observó la presencia de esporas. (Anexo 11)
- Cultivo en Agar Sabouraud, medio que nos permite aislar a los hongos, su crecimiento dura de 7 a 10 días y a partir de los 30 días se puede observar

un crecimiento de características morfológicas que corresponden a cada cepa de dermatofitos, encontrando características macroscópicas como: colonias algodonosas, suaves, blanquecinas, marrón y características microscópicas como: Macroconidios alargados en forma de cigarro habano, no siempre presentes. Abundantes microconidios redondeados formando grupos que asemejan racimos de uva inmadura, presencia de hifas espiriladas (Anexo 12)

- Agar Papa, medio de identificación, que es específico ya que observamos la presencia de microconidios piriformes, estrechos, en forma de lágrima, aislados y dispuestos lateralmente en las hifas. Colonias blanquecinas, esporuladas, rojizas; (Anexo 13)

FASE POSTANALÍTICA:

Luego de haber realizado el análisis de las muestras se entregaron los resultados a los respectivos ganaderos que formaron parte de la investigación.

PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

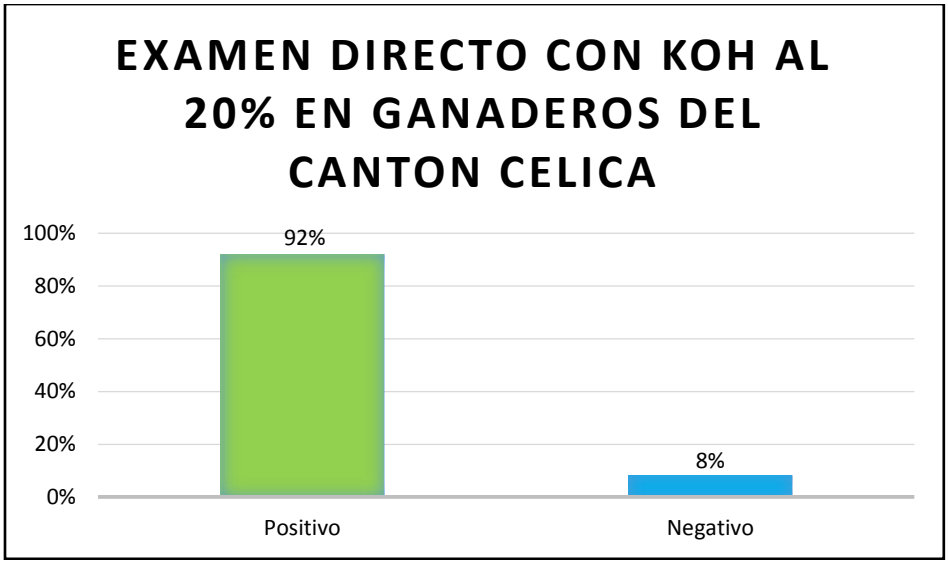
Los resultados obtenidos fueron representados en tablas y gráficos, diseñados en el programa de Microsoft Office Excel 2013, con su respectiva interpretación.

4.-RESULTADOS

CUADRO N° 1		
EXAMEN DIRECTO CON KOH AL 20% EN GANADEROS DEL CANTON CELICA		
RESULTADOS	**FRECUENCIA**	**PORCENTAJE**
Positivo	37	92%
Negativo	3	8%
TOTAL	40	100%

Fuente: Registro Interno de Resultados.
Elaborado: Martha Judith Ambuludí Cabrera.

GRAFICO N°1



Fuente: Registro Interno de Resultados.
Elaborado: Martha Judith Ambuludí Cabrera.

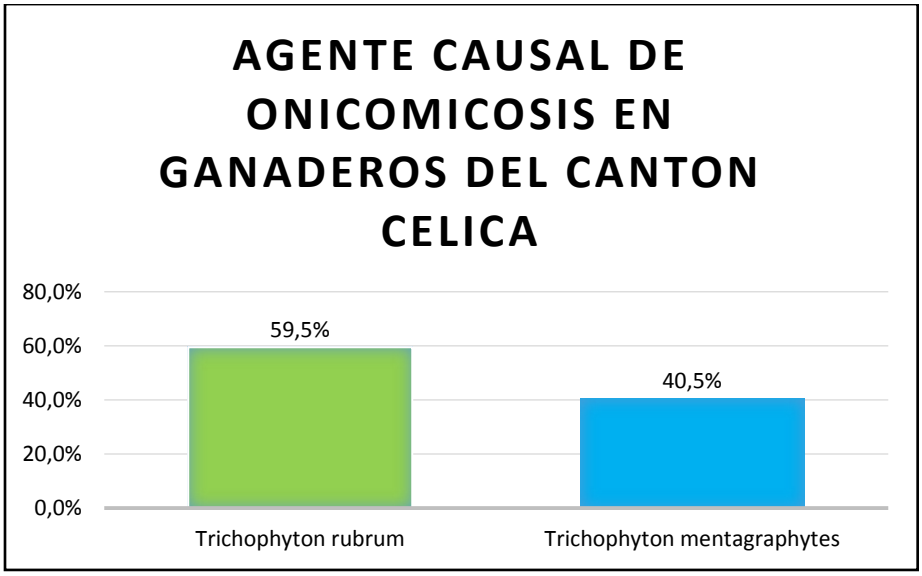
INTERPRETACIÓN

En la presente gráfica podemos evidenciar un 37 (92%) de muestras positivas, mediante el examen microscópico directo con KOH 20%, lo que nos orienta a un incremento considerable de onicomicosis en la población ganadera.

CUADRO N° 2		
AGENTE CAUSAL DE ONICOMICOSIS EN GANADEROS DEL CANTÓN CÉLICA		
RESULTADOS	**FRECUENCIA**	**PORCENTAJE**
Trichophyton mentagrophytes	15	40.5%
Trichophyton rubrum	22	59.5%
TOTAL	37	100%

Fuente: Registro Interno de Resultados.
Elaborado: Martha Judith Ambuludí Cabrera.

GRAFICO N° 2



Fuente: Registro Interno de Resultados.
Elaborado: Martha Judith Ambuludí Cabrera.

INTERPRETACIÓN

Los resultados obtenidos de acuerdo al germen aislado, en el raspado de uñas de pies, mayoritariamente se presentó el *Trichophyton rubrum* con el 59.5%, mostrando una incidencia de dermatofitos en onicomicosis.

CUADRO N° 3			
SENSIBILIDAD DEL EXAMEN DIRECTO FRENTE AL AGAR SABOURAUD			
AGAR SABOURAUD			
EXAMEN DIRECTO KOH 20%		**POSITIVO**	**NEGATIVO**
	POSITIVO	22	15
	NEGATIVO	0	3

Fuente: Registro Interno de Resultados.
Elaborado: Martha Judith Ambuludí Cabrera.

Formula: $$Sensibilidad = \frac{VP}{VP+FN} x\ 100$$

Nomenclatura:

VP: Verdaderos Positivos
FN: Falsos Negativos

$$Sensibilidad = \frac{22}{22+3} x\ 100$$

$$Sensibilidad = \frac{22}{25} x\ 100$$

$$Sensibilidad = 88\ \%$$

INTERPRETACIÓN

En la siguiente tabla se puede apreciar los porcentajes alcanzados por el examen directo al ser relacionado con el cultivo micológico Agar Sabouraud en el diagnóstico de Onicomicosis; con una sensibilidad del 88%.

CUADRO N° 4			
SENSIBILIDAD DEL EXAMEN DIRECTO FRENTE AL AGAR PAPA			
AGAR Papa			
EXAMEN DIRECTO KOH 20%		**POSITIVO**	**NEGATIVO**
	POSITIVO	15	22
	NEGATIVO	0	3

Fuente: Registro Interno de Resultados.
Elaborado: Martha Judith Ambuludí Cabrera.

Formula: $$Sensibilidad = \frac{VP}{VP+FN} x\ 100$$

Nomenclatura:

VP: Verdaderos Positivos
FN: Falsos Negativos

$$Sensibilidad = \frac{15}{15\ +3} x\ 100$$

$$Sensibilidad = \frac{15}{18} x\ 100$$

$$Sensibilidad = 83.3\ \%$$

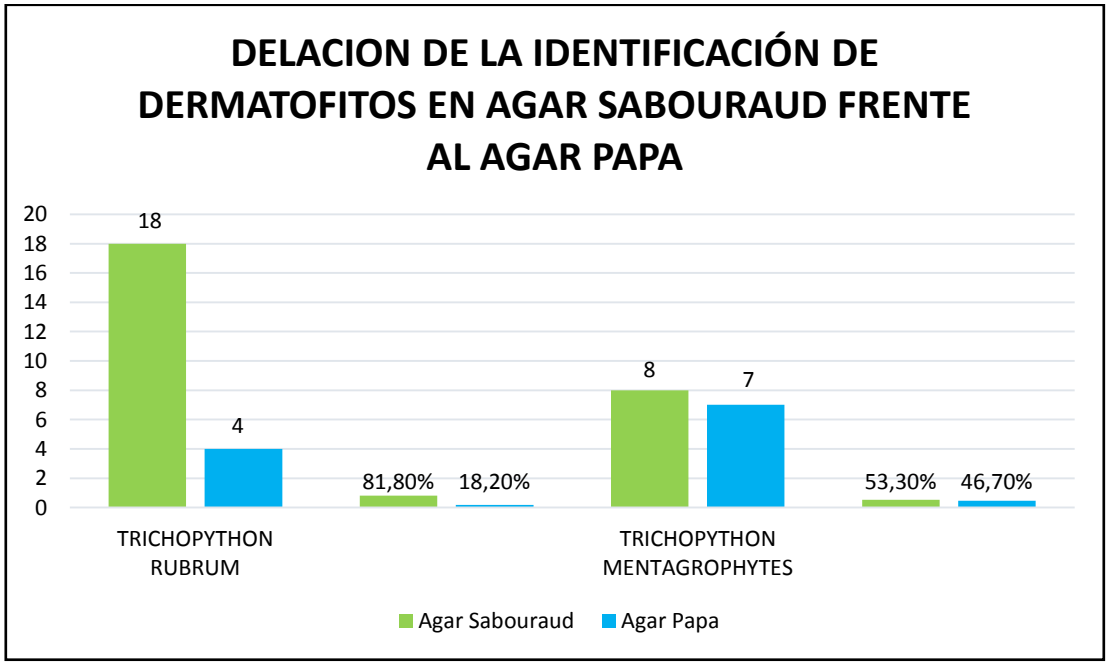
INTERPRETACIÓN

En la siguiente tabla se puede apreciar los porcentajes alcanzados por el examen directo al ser relacionado con el cultivo micológico Agar Papa en el diagnóstico de Onicomicosis; con una sensibilidad del 83.3%.

CUADRO N° 5				
RELACION DE LA IDENTIFICACIÓN DE DERMATOFITOS EN AGAR SABOURAUD FRENTE AL AGAR PAPA				
	TRICHOPYTHON RUBRUM		TRICHOPYTHON MENTAGROPHYTES	
	FRECUENCIA	**PORCENTAJE**	**FRECUENCIA**	**PORCENTAJE**
Agar Sabouraud	18	81.8%	8	53.3%
Agar Papa	4	18.2%	7	46.7%
TOTAL	22	59.5%	15	40.5%

Fuente: Registro Interno de Resultados.
Elaborado: Martha Judith Ambuludí Cabrera.

GRAFICO N° 3



Fuente: Registro Interno de Resultados.
Elaborado: Martha Judith Ambuludí Cabrera.

INTERPRETACIÓN

En cuanto a la identificación de los dermatofitos en los medios de cultivo se pudo observar que hubo un mayor crecimiento en el Agar Sabouraud con 18 (81.80%), formando colonias con las características necesarias para su identificación macroscópica. En donde *T. rubrum* produjo pigmento color rojo vino al cabo de los 15 días.

5.-DISCUSION

La onicomicosis es la alteración producida por la invasión de hongos patógenos o saprofitos en la estructura ungueal de manos y pies. Es la principal causa de enfermedad de la uña en los países desarrollados, en los que representa alrededor del 30-50% de los trastornos ungueales. En su génesis y sus manifestaciones clínicas interviene el estado inmunológico del huésped. Esta infección puede provenir de la propia uña o de otra infección por hongos en otras localizaciones. Según diversos estudios, el 30% de las micosis superficiales son onicomicosis. (33)

Las micosis superficiales constituyen entidades dermatológicas producidas por hongos que se encuentran en el suelo, siendo las más comunes en nuestro medio, aunque su prevalencia se ve favorecida por factores como el clima cálido-húmedo. (34)

Con frecuencia el diagnostico micológico es exclusivamente clínico, pero la identificación de especies implicadas contribuye al conocimiento de epidemiología.

En nuestro medio existe poca información y por el difícil diagnóstico de estas infecciones que pueden presentarse atípicas o ser confundidas, se efectuó el presente estudio denominado**: "Identificación de dermatofitos presentes en uñas de pies mediante examen directo y cultivo micótico en Agar Sabouraud y Agar Papa en ganaderos del cantón Celica"**, realizado en 40 ganaderos.

En el presente estudio se realizó la identificación de elementos micóticos, en las muestras recolectadas mediante el examen directo con KOH al 20%, determinado que 37 (92%) de la población estudiada resulto positiva para la presencia de onicomicosis, como principal agente causal se encontró al *Trichophyton rubrum*, la sensibilidad fue mayor en el examen directo frente al Agar Sabouraud con el 88%, los dermatofitos donde tuvieron un mayor crecimiento fue en el Agar Sabouraud con el 81.80%.

A nivel mundial existen estudios relacionados a la búsqueda de gérmenes causantes de onicomicosis, ya que los hongos productores de estas infecciones atacan a personas de cualquier edad, sexo, raza o nivel socioeconómico. La

humedad, el calor favorecen su crecimiento; es así que al comparar los resultados obtenidos, con un estudio realizado por Javier Nazar**,** Paula Gerosa en Buenos Aires Argentina, a 414 pacientes para determinar Onicomicosis: epidemiología, agentes causales y evaluación de los métodos diagnósticos de laboratorio en el periodo 2007-2011, utilizando hidróxido de potasio al 20% y cultivo Agar Sabouraud obteniendo los siguientes resultados: Los agentes fúngicos más frecuentes identificados fueron *T. rubrum* (120 casos) y *T. mentagrophytes* (26 casos). Con relación a los métodos de laboratorio, el examen directo presentó una mayor sensibilidad en el diagnóstico frente al Agar con el 69% y 68%. Con respecto a los medios de cultivo utilizados, el Sabouraud tuvo un mejor rendimiento en el desarrollo de dermatofitos que el de lactrimel. Información que concuerda con la presente investigación comparando los resultados obtenidos en la presente investigación se correlaciona con el estudio mencionado, el mismo que utiliza métodos similares de KOH al 20%, cultivo y por sus agentes causantes: *T. mentagrophytes, T. rubrum,* única diferencia entre los dos estudios es que en los cultivos en lugar del Agar Papa utiliza el lactrimel. (35)

Por otro lado un estudio realizado por Rodrigo Cruz, Leslie Calderón en Valparaíso chile (2007-2009), para determinar micosis superficiales en 1.004 pacientes, en donde la presentación clínica más frecuente entre las micosis superficiales fue la onicomicosis de pie (58,1%), el principal agente fue *T. rubrum* (45%), seguido de *Cándida* spp (30%) y *T. mentagrophytes* (9,6%). El estudio en Valparaíso con el presente estudio se relaciona porque la mayor presentación clínica fue en uñas de pies, utilizaron KOH AL 20%, medio de cultivo Agar Sabouraud, agente predominante *T. rubrum* y las diferencias se encuentran que la relación del examen directo las realizó solo con el Agar Sabouraud. (7)

La relación encontrada entre el examen microscópico directo con KOH al 20% y el cultivo demuestra que este tipo de exámenes son de mucha utilidad, se potencian y facilitan el diagnóstico. Los resultados negativos en el cultivo se podrían explicar por el uso de medicamentos antimicóticos o por una escasa cantidad de muestra obtenida.

Finalmente, las enfermedades micóticas como la onicomicosis prevalecen a nivel mundial por lo que es necesaria la identificación de factores de riesgo, basados en la población, y que sean específicos del lugar de trabajo. Esta información podrá utilizarse entonces para desarrollar políticas de prevención para grupos e individuos expuestos a estas condiciones laborales.

6.-CONCLUSIONES

En la presente investigación titulada: **"Identificación de dermatofitos presentes en uñas de pies mediante examen directo y cultivo micótico en Agar Sabouraud y Agar Papa en ganaderos del cantón Celica."** se concluye:

- En los ganaderos del cantón Celica se presentó el 92% de onicomicosis, mediante el examen directo con KOH al 20%.
- El principal agente causal de onicomicosis en los ganaderos del cantón Celica fue el *Trichophyton rubrum* con el 59.5%.
- El examen directo frente al Agar Sabouraud presentó una sensibilidad del 88% siendo mayor frente al del Agar Papa con el 83.3%.
- Los dermatofitos tuvieron mayor crecimiento en el Agar Sabouraud con el 81.8%, ya que es un medio de amplia utilización, medio de cultivo más utilizado en micología, selectivo para hongos debido a su bajo pH y alta concentración de glucosa. En este medio las peptonas proveen la fuente de carbono y nitrógeno para el crecimiento de microorganismos y el agar es agregado como agente solidificante

7.-RECOMENDACIONES

- Se recomienda hacer más estudios acerca de la identificación de dermatofitos en uñas de pies; utilizando otros medios de identificación.

- Para el cultivo de muestras clínicas es indispensable que se haga en la cabina de bioseguridad, para así evitar que el aire arrastre esporas del medio ambiente y con ello se contamine el medio de cultivo.

- Los hongos se pueden mantener a temperatura ambiente durante su cultivo, pero se recomienda que las cajas sean selladas con cinta aislante para impedir que los hongos ambientales contaminen el medio, además esto evitará que se reseque el medio.

8.-BIBLIOGRAFIA

1. Romero Cabello R. Microbiología y Parasitología Humana. 3ra. Ed. México D.C.: Editorial Médica Panamericana, 2007. Cap. 105 Págs:1119 – 1124
2. Guillen, P. Microbiología Clínica, Editorial Panamericana. S.A, 2008. Pág. 83-90.
3. Ochaita P.L. Micosis superficiales cutáneas. En Dermatología texto y atlas, 3ra. Ed. Madrid. Ed. Meditecnica S.A. 2003:103-128
4. Gil, P. Diagnóstico micológico de dermatofitos. 2009. Disponible en (http://www.nexusmedia.com/web/articulos/1667/a17888/pe29005.pdf.2009.
5. Arenas R. Micología Médica Ilustrada. 3ra Ed. México. Editorial Mc Graw Hill. 2008. Págs.: 17-27, 47 – 48, 106 – 110
6. Íngrid Salas C. Micosis Superficiales diagnosticadas en el laboratorio de micología médica de la Universidad de Costa Rica. Disponible en (http://www.scielo.sa.cr/pdf/rccm/v28n1-2/a04v28n1y2.pdf)
7. Ausina Ruiz V. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica. Madrid. Editorial Médica Panamericana. 2006. Págs.: 11-12
8. Diaz Maria C. Agentes Etiológicos de micosis superficiales en un área de Santiago de Chile. Disponible en: (http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=116765&indexSearch=ID.
9. Cruz, R. Micosis superficiales en la ciudad de Valparaíso, Chile. 2007-2009. Chile.(http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071610182011000600002).
10. Funke, T. Introducción a la Microbiología, Novena Edición, Editorial Panamericana. Julio 2007. Pág. 353.
11. KONEMAN. Diagnóstico Microbiológico. 6ta Ed. Argentina. Editorial Médica Panamericana.2008. Págs.: 1106 – 1117
12. Murray P. Microbiología Médica. 6ta Ed. España. Editorial Elsevier. 2009. Págs.: 715-718

13. Moreno, A. Guía de Buena Práctica Clínica en Infecciones fúngicas, Ministerio de Salud y Consumo Editorial Internacional Marketing & Consumo. Disponible en https://www.cgcom.es/sites/default/files/guia_fungicas. Pdf
14. TORTORA. Introducción a la microbiología. 9na Ed. Argentina. Editorial Médica Panamericana. 2007. Págs.: 345-353
15. BAILEY Y SCOTT. Diagnóstico Microbiológico. 11va Ed. Editorial Médica Panamericana. 2004. Cap. 53. Págs.: 777 – 779
16. Larruskain, J. Onicomicosis, Diagnóstico y Tratamiento, Sistema Nacional de Salud, Volumen 32, N°3, 2008.
17. Prats G. Microbiología Clínica. 1era Ed. Madrid. Editorial Médica Panamericana. 2007. Cap. V. Pág.83-98
18. Martin AG., Kobayashi GS. Micosis superficiales: Dermatofitosis, tiña negra, piedra. En Fitzpatric TB Dermatología en Medicina General 5ta. Ed. Buenos Aires, ed. Médica Panamericana 2001:2477-2512.
19. Pemán. J, Manzuelos. M, Rubio, M. Manual de micología. 2009. Disponible en: http://wwww.es.scrib.com/doc/1761375/Manual-deMicología.07/24/2009.
20. Quesada, M. Micosis superficiales. 2009. Disponible en: http://www.saberdeciencias.com.ar/index.php/apuntesdemicologia/160micologia-hongos-morfologia-reproduccion.
21. Gamazo C. Manual Práctico de Microbiología. 3ra Ed. Editorial Mansson. 2005. Pág.: 53-55
22. Guevara. M, José Casquero C. Manual de Procedimientos y Técnicas de Laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de Micosis Humanas. Serie de Normas Técnicas N°44. Pág. 51, Lima 2007.
23. Callisaya H, Juan Conde A. Dora y Choque C Hilda. Frecuencia de Gérmenes causantes de Micosis Superficiales. Biofarbo, dic 2007 vol. 15, no 1 p 21 – 28.ISSN 1813 – 5363.

24. Nazar, Javier R, Gerosa, Paula E y Díaz Osvaldo A. Onicomicosis: Epidemiología agentes Causales y evaluación de los métodos diagnósticos de Laboratorios. Rev.Agent.Microbiolo. 2012, vol. 44, N°1
25. Requena L, López D, García A. Patología ungueal. Piel 1988; 3:166-182. (http://reviberoammicol.com/2005-14/164167.pdf).
26. Henry J. Diagnóstico y Tratamientos Clínicos por el Laboratorio. 9na Ed. Editorial SALVAT. Pág.: 1189
27. BAILEY & SCOTT. Diagnostico microbiológico. 12va Ed. Argentina. Editorial Médica Panamericana. 2009. Págs.: 660-669
28. Peña A. Atlas de Dermatología del pie. 9na Ed. Argentina. Editorial Médica panamericana. 2007
29. Rubio C, Rezusta A, Grosa J. Mico patología ungueal; estudio micológico de onicomicosis y tinea ungueal. Rev. Iber Micol 2003; vol. 5: pág. 90-99.
30. Verma S, Heffernan MP. “Superficial fungal infections. Dermatophytosis, onychomycosis”. 6 ed. 2008; pág. 1807-1821.
31. Rueda, R (2006).Micosis superficiales y dermatomicosis. Colombia: Red Colombia Médica, 2014. Disponible en::http://site.ebrary.com/lib/utasp/docDetail.action?docID=10114960&p00=dermat ofitos.
32. Kaur R, Kashyap B, “Onychomycosis – Epidemiology, Diagnosis and Management”. Microbial 2008; 26: pág. 108-116.
33. Vilata, JJ. Micosis cutáneas .dermatofitosis, Editorial Medica Panamericana.Madrid-Espana.2006.cap4-5 dermatofitosis
34. Ana Mazón, Soledad Salvo; Laboratorio de Microbiología, Rev Iberoam Micol; vol. 14: 65-68.
35. Javier Nazar R. Onicomicosis: epidemiología, agentes causales y evaluación de los métodos diagnósticos de laboratorio. marzo 2012: Disponible en: (http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S032575412012000100005).

ANEXOS

ANEXO 1

ASOCIACIÓN DE GANADEROS "ASOGAC" DEL CANTÓN CELICA
Acuerdo Ministerial Nº 479 - MAGAP
CELICA - LOJA - ECUADOR

Of. 005-2014-AGCC

Celica, 07 de Mayo del 2014

Sra.
Martha Judith Ambuludi Cabrera
ALUMNA DE LA UNL
Ciudad.-

De mis consideraciones:

Por medio del presente reciba un cordial y atento saludo deseándole toda clase de éxitos en su proyecto de investigación.

A la vez me permito hacerle conocer la nómina de socios que integran la Asociación de Ganaderos del Cantón Celica, para que se desarrollen los exámenes correspondientes en lo tiene que ver con el tema denominado **IDENTIFICACION DE DERMATOFITOS EN ONICOMICOSIS MEDIANTE EXAMEN DIRECTO Y CULTIVO MICÒTICO EN MEDIOS AGAR SABUROUND Y AGAR PAPA EN GANADEROS DEL CANTON CELICA.**

De antemano le extiendo un agradecimiento formal, ya que Asociación esta presta a contribuir siempre al progreso y desarrollo de nuestro Cantón.

De Usted muy atentamente;

Sr. Manuel Quezada

PRESIDENTE DE LA "ASOGAC"

ASOCIACION DE GANADEROS CELICA

Adj/listado

ANEXO 2

LABORATORIO CLINICO
REINA DEL CISNE

Macará 2 de Mayo del 2014

Lcda. Cecilia del Cisne Quezada Ojeda

Gerente Propietaria del Laboratorio Clínico Reina del Cisne.

CERTIFICO.

Que la Sra. Martha Judith Ambuludi Cabrera , on número de cédula 1104969405, estudiante de la carrera de Laboratorio Clínico, realizó el proceso de preparación, esterilización y embazado de cajas de Petri con Agar Papa y Agar Sabouraud, en las instalaciones del área de Microbiología del Laboratorio Clínico a mi cargo, cumpliendo con los requisitos de bioseguridad y control de calidad necesarios.

ES todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, autorizo a la interesada hacer uso del presente documento, en lo que ella crea conveniente.

Atentamente.

LCDA. CECILIA QUEZADA OJEDA

LABORATORISTA CLÍNICA

Dirección: Cabo Sánchez y Catamayo, diagonal al Hospital Binacional de la Ciudad de Macará
Telefonos: 2695863 / 0993990818
Mail: lab. reinadelcisne@hotmail.com • Macará - Loja - Ecuador

ANEXO 3

LABORATORIO DE ANALISIS CLINICO Y DE MICROBIOLOGIA

VidaLAB

Alamor 05 de mayo del 2015

Lcda. Jessica Paulina Capa Mora

Gerente Propietaria de Laboratorio Vidalab.

CERTIFICO:

Que la Srta. Martha Judith Ambuludí Cabrera , con número de Cdla 1104969405, estudiante de la carrera Laboratorio Clínico, realizó el proceso de análisis de muestras para el proyecto de tesis titulado **IDENTIFICACION DE DERMATOFITOS PRESENTES EN UÑAS DE PIES MEDIANTE EXAMEN DIRECTO Y CULTIVO MICOTICO EN AGAR SABOURAUD Y AGAR PAPA EN GANADEROS DEL CANTON CELICA** en el Área de Microbiología, cumpliendo con los requisitos de bioseguridad y control de calidad necesarios.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, autorizo a la interesada hacer uso del presente documento, en lo que ella crea conveniente.

Atentamente.

LABORATORIO DE ANALISIS CLINICO
"VIDA-LAB"
Lic. Jessica P. Capa M.
L. 003 F. 417 N° 352
RUC: 1104945204001

Lcda. Jessica P. Capa M.
LABORATORISTA CLÍNICA.

ANEXO 4

RECOMENDACIONES PREVIAS A LA RECOLECCIÓN DE MUESTRAS PARA EL ANALISIS

- No υτιλιζαρ χρεμασ, ταλχοσ, πορ μενοσ 24 ηορασ πρεϖιασ αλ εξ αμεν
- No ρεαλιζαρ ελ ανλισισ α περσοναση θυε ετομανδο μεδιχαμεντοσ αντιμιχ ϝτιχοσ..
- No χολοχαρσε εσμαλτεσ αντεσ δε λα τομα δε μυεστρα.
- No χορταρσε λασ υ⟩ασ πρεϖιο α λα οβτενχι ϝν δε λα μυεστρα.
- Ελ δ{α δε λα τομα δε μυεστρα ιρ χον χαλζαδο αδεχυαδο παρα ο βτενερ λα μυεστρα.

ANEXO 5

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LOS GANADEROS

Celica……de 20…

Señor (a)

Ciudad

En forma libre y voluntaria yo……

Identificado(a) con la cédula de ciudadanía número……

Manifiesto que:

1. He recibido información, con el fin de que se realice en mi persona el examen de laboratorio para detectar la presencia de dermatofitos en uñas de pies.
2. Manifiesto que he recibido indicaciones acerca de la muestra que se requiere para la detección de este hongo.
3. Para garantizar el derecho a la privacidad la información y datos, así como los resultados del análisis, estarán sometidos a confidencialidad.

Firmado en la ciudad de… a los…días del mes de……..del año

_____

FIRMA

ANEXO 6

RECOLECCIÓN DE MUESTRAS (UÑAS)

- Rotular la muestra con nombre del paciente.
- Pedir al paciente que se siente de la manera más cómoda.
- Explicar en qué consiste el procedimiento que se va a realizar.
- Limpiar con alcohol al 70% el área de recolección.
- Pedir al paciente que se retire su zapato y medias si es el caso.
- Raspar la uña de la parte inferior con el lado romo del bisturí para obtener el material ablandado del lecho ungular y dejar caer la muestra en la caja Petri, en el caso de uñas que no se pueda obtener una muestra significativa, cortar pequeños fragmentos con un cortaúñas.
- Colocar en una caja Petri estéril debidamente rotulada, luego colocamos de 3 a 5 gotas de KOH al 20% y dejamos reposar durante 30 minutos antes del análisis.

ANEXO 7

TRANSPORTE DE LA MUESTRA

- El envío de la muestra debe ser inmediato.
- La muestra debe estar debidamente rotulada con los datos del paciente y tipo de muestra en una caja Petri o en un tubo de ensayo tapados y sellados con cinta adhesiva.
- Se colocará en una caja hermética y se los transportará inmediatamente al laboratorio Vidalab del cantón Puyango (Alamor) donde las muestras serán procesadas.
- La muestra puede almacenarse antes de ser analizada en un tiempo menor a las 24 horas a temperatura ambiente.

ANEXO 8

PREPARACION DEL MEDIO AGAR SABOURAUD

Para la preparación del medio de agar se procede a pesar la cantidad deseada del medio del cultivo.

Agar Dextrosa Sabouraud	65 gramos
Agua destilada	1000 ml
pH 6.8-7	

- Disolver 65 g del polvo en 1 litro de agua destilada.
- Calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto.
- Evitar el sobrecalentamiento. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos.
- Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50°C y vaciar en placas de Petri estériles.
- Una vez fríos los medios de cultivo guardar las cajas Petri en forma inversa, sellar con papel aluminio y colocarlas en una funda plástica, rotular de la siguiente manera: fecha de preparación, fecha de expiración, y el nombre del medio del AGAR DEXTROSA SABOURAUD.

ANEXO 9

PREPARACION DEL MEDIO DE AGAR PAPA

Para la preparación del medio de agar se procede a pesar la cantidad deseada del medio del cultivo.

250 gr de patata
15 gr de agar 1
5 gr de dextrosa
1L de agua destilada

- Se lavan las patatas sin pelar con agua del grifo y luego se cortan en trozos de menos de 1 cm. de grueso. Se colocan en un escurridor durante 1 minuto donde se deja filtrar el agua, tras lo cual se colocan en un recipiente limpio para cocerlas durante 45 minutos, añadiéndoles 1 litro de agua destilada. A continuación se filtra y el caldo resultante se coloca en otro recipiente donde ha de calentarse sin que llegue a hervir.
- Se van añadiendo el agar y la dextrosa, sin dejar en ningún momento de darle vueltas hasta que se disuelvan bien. Para compensar el agua que se va con la evaporación ha de añadirse más, de tal forma que la cantidad resultante sea un litro.
- **Esterilización del medio de cultivo:** Con algodón hidrófobo se tapa el matraz, teniendo cuidado de dejar el algodón compacto. Se coloca un papel sobre la boca del matraz y se ajusta con un elástico. Se escribe en el papel el tipo de medio de cultivo que se ha preparado. Se lleva a autoclave a 121º C. Se retira del autoclave con cuidado y teniendo todas las precauciones de su uso.
- **Distribución del medio de cultivo y solidificación:** Distribuir el medio en las cajas de Petri estériles siguiendo la técnica aséptica. Las cajas no

pueden ser destapadas a menos que sea entre los mecheros o dentro de la cabina de flujo laminar. Ya sólidas, se cierran adecuadamente. Previo a este procedimiento se coloca el material a utilizar en la cabina de seguridad biológica durante 30 minutos en UV.

- **Control de calidad de los medios de cultivo:** Realizar el control de calidad de los medios, retirando 1 al 5% de la partida y colocándolo en un incubador bacteriológico a 35º C durante 48 horas; si aparecen contaminantes en el medio, se debe adquirir una partida nueva.
- **Almacenamiento y conservación:** Empaquetar los medio de cultivo con papel aluminio, en paquetes no más de 10 cajas e invertidas. Rotular con nombre y fecha el lote del medio de cultivo preparado. Almacenar y conservar las placas de forma invertida a una temperatura de 2- 8ºC, hasta que el medio sea utilizado.

Anexo 10

HOJA DE REPORTE DIARIO

Raspado de uñas de pies

Responsable:

Fecha:

FIRMA:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES	EXAMEN DIRECTO (KOH 20%)	CULTIVO		AGENTE CAUSAL	OBSERVACIONES
			C. Macroscópicas	C. Microscópicas		

FIRMA: ……

ANEXO 11

REPORTE DE RESULTADOS

PACIENTE:
EDAD:
FECHA:

EXAMEN DE HONGOS

KOH al 20%:

CULTIVO:

HONGO IDENTIFICADO:

OBSERVACIONES:

FIRMA……

ANEXO 12

EXAMEN MICROSCÓPICO

Examen Directo con hidróxido de potasio 20% (KOH).

- Suspender la muestra en KOH al 20%.

- Se coloca una gota de la suspensión (KOH al 20%) en un portaobjeto limpio, se tapa con el cubreobjetos.

- Se lo lleva al microscopio, y se observa con lente de 10 X, para observar si hay la presencia de estructuras fúngicas, luego se pasa a observar con el lente de 40 X para confirmar el tipo de estructuras micóticas presentes en la muestra e identificar su morfología

ANEXO 13

PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR EL INÓCULO EN EL CULTIVO

Se usara el medio, Agar Sabouraud.

- Con ayuda de un hisopo estéril sembrar en agar Sabouraud. La técnica empleada para la siembra es realizando un plateado en la mitad de la caja y luego con el asa realizar unas pequeñas estrías con la finalidad de que nos permita observar las características morfológicas de las colonias.

- Incubar por 72 horas a temperatura controlada a 30°C o de 1 a 3 semanas a temperatura ambiente en un armario oscuro.

- Los cultivos deben incubarse durante un mínimo de 30 días antes de desecharlos como negativos.

ANEXO 14

PROCEDIMIENTO PARA REALIZAR EL INÓCULO EN EL CULTIVO

Se usara el medio, Agar Papa.

- Con ayuda de un hisopo estéril sembrar en Agar Papa. La técnica empleada para la siembra es realizando un plateado en la mitad de la caja y luego con el asa realizar unas pequeñas estrías con la finalidad de que nos permita observar las características morfológicas de las colonias.

- Incubar por 72 horas a temperatura controlada a 30°C o de 1 a 3 semanas a temperatura ambiente en un armario oscuro.

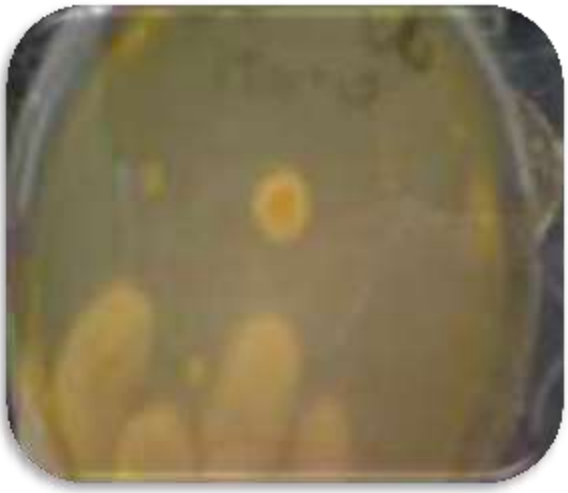
- Los cultivos deben incubarse durante un mínimo de 30 días antes de desecharlos como negativos.

TOMA DE MUESTRAS

PROCEDIMIENTO DEL INOCULO DE LOS HONGOS

Siembra en el Agar Sabouraud y Agar Papa

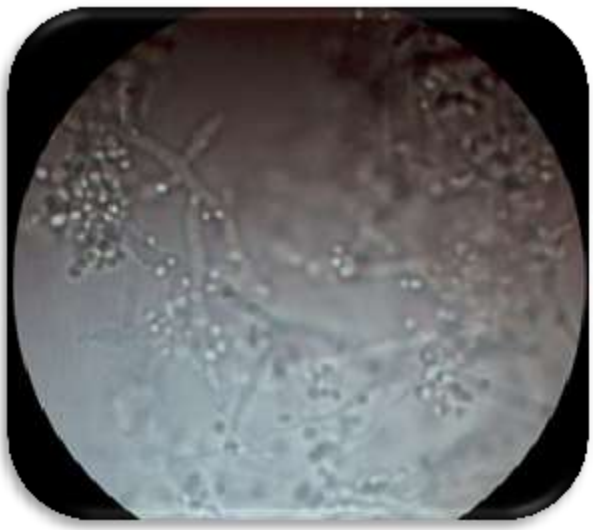
CARACTERÍSTICAS MACROSCOPICAS DE LOS CULTIVOS



CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE LOS HONGOS

TRICHOPHYTON RUBRUM

TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES



INDICE

CERTIFICACIÓN..... II
AUTORÍA..... III
CARTA DE AUTORIZACIÓN……..…..IV
AGRADECIMIENTO……. V
DEDICATORIA VI
TÍTULO…….....1
RESUMEN……..... …2
ABSTRACT…… 3
INTRODUCCIÓN…… .....….4
REVISIÓN DE LITERATURA…… .....….8
MICROORGANISMOS…… ..... …8
CLASES DE AGENTES INFECCIOSOS…… ..... ….8
GENERALIDADES DE LOS HONGOS ……..... .9
ESTRUCTURAS SOMÁTICAS…..... 10
MODALIDADES DE LAS HIFAS 11
REPRODUCCIÓN ASEXUAL O IMPERFECTA 12
ESPORANGIOSPORAS O ENDOSPORAS 13
ONICOMICOSIS 13
FACTORES PREDISPONENTES..... 14
ETIOLOGÍA..... 14
DERMATOFITOS 15
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICA MICROSCÓPICAS DE ALGUNAS ESPECIES DE DERMATOFITOS 15
LEVADURAS..... 15
MOHOS NO DERMATOFITOS 16

PATOGENIA Y CLÍNICA. 17
Onicodistrofias subungueal distal y lateral. (OSDL) 17
Onicomicosis blanca superficial. (OBS) 18
Onicomicosis proximal subungueal. (OPS) 18
Onicodistrofias total. (OT) 19
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS 19
Diagnóstico Micológico 19
TOMA DE MUESTRAS 20
Examen Directo 21
Cultivo de las muestras 21
AGAR SABOURAUD 22
AGAR GLUCOSADO DE SABOURAUD 23
CHROMagar CÁNDIDA 23
AGAR CEREBRO-CORAZÓN 23
MEDIO PARA DERMATOFITOS 24
AGAR PATATA-ZANAHORIA BILIS DE BUEY 24
AGAR PATATA GLUCOSA 25
IDENTIFICACIÓN DE LOS HONGOS 25
IDENTIFICACIÓN DE LOS DERMATOFITOS 26
MICROSPORUM 26
TRICHOPHYTON 26
EPIDERMOPHYTON 26
ESPECIES DE DERMATOFITOS 27
MICROSPORUM CANIS 27
MICROSPORUM GYPSEUM 27

MICROSPORUM NANUM…… 27
TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES 27
TRICHOPHYTON RUBRUM…… 28
TRICHOPHYTON TONSURANS… 28
TRICHOPHYTON VERRUCOSUM 28
EPIDERMOPHYTON FLOCCOSUM 28
MATERIALES Y MÉTODOS 30
TECNICAS, MÉTODOS Y PROCEDIMIENTO 30
FASE PREANALÍTICA 31
FASE ANALÍTICA 31
FASE POSTANALÍTICA 32
PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS 32
RESULTADOS 33
DISCUSION 38
CONCLUSIONES 41
RECOMENDACIONES 42
BIBLIOGRAFIA 43
ANEXOS 46
ANEXO 1 47
ANEXO 2 48
ANEXO 3 49
ANEXO 4 50
ANEXO 5 51
ANEXO 6 52
ANEXO 7 53
ANEXO 8 54

Anexo 9 55
Anexo 10 69
Anexo 11 70
Anexo 12 71
Anexo 13 72
Anexo 14 73