

OBSERVACIONES SOBRE CHMELIA SLOVACA

DANTE BORELLI * CARMEN MARCANO **

1. LA CEPA RECIBIDA

Svobodová, Chmel y Bojanovská reportaron en 1966¹ haber aislado un moho de especie nueva desde lesiones pioverrugoides surgidas en la piel de la oreja de un hombre de sesenta años, quien había sufrido allí quemadura por vapor de agua. El aspecto histológico de la lesión parece haber sido indistinguible del de una cromomicosis, excepto porque los parásitos contenidos eran más bien claros, solitarios, continuos y medían 10-12 μ en diámetro.

Los cultivos dieron repetidamente colonias de un solo hongo claro que con el tiempo se oscurecía, crecía mejor a 22-25 grados centígrados que a 37, producía hifas toruloides, no producía conidias. Los autores pospusieron la sistematización taxonómica y la denominación de la nueva especie.

Poco después, en el mismo año, Svobodová publicó² un estudio más detallado, acompañado de un diagnóstico latino, para fundar el nuevo género *Chmelia*, en el cual colocó como especie tipo *Chmelia slovacica*, cuyo tipo era la cepa mencionada.

Este trabajo salió ilustrado con numerosos dibujos y fotografías. En una de éstas (N° 13) se reproduce el aspecto microscópico del hongo en las escamas. A nuestro juicio, no es posible reconocer allí agentes de cromomicosis; ni siquiera es posible reconocer con seguridad la presencia de hongos.

* Profesor titular en la Cátedra de Microbiología, Universidad Central de Venezuela (Jefe: Prof. Leopoldo Briceño-Iragorry).

** Dermatólogo especializado en Micología Médica.
Trabajo realizado en la Sección de Micología Médica del Instituto de Medicina Tropical (Director del Instituto: Prof. Félix Pifano C.), Universidad Central de Venezuela, Caracas. Apartado 8250.

En el mismo trabajo se afirma que "la patogenicidad del nuevo género ha sido probada por un experimento con embriones de pollo (Chmel, Svobodová, Ranincová, 1965; Koch, H. A., com. pers.) ". Al no aparecer indicadas referencias bibliográficas, suponemos que tales experimentos permanecen inéditos.

Nosotros llegamos a conocer la existencia de estos estudios solamente en 1968. Nos apresuramos a pedir a los autores subcultivos de la nueva especie, para familiarizarnos con ella. Recibimos en julio de 1968, por cortesía de la doctora Ivonne Svobodová-Koch, tres tubos de terreno agarizado, medio-secos, que contenían sendas colonias de color pardo-negro en el centro, color pardo-claro en la periferia, sin pigmento difusible. La superficie de las colonias era glabro-sedosa, plana, con leves levantamientos hacia el centro. Los tubos traían la etiqueta siguiente: "Mykologisches Labor Med. Akademie Erfurt Hautklinik. Gen. Chmelia spec. slovac f. Dematiaceae. Stamm Nr. BYS/61. Herkunft Chromomycosis. Dat. 2.5.68. Agar. Glue.". Al ser recibida en nuestro laboratorio, la cepa quedó registrada con el N° 6.840.

2. OBSERVACION DE LOS CULTIVOS

Al cortar con el clavo las colonias recibidas, no se encuentra resistencia alguna. Los repiques crecen rápidos, velludos, de un elegante color gris amarillentoverdoso.

El crecimiento es fuertemente retrasado en los medios con actidione 1/2000. La termofilia se estudió entre 8 y 39 grados, sobre terreno *sablac*. Ella puede expresarse como sigue: 8° + 11 ° + + 15° +++++ 23-28° +++ 30° ++ 33° + 35° - .

A 30 grados, el crecimiento es glabro, rosado en el anverso y en el reverso. Al microscopio se encuentra que el micelio de tales colonias (crecidas a 30 - 35°) es hialino y en gran parte de aspecto toruloide.

A 15 grados, el crecimiento es óptimo, húmedo y plegado, de color rosado-morado en la parte inferior del medio, morado-negro y velludo-gris en la parte superior, hacia el pico del tubo.

A 8 grados crece muy lentamente, semivelludo, con colonias rosadas o verde-oscuras.

La gelatina se encuentra casi enteramente licuada a los dos meses.

El cultivo en lámina ha producido a los dos meses micelio toruloide, ramificado, con raros ramúsculos toruloides, levantados. En agar peptoglucosado, esto fue todo. En *lactritmel* se han producido, además, delgadas hifas regulares que se originan en las exrrenlidades de las hifas toruloides. Muchas hifas regulares forman espirales concéntricas, planas.

Numerosas hifas aéreas que surgían en el centro de la colonia sobre agar peptoglucosado, presentaban membrana gruesa y parda por largos trechos: algo parecido a *Aureobasidium werneckii* o a *Au. pullulans*.

El cultivo en cápsula de 90 mm de diámetro, con 3 mm de terreno lactritmel, a los catorce días mide 52 mm de diámetro, habiendo crecido a 25 - 27 grados. La colonia forma un círculo regular cuyo anverso consta de una corona rasa, incolora, cérea, de 12 mm de ancho, y un centro aterciopelado de color gris, levantado en pliegues irregulares, de 35 mm de diámetro. Entre el centro y la corona periférica existe ima zona estrecha, suavemente rosada. La colonia despide olor a fermentación; pero las pruebas zimográficas correspondientes son negativas para esta cepa.

A los veinte días, la colonia snide 85 mm de diámetro: es de color gris humo al centro y plegada; una corona intermedia es gris-rojiza y aterciopelada; la corona periférica es glabra, de color crema a rosado pálido. No hay pigmento difusible y el olor se ha disipado.

3. PATOGENICIDAD EXPERIMENTAL EN EL RATON

Once ratones de 10 g promedio fueron inoculados en el peritoneo con 1 ml de suspensión salina de molido de cultivos de aproximadamente un mes de desarrollo sobre varios terrenos. Fueron sacrificados o murieron y se practicó examen directo del contenido de los nódulos abdominales y retrocultivo desde los mismos y desde pulmones y encéfalos, a los 7, 11, 11, 15, 20, 27, 35, 35, 35, 35 y 35 días. Se encontraron en casi todos los peritoneos pequeños nódulos ó discretas adherencias peritoneales. El contenido de los nódulos comprendía restos de inóculo inmodificado.

El retrocultivo tuvo éxito en los animales sacrificados en los primeros 20 días a partir de la inoculación. Se obtuvo crecimiento en los tubos sembrados con material peritoneal. En el ratón sacrificado una semana después de la inoculación existía el hongo también en los pul-

mones, puesto que creció en uno de dos tubos sembrados en trozos de estos órganos.

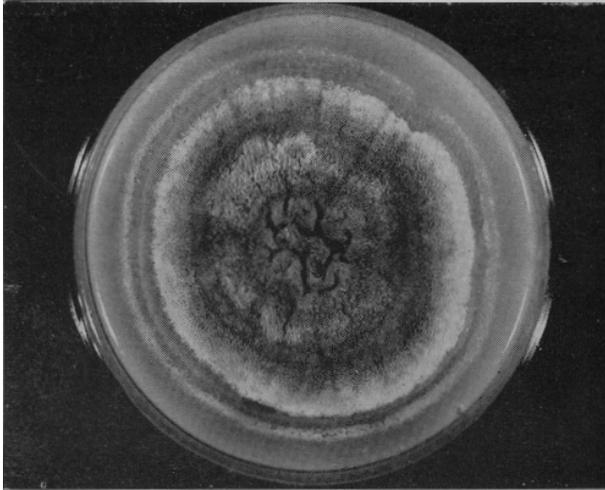


Fig. 1. Cultivo de *Chmelia slovaca* sobre lactritmel: veinte días de crecimiento a 25-27 °C

4. PATOGENICIDAD EXPERIMENTAL EN EL HOMBRE

Se prepara una suspensión salina densa de molido de cultivos varios de *Chmelia slovaca* 6840. Parte de la suspensión es sembrarla en terreno lactritmel, donde crece regularmente, y parte es inyectada en la piel de la cara extensoria de la rodilla de un hombre aparentemente sano, voluntario. Se inyecta en dos puntos, a 20 mm de distancia el uno del otro, 0,1 y 0,2 ml de la suspensión, respectivamente.

Inmediatamente después de la inyección, que resulta agudamente dolorosa, se observa eritema y edema alrededor de los puntos inyectados.

El día siguiente, en la región inyectada se halla constituida una placa inflamatoria de 12 cm de diámetro, la cual se va reduciendo con el pasar de los días. Mientras tanto, se hace evidente en su lugar un nódulo de 2-3 cm de diámetro, eritematoso, tenso y profundo. Este se perfora al octavo día, abriéndose en correspondencia del punto donde se había inyectado 0,2 ml de suspensión. Por el orificio salen 3-4 ml de material serocremoso, sanguinolento, en el cual -microscópica-

mente es visible parte del inóculo aparentemente inmodificado. Se siembran seis tubos de terreno *lactrimel* con parte del exudado.

Al undécimo día, en correspondencia del punto donde se inyectara 0,1 ml de suspensión, se aprecia fluctuación y se ve una diminuta hernia de la epidermis. En ocasión de una flexión de la rodilla, el nódulo revienta, bota aproximadamente 1,5 ml de pus sanguinolento, en el cual microscópicamente se ven restos del inóculo inmodificado. Se siembran siete tubos de terreno *lactrimel* con este material.

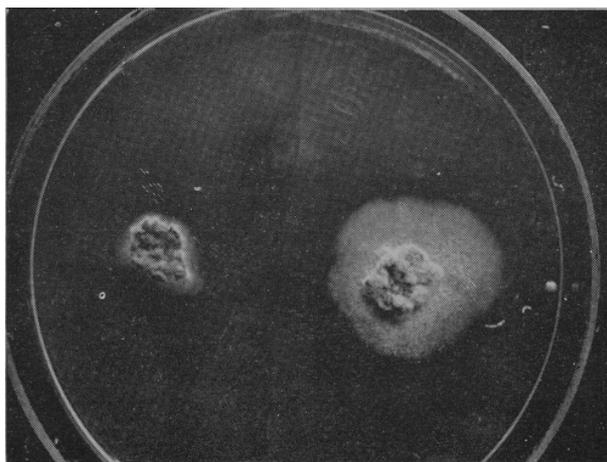


Fig. 2 Cultivo de *Chmelia slovacae* sobre azar peptoglicosado con cloranfenicol 1/4000 y actidiona 1/2000 (a la izquierda), y sobre agar peptoglicosado con cloranfenicol 1/4000, sin actidiona (a la derecha), veinte días de desarrollo a 25-27 °C. La suerte inhibición ejercida por la cicloheximida es evidente

Al decimocuarto día, la lesión tiene el aspecto de dos nódulos dérmicos juntos, pruriginosos, de 15 mm de diámetro cada uno.

El pus salido al octavo día dio retrocultivo positivo en tres de los seis tubos; los siete tubos sembrados con el pus eliminado el undécimo día permanecieron estériles.

A los cinco meses, los puntos inyectados, se distinguen de la piel cana circundante por ligera hiperchromía, suave depresión y menor espesor de la piel correspondiente.

En conclusión, la inyección de cultivos viables al derma de un hombre determinó inflamación flegmonosa aguda que evolucionó en dos semanas por abscedación, abertura y evacuación del cuerpo extraño y el exudado purulento. El hongo inoculado se extinguió en la piel humana entre el octavo y el undécimo día después de la inoculación.

5. COMENTARIOS

Hemos realizado algunas observaciones sobre las propiedades morfológicas, biológicas y patogenéticas de *Chmelia slovacca*. Hemos comprobado la impresión original de los fundadores: tratarse de una especie nueva. En particular, no es idéntica a ninguna especie de agentes de cromomiosis conocida: difiere por el color del micelio, que no es constantemente fuliginoso, por la capacidad de licuar rápidamente la gelatina, de la cual carecen los cromomicetos (como descubrió Montemayor en 1947³, y lo confirmó Fuentes en 1960)⁴

La termofilia de *Chmelia slovacca* es muy baja: su temperatura óptima está entre 15 y 25 grados y su temperatura máxima está entre 33 y 35 grados. Entre los cromomicetos que hemos estudiado, ninguno tiene termofilia tan baja, excepto las cepas de *Aureobasidium mansonii*, que Castellani aisló de tinea nigra, las cuales tienen a 28 grados su temperatura máxima, y *Aureobasidium salmonis* (Carmichael) Borelli, 1969, que fue aislado de cromomiosis cefálica de truchas tenidas a 14 - 16. grados, el cual también tiene su temperatura máxima de crecimiento *in vitro* a 28 grados⁵

En la inoculación al ratón y al hombre, *Chmelia slovacca* se ha comportado como un contaminante vulgar: en el ratón murió antes de cuatro semanas; en el hombre se extinguió en un tercio de ese tiempo; el inóculo no se modificó, al encontrarse en el cuerpo de mamíferos.

Conviene recordar que los agentes de cromomiosis inyectados en la dermis humana producen regularmente lesiones progresivas y típicas de cromomiosis; inoculados al peritoneo del ratón, se comportan según la termofilia específica: *Cladosporium carrionii* se extingue en el curso de meses; *Fonsecaea pedrosoi* subsiste por más de cinco meses y puede colonizar las extremidades; *Aureobasidium mansonii* subsiste por más de siete meses y puede crecer, formando micetoma; *Phialophora dermatitidis* crece y se modifica en el peritoneo, coloniza el encéfalo, produ-

tiendo en muchos casos la muerte del animal... *Chmelia slovacica* se extingue en diez o veinte días, respectivamente.

Prevedemos que habrá quien considere excesivamente limitados nuestros experimentos; alguien, sin duda, querrá adquirir experiencia directa. Nosotros consideramos que ulteriores ensayos -hechos por otros sobre- la patogenicidad de *Chmelia slovacica*, tendrán mayor valor probatorio. Por nuestra parte, no creemos oportuno seguir insistiendo, por ahora, ya que consideramos improbable que esta especie posea propiedades parasitarias para la especie humana.

En vista de esto, hemos pedido prestado a los autores checoslovacos el material histológico que pareció probar la presencia de hongos en las lesiones. Cabe la débil posibilidad de que se haya tratado de una micosis diferente de la cromomicosis. Hasta ahora no hemos recibido dicho material, cuyo estudio podría inducirnos a observar ulteriormente la cepa o a desecharla definitivamente.

6. RESUMEN

La cepa original es una dematiacca estéril que licúa la gelatina, y es morfológicamente diferente de los agentes de cromomicosis conocidos. Su temperatura óptima yace entre 15 y 25 grados y la máxima entre 33 y 35 grados. Inoculada al peritoneo de 11 ratones, dejó de existir a las tres semanas. Inoculada a la dermis de la rodilla de un hombre, produjo inflamación superativa aguda y se extinguió en 8 - 11 días. Los autores no han podido estudiar material patológico original; mientras tanto, ellos consideran improbable que *Chmelia sloveca* pueda producir cromomicosis.

7. SUMMARY

The original strain, as seen by the authors, is a sterile dematiaceous mold with ability for liquefying gelatin. Its optimal growing temperature lies between 15 °C and 25 °C; its maximal one lies between 33 °C and 35 °C. Its macro and microscopical forms are very different from those corresponding to the species known as agents of chromomycosis.

When injected peritoneally to white mice, *Chmelia slovacica* did not undergo any modification and became extinguished after 3 weeks. When injected intradermally to man, it became extinguished between 8 and 11 days, after producing an acute, suppurative, cutaneous inflammation.

Original pathological material could not be obtained for study by the authors, in whose opinion it is improbable that *Chmelza slovac* be shown some day as a true agent of chromomycosis.

REFERENCIAS

1. Svobodová, Y.; Chmel, L., & Bojanovská, A. "Neuer Erreger der Chromomykose festgestellt in der CSSR". *Dermat. Intern.*, 5 (2) 115-116; 1966.
2. Svobodová, Y. "*Chmelia slovac*, gen. nov., a dematiaceous fungus pathogenic for man and animals". *Biologia (Bratislava)*. 21 (2) 81-88 + 8 pp de figuras; 1966.
3. Montemayor, L. "Estudio de las propiedades biológicas de varias cepas de hongos patógenos causantes de la tftnotnicosis y de especies vecinas sanrofitas y patógenas". *Mycopath.*, 30, VIII; 1949; Vol. IV. 1949.
4. Fuentes, C. A., & Bosch, Z. E. "Biochemical differentiation of the etiological agents of chromoblastomycosis from non-pathogenic *Cladosporium* species". *J. Invest. Dermt.*, 34 (6) 419-421; 1960.
5. Borelli, D. "*Cromomycosis profunda visceral*". En curso de publicación *Medicina Cutánea (Barcelona)*, 1969.

RECONOCIMIENTO

A la doctora Ivonne Svobodová-Koch (Erfurt) damos las gracias por el envío de la cepa estudiada; a la casa Abbot (Kalamazoo), por el regalo de la actidiona empleada.