

CLADOSPORIUM CARRIONII EN VEGETACION XEROFILA: AISLAMIENTO EN UNA ZONA ENDEMICA PARA LA CROMOMICOSIS EN VENEZUELA

Dr. Nicole Richard-Yegres
Dr. Francisco Yegres

Centro de Investigaciones Biomédicas
Área Ciencias de la Salud,
Universidad Nacional Experimental Francisco
de Miranda Estado Falcón - Venezuela

INTRODUCCION

La existencia de las zonas endémicas para la Cromomicosis por *Cladosporium carrionii* en algunas zonas rurales bien delimitadas en Venezuela, Australia, Suráfrica y Madagascar, se relaciona con las actividades desarrolladas por los campesinos las cuales implican frecuentes traumatismos con restos de vegetación xerófila y la presencia del hongo en el medio ambiente. 1-2

C. carrionii es el cromomiceto responsable de un gran número de casos en Venezuela y el mundo, sin embargo, ese hongo sólo ha sido aislado del medio ambiente en Australia por Ridley en 1957.^{3,4}

El establecimiento del hábitat de *C. carrionii* es importante para poder diseñar estrategias racionales para controlar esta micosis en las áreas endémicas.

En este estudio se demuestra que *C. carrionii* está asociado con dos especies xerófitas muy abundantes en la zona semi-árida del Estado Falcón. Se sugiere una coincidencia entre el área colonizada por estas plantas y la zona endémica al noroeste de Venezuela.

MATERIALES Y METODOS

Se recolectaron 99 muestras de la biosfera de Sta. Rita (lat.: 11°21'N; Long.: 69°54' 0/Aprox.) en el Distrito Miranda, Estado Falcón (Tabla I). Esta localidad presenta: altitud 0-100m.,

RESUMEN

Se reporta el aislamiento de dos cepas de *Cladosporium carrionii* (SR 3 y SR13B) a partir de muestras plantas xerófilas: *Opuntia caribaea* (guazábara) y *Prosopis juliflora* (cují). Las cepas aisladas presentaron características morfológicas indistinguibles de *C. carrionii* aislado de lesiones humanas. Una cepa fue inoculada pero no produjo lesiones en 19 ratones ni en un voluntario. La incapacidad de licuar la gelatina en el género *Cladosporium* parece insuficiente como criterio de patogenicidad.

ABSTRACT

Two strains of *Cladosporium carrionii* (SR3 and SR13B) were isolated from xerophilous plants: *Opuntia caribaea* (guazábara) and *Prosopis juliflora* (cují). Both isolates exhibited indistinguishable morphological characteristics from those of *C. carrionii* of human origin. The strain SR 3 failed to produce lesions in mice and in a volunteer. The validity of the proof of proteolytic activity as pathogenicity criterion for the genus *Cladosporium* is discussed.

PALABRAS CLAVES: *Cladosporium carrionii*. Vegetación xerófila. Cromomicosis. *Opuntia caribaea*. *Prosopis juliflora*.

pluviometría 300 mm. y temperatura 28° C (promedios anuales). (Figura 1).

Procedimiento para el aislamiento: se trataron 49 muestras mediante la técnica de flotación en aceite mineral de Smith y Furcolow⁵ con algunas modificaciones: cada muestra fue colocada en una botella de dilución de 100 ml. en condiciones estériles, incubada a temperatura ambiente (28 a 30° C) por 30 minutos en 60 ml. de solución salina con 5 pg/ml. de cloranfenicol y 25 pg/ml. de cicloheximide. Se añadieron seguidamente 20 ml. de aceite mineral agitando vigorosamente la mezcla por 5 minutos. Después de una hora de incubación se recolectó la interfase aceite/solución salina y se sembraron 2 a 3 gotas en 2 placas de petri. Para el aislamiento del aire se expusieron 50 placas durante 15' a 1,50 mt. del suelo a las 11 am. Las placas se prepararon con 20 ml. de Mycosel por placa resguardándolas en guarda-placas de acero.

Todas las placas de petri se incubaron a temperatura ambiente durante 4 semanas en espera de la aparición de colonias oscuras.

Estudios de morfología microscópica: Para estos estudios se realizaron cultivos en lámina en 2 a 3 gotas de Saboraud dextrose agar SDA (BBL) al 1,5%.

Ensayo de proteolisis: La capacidad proteolítica fue comprobada en medio

de gelatina al 12°/o, incubando las cepas problemáticas y una cepa saprófita como control positivo, a temperatura ambiente por cuatro semanas, después de 10 minutos a 4° C se agitaron los

cultivos con el fin de comprobar la licreci-cuefacción del medio.

Termotolerancia: Los cultivos se sembraron en medio líquido en caldo-cerebro-corazón (BBL) y se incubaron

por 27 días a 32, 37 y 40°C. El crecimiento se cuantificó por turbidimetría en un colorímetro. Klett Summerson utilizando un filtro verde.

Cepas controles: Se tomó como control la cepa *C. carrionii* UNEFM/ 8201 aislada de lesiones de cromomicosis en paciente proveniente de la misma zona endémica y considerada por el Instituto de Medicina Tropical (IMT) de la Universidad Central de Venezuela como cepa normal y típica (Borelli: comunicación personal). Para el ensayo de proteólisis el control positivo fue la cepa *Cladosporium herbarum* UNEFM/8400.

Patogenicidad: estos estudios fueron realizados en el IMT por el Dr. Borelli.⁶

Un cultivo de *C. carrionii* SR 3 esporulado fue molido en solución salina en un mortero. Se inoculó 0,5 mL. de la suspensión en dos camadas de ratones recién nacidos de 8 y 11 animales respectivamente; los animales, fueron sacrificados entre los 45 y los 130 días. Se hicieron retrocultivos en los

RESULTADOS

TABLA 1
MUESTRAS RECOGIDAS EN LA ZONA ENDEMICA AL NOROESTE DE VENEZUELA

Origen de las muestras	Total	Colonias Dematiáceas	<i>C. carrionii</i>
<i>Opuntia caribaea</i> (guazábara)	7	4	SR 3
<i>Opuntia wentiana</i> (tuna)	3		
<i>Melocactus caesius</i> (buche)	2	1	
Total cactáceas	12		
<i>Prosopis juliflora</i> (cuji)	25	1	SR 13 B
Vegetación xerófila	6	1	
Suelo	4		
Varios	2		
Total	49	7	
Muestras del aire	50		

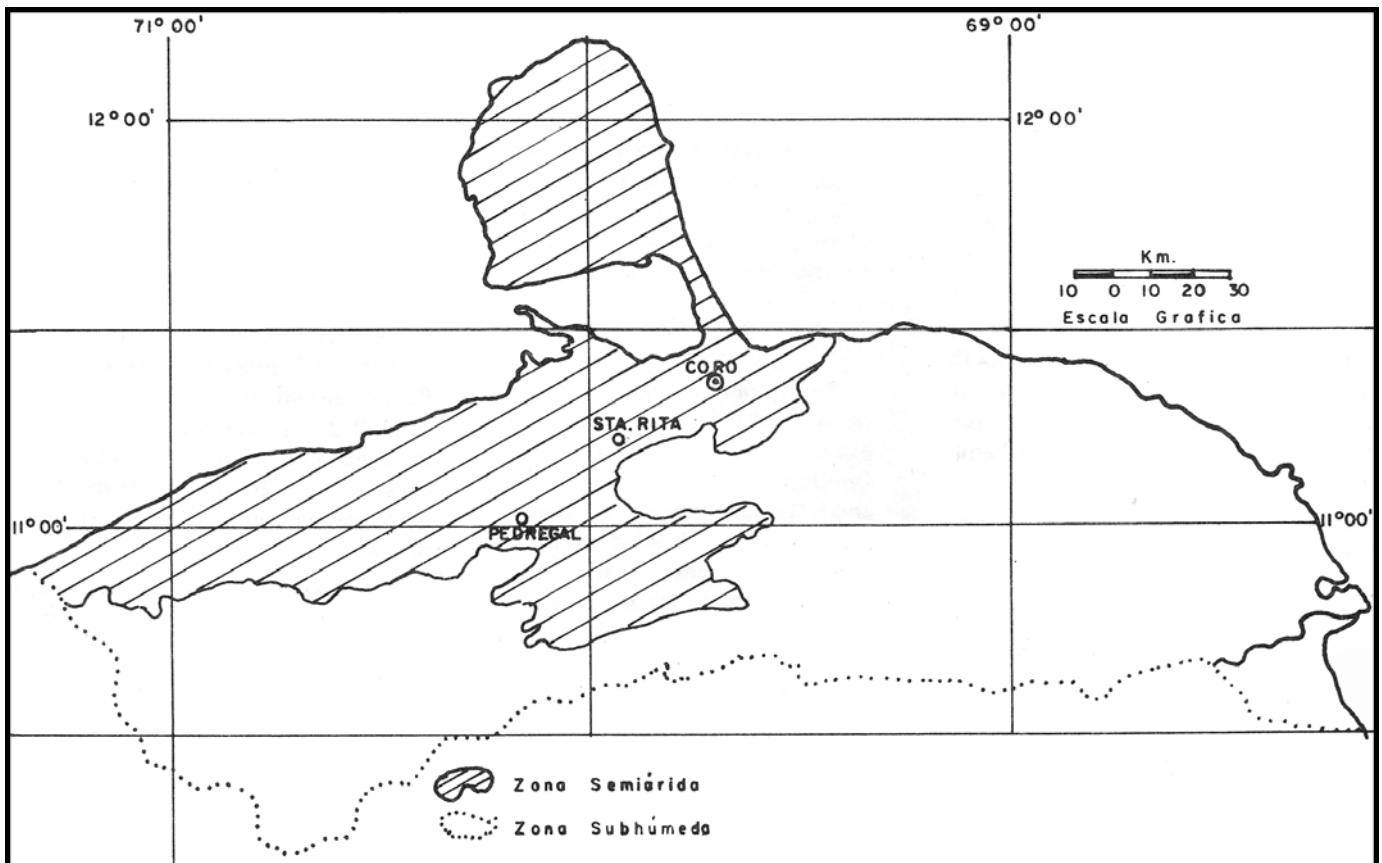


Fig. 1

ratones que presentaron nódulos abdominales.

Se inoculó 0,1 ml. de la suspensión en tres puntos de la dermis cara extensora rodilla derecha, de un voluntario.

RESULTADOS

7 hongos con características macroscópicas de los hongos dematiáceos se aislaron en muestras de vegetación xerófila; 2 de ellas resultaron morfológicamente indistinguibles de la cepa control de **C. carrionii**. La primera (SR3). provenía de una espina de **Opuntia caribaea** (guazábara) recogida del suelo cerca de un chivero y la otra (SR13B) se aisló de una astilla desprendida de una valla fabricada con troncos de **Prosopis juliflora** (cují).

El crecimiento de las cepas control, SR3 y SR13B fue máximo a 32°C, mínimo a 37°C y nulo a 40°C; no se apreció licuefacción de la gelatina al 12% después de 27 días.

La cepa SR3 no produjo lesiones en ninguno de los ratones inoculados. Se lograron retrocultivos positivos solamente de hígado y nódulos abdominales de un ratón sacrificado a los 130 días.

En el punto de inoculación, en el voluntario, se formaron pústulas dentro de amplia placa eritemato-edematosa, supuración abundante durante algunas semanas; supuración escasa con emisión de restos de inóculo durante algunos meses; cicatrización definitiva al año. Cultivo negativo desde las 2 semanas. No hubo modificación del inóculo a la forma parasitaria.

DISCUSION

En este trabajo se aíslan dos cepas de **C. carrionii**: la cepa SR 13 en una de las 25 muestras de **P. juliflora** y la cepa SR 3 en una de las 4 muestras de **O. caribaea**. En 5 de las 12 muestras de cactáceas se comprueba la presencia de hongos dematiáceos. Estos resultados corroboran las observaciones de O' Daly quien señaló que la guazábara podía estar relacionada con la transmisión de la enfermedad.⁸ El aislamiento de **C. carrionii** de una astilla de madera de **Eucalyptus crebra** y de un fragmento de tronco de **P. juliflora** confirma la presencia de los cromomicetos, sobre la madera.^{4,9}

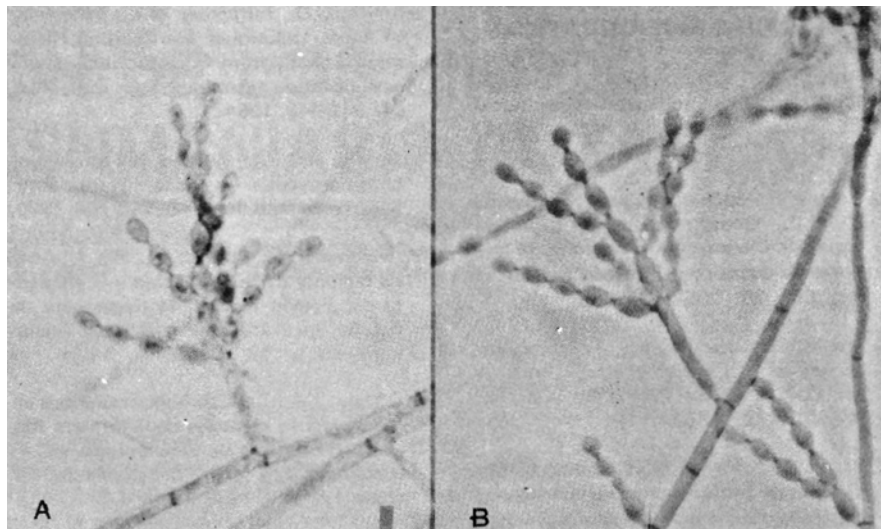


Fig. 2

Por primera vez se demuestra la asociación con plantas suculentas, como las cactáceas, abundantes en las zonas, secas del norte de Venezuela. Las anfractuosidades de la madera o la fuerte cutícula de las cactáceas pueden explicar la sobre vivencia de las esporas de estos hongos, considerados como delicados¹⁰ en las condiciones adversas de sequedad, alta temperatura e intensa radiación solar imperantes prácticamente todo el año en esta región tropical.

Se acepta que existe una relación entre la ausencia de poder proteolítico en gelatina y otras proteínas, como indicativo de la patogenicidad en el género **Cladosporium** desde que Montemayor señaló esta posibilidad.¹¹

Los resultados demuestran que este criterio debe ser revisado ya que la cepa SR 3 no produjo lesiones en el voluntario ni en los animales de experimentación a pesar de su incapacidad proteolítica en gelatina. Esta cepa debe ser estudiada en relación a los factores de patogenicidad en esta especie.

En **C. carrionii** las esporas no se desprenden tan fácilmente del conidióforo, como sucede en algunos hongos aerófilos, lo que explicaría la ausencia de colonias en las placas expuestas en la localidad estudiada. Se considera que el aire no es el medio principal de

diseminación. Algunos pacientes han manifestado las picadas de hormigas como origen de la lesión. Es necesario ampliar nuestros estudios en estos insectos y en algunos animales poiquilothermos, como lagartos e iguanas muy abundantes en la zona, como posible reservorio animal.

Recientemente se estableció en nuestro laboratorio un método más eficiente para el aislamiento de hongos dematiáceos del medio ambiente, mediante el cual se pudo comprobar la presencia de **C. carrionii** y **Phialophora verrucosa** en otra localidad de la zona semi-árida (trabajo en proceso de publicación).¹²

Los resultados demuestran que **C. carrionii** se encuentra asociado con dos especies xerófitas muy abundantes en la zona semi-árida sugiriendo una coincidencia entre el área colonizada por estas plantas y la zona endémica al noroeste de Venezuela.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Dante Borelli (Instituto de Medicina Tropical Universidad Central de Venezuela) por su colaboración y asesoramiento. Este estudio ha sido parcialmente financiado por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas CONICIT (Proyecto S1-1554).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Brygoo, E.R., Destombes, P.: Epidemiologie de la Chromoblastomycose humaine. Bull. Inst. Pasteur, 74: 219-243, 1976.
 2. Yegres, F., Richard-Yegres, N., Medina-Ruiz, E., González-Vivas, R.: Cromomycosis por *Cladosporium carrionii* en criadores de caprinos del Estado Falcón. Invest. Clin. 26: 235-246, 1985.
 3. Borelli, D.: Causal agents of chromoblastomycosis (Chromomycetes). Proc. V Int. Conf. Mycoses, PAHO. Sc. Publ. No. 396: 334-335, 1980.
 4. Ridley, M.F.: The natural habitat of *Cladosporium carrionii* a cause of chromoblastomycosis in man. Australia J. Derm. 4: 23-27, 1957.
 5. Smith, C.D., Furcolow, M.L.: Efficiency of three techniques for isolating *f-Listoplasma capsulatum* from soil including a new flotation technique. Lab. Clin. Med. 64: 342-348, 1964.
 6. Borelli, D.: A method for producing chromomycosis in mice. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 66: 793-794, 1972.
 7. Matteucci, S., Colman, A., Pla, I.: Análisis regional de la vegetación y el ambiente del Estado Falcón: la Vegetación de Falcón, Instituto Universitario de Tecnología, Coro. 118, 1979.
 8. O'Daly, J.A.: Las Cromoblastomycosis en Venezuela in memoria de la Primera Jornada Venezolana de Venereología y Dermatología, Lit. y Tip. del Comercio, Caracas, 121-145, 1943.
 9. Iwatsu, T., Miyaji, M., Okamoto, S.: Isolation of *Phialophora verrucosa* and *Fonsecaea pedrosoi* from nature in Japan. Mycopathologia. 75: 149-158, 1981.
 10. Borelli, D.: Cromomycosis: Diagnóstico y tratamiento in memoria XIII Jornadas Nacionales de Microbiología Soc. Venez. de Mic. Cap. Falcón. Coro, 60-79, 1983.
 11. Montemayor, L.: Estudio de las propiedades biológicas de varias cepas de hongos patógenos causantes de la Cromomycosis y de especies vecinas, saprófitas y patógenas. Mycophath. 4: 379-382, 1949.
 12. Yegres-Richard, N., Yegres, F.: Aislamiento de *Cladosporium carrionii* a partir de madera de *Prosopis juliflora* en la zona semi-árida de Falcón. XXXV. Conv. Anual AsoVAC, Mérida, Nov. 1985.
-