

# UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA - LABORATORIO CLINICO



*"Estudio de presencia de Corynebacterium Minutissimum en 100 Pacientes con lesiones Compatibles con Eritrasma referidos de la Consulta Dermatológica privada del Area Metropolitana de San Salvador."*

SEMINARIO DE GRADUACION PREVIO A LA OPCION  
DEL TITULO DE

Licenciado en Laboratorio Clínico

PRESENTADO POR:

María Magdalena Henríquez López  
Zandra Elizabeth Jiménez Urquilla  
Amada Gloria Mena Méndez

AGOSTO 1990



T  
616.51  
H519e

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA-LABORATORIO CLINICO

" ESTUDIO DE PRESENCIA DE CORYNEBACTERIUM MINUTISSIMUM  
EN 100 PACIENTES CON LESIONES COMPATIBLES CON ERITRAS-  
MA REFERIDOS DE LA CONSULTA DERMATOLOGICA PRIVADA DEL  
AREA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR. "

PRESENTADO POR:

MARIA MAGDALENA HENRIQUEZ LOPEZ  
ZANDRA ELIZABETH JIMENEZ URQUILLA  
AMADA GLORIA MENA MENDEZ

SEMINARIO PRESENTADO ANTE EL JURADO CALIFICADOR DE LA FA-  
CULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR EN SA-  
TISFACCION PARCIAL DE LOS REQUERIMIENTOS PREVIOS A LA OB-  
TENCION DEL TITULO DE:

LICENCIADO EN LABORATORIO CLINICO

DRA. LEONOR ISABEL MURILLO DE LINARES

ASESOR.

AGOSTO DE 1990



ASESOR

DRA. LEONOR ISABEL MURILLO DE LINARES

JURADO CALIFICADOR

DRA. CONCEPCION DE BENDIX

LIC. ALBERTO ARGUETA

T.M. VICTOR BARAHONA



LUGAR DE PRACTICAS

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

LABORATORIO CLINICO PATOLOGICO LINARES.

## AGRADECIMIENTO

- En especial a la Dra. Leonor Isabel M. de Linares, por la generosa colaboración que nos brindó como asesor, para la realización de este seminario.
- A la Dra. Ernestina de Chica y Lic. Gilda Haydeé L. de Chávez, por la cooperación brindada en la recolección de las muestras.
- A la Lic. Mabel de Peña por su desinteresada colaboración.
- A todas las personas que en una u otra forma nos colaboraron con el presente trabajo.

## DEDICATORIA

### CON TODO MI AMOR

- A DIOS NUESTRO SEÑOR : Porque siempre me ha respondido y su amor es eterno.
- A MIS PADRES : Jorge Alberto Jiménez y Yolanda Urquilla de Jiménez, por todo su amor y sacrificio.
- A MI ESPOSO : Vicente Alberto Fuentes por su amor y apoyo.
- A MIS HIJOS : Sandrita María  
Jorge Alberto  
Astrid Elizabeth  
por ser los angeles que guían mis pasos.
- A MIS HERMANOS : Ivette, Reyna y Walter,  
por estar siempre a mi lado
- A MIS AMIGOS : Por su cariño sincero

## DEDICATORIA

A DIOS NUESTRO SEÑOR : Por haberme permitido realizar mi ideal.

A MIS PADRES : Jorge Arturo Mena y Consuelo Méndez de Mena con especial cariño y agradecimiento por sus esfuerzos y sacrificios.

A MI ESPOSO : José Ricardo Baires Morataya,  
Con amor por su comprensión y apoyo

A MIS HIJAS : Gloria Eugenia  
Amada Beatriz  
con amor

A MIS HERMANOS : Con profundo cariño.

AMADA GLORIA

DEDICATORIA

A DIOS TODOPODEROSO :Por haberme permitido realiz  
mis estudios.

A MIS PADRES :Antonio Henrìquez y Josefa  
Lòpez de Henrìquez.  
Con especial cariño y  
agradecimiento por sus  
esfuerzos y comprensiòn.

A MI ESPOSO :Julio Alberto Orellana Fuent  
Con todo cariño por su apoyo

A MIS HIJOS :Con amor.

A MIS HERMANOS, FAMILIARES

Y AMIGOS :Con cariño y respeto.

MARIA MAGDALENA

## I N D I C E

	Pag. No.
RESUMEN .....	i
INTRODUCCION .....	1
JUSTIFICACION .....	5
OBJETIVOS .....	6
MATERIALES Y METODOS .....	7
RESULTADOS .....	14
CUADROS .....	17
GRAFICAS .....	23
DISCUSION .....	25
CONCLUSIONES .....	29
ANEXOS .....	30
APENDICE .....	31
BIBLIOGRAFIA.....	41

## RESUMEN

Se realizó la investigación de Corynebacterium minutissimum en muestras de raspado de piel de 100 pacientes remitidos con el diagnóstico clínico de Eri<sub>tr</sub>asma. Se estudiaron también como grupo control 25 personas sanas a las cuales se les tomó muestras de los espacios interdigitales entre el III, IV y V dedos de los pies. Una parte de la muestra fue estudiada por examen al fresco con KOH al 40%. El material digerido fue lavado de la lámina con solución salina estéril y centrifugado. Con el sedimento se prepararon frotis que se tiñeron por Gram, Giemsa y Kinyoun, buscando filamentos de morfología compatible con C. minutissimum. La muestra restante fue inoculada en caldo de carne glicerinado con furoxona. Los tubos con crecimiento fueron subcultivados en agar carne glicerinado con furoxona. Las colonias obtenidas fueron identificadas por las pruebas de Catalasa, Termorresistencia a 43°C, H<sub>2</sub>S en tira de acetato de Plomo, Citrato, Indol, Rojo de Metilo, Movilidad, Hidrólisis de la gelatina y Reducción de Nitratos a Nitritos. C. minutissimum fue observado al examen directo en 43 casos (43%) y de estos, 23 casos (23%) fueron confirmados por cultivo; en 6 casos se presentó combinado con levaduras e hifas. Los 57 restantes resultaron negativos. En el grupo control se obtuvieron 2 casos (8%) positivos. Las lesiones se observaron con mayor frecuencia en las áreas inguinocrurales y axilares. Y más frecuente en mujeres que en hombres. De los resultados obtenidos se comprobó que el examen directo es más sensible que el cultivo para demostrar a C. minutissimum en el laboratorio. Y que el cultivo en caldo de carne glicerinado es un método selectivo para su aislamiento. Aunque en El Salvador la consulta dermatológica es poco frecuente en relación a esta dermatosis, se confirmó la existencia de C. minutissimum como causa

## INTRODUCCION

EL ERITRASMA, es una infección bacteriana, común de las zonas intertriginosas especialmente de las axilas, pliegues genitocrurales, espacios interdigitales, entre el IV y V dedos de los pies y menos comunmente entre el III y IV dedos, puede observarse en los pliegues interglúteos y submamaros, como también en las uñas. (1, 5, 6, 7, 8, 9, 17, 21 ).

Se caracteriza por producir lesiones rosadas a rojo marrón que confluyen en placas mayores bien delimitadas. La superficie de la lesión es lisa y por la sudoración se produce inflamación; por la acción de rascado se produce una reacción escamosa. En algunos casos se presenta en forma de escamas laminares, secas y parduzcas. Las lesiones son asintomáticas excepto en casos eczematizados en los que puede haber cierto grado de prurito y ardor. (5, 6, 7, 9, 10, 11, 16, 19, 22 ).

Las zonas afectadas muestran una fluorescencia rojo coral con la lámpara de Wood, debido a la presencia de porfirinas, que son sustancias fluorescentes producidas por el agente etiológico. ( 1, 7, 9, 11, 13, 14, 16, 17, 19, 22).

Se ha visto que los pacientes con eritrasma intenso padecen con frecuencia de Diabetes Mellitus u otras enfermedades debilitantes . (4, 5, 6, 7, 11 ).

Afecta tanto a hombres como a mujeres, preferentemente al sexo masculino. Se ha demostrado que la bacteria causante de eritrasma forma parte de la flora normal de los pliegues interdigitales de los pies, tanto en pers

## ANTECEDENTES

Esta enfermedad fue descrita por Buchard en 1859 (10, 16) y el término eritrasma fue usado por Bahrensprung en 1862 (22).

Los estratos escamosos de la piel examinados por estos autores mostraban delicados filamentos los cuales parecían ser de origen micótico.

El organismo aislado de las lesiones fue denominado Microsporum minutissimum, en 1889. La transmisión natural de la enfermedad fue demostrado por Kobner quien en 1884 fue capaz de transmitir la enfermedad por inoculación de escamas de un paciente en la piel de otro. (22).

Los primeros investigadores no aceptaron como entidad separada la enfermedad. Se creía que era una variación de pitiriasis versicolor, una infección por dermatofitos, o un eczema marginado. Hubo una asociación temprana de la enfermedad con hiperhidrosis y Poehlman en 1928, hizo énfasis en que la piel delicada, la humedad del sitio y las secreciones son factores que predisponen a la enfermedad. (6, 10, 11, 19, 22).

Aunque el eritrasma es causado por un bacilo gram positivo delicado, puede asociarse con enfermedades bacterianas y micóticas, como fue enfatizado por Gougerot en 1936. El agente etiológico ha recibido varios nombres de bacterias y de hongos. En 1907 fue denominada Discomyces minutissimum por Verdum. En 1913 fue descrito nuevamente por Castelli y Charman y se le designó Nocardia minutissima. En 1911 Ridet le llamó Oospora minutissima y en 1961 fue clasificado por Sarkany, Taplin y Blanck como Corynebacterium minutissimum (7, 20, 22 ).

## AGENTE ETIOLOGICO

C. minutissimum es una bacteria filamentososa, de aspecto difteroide en forma de bastón, Gram positiva, aeróbica, no esporulada, ácido resistente, inmóvil. Los filamentos miden 70 micras o más de largo y de 0.6 a 1.0 micras de ancho. (2, 3, 7, 8, 12, 14, 16, 17, 20, 22).

Los bacilos presentan dilataciones irregulares características en uno de sus polos, los cuales le dan la apariencia de masa; en su interior presenta gránulos que se tiñen intensamente. Tienden al pleomorfismo en sus formas microscópicas y coloniales, muchas veces se fragmentan en forma bacilares a cocoides y van perdiendo la ácido resistencia a medida que se van subcultivando. (20). La ácido resistencia de *Corynebacterium* que la relaciona con las mycobacterias está dada por los componentes que posee en la estructura de su pared celular llamado ácido micólico; el largo de la cadena de este ácido varía en el número de átomos de carbono que posee variando así de ácido resistente a parcialmente ácido resistente. (3).

C. minutissimum en cultivo de caldo glicerinado forma una película seca que se refleja en la pared interna del tubo; en el fondo se observa ligera turbidez y sedimento.

En frotis teñidos por la coloración de Kinyoun se observan estructuras ácido resistentes. Con la coloración de Gram se observan cocobacilos Gram positivos. Demuestra su característica de termorresistencia a 43° C. La prueba de la catalasa es positiva. No produce H<sub>2</sub>S en el medio de TSI, pero si lo produce en el medio de TSI con tira de acetato de plomo suspendida

sobre su bisel. En placas de agar glicerinado con furoxona la colonia alcanza un diámetro de 3 a 4 mm al final de 5 días a 37° C, es de color blanco sucio amarillento, translúcida, con una periferia plana y zona central ligeramente elevada y granular, su superficie es húmeda y brillante . ( 11, 20, 22 ).



## JUSTIFICACION

Hacer énfasis en el gremio de salud que C. minutissimum es la bacteria causante de eritrasma ya que por mucho tiempo esta enfermedad ha sido relacionada con otros agentes etiológicos.

Debido a los pocos estudios realizados sobre el problema de eritrasma en el mundo y en particular en nuestro país y al interés de los dermatólogos en diferenciar esta lesión de otras similares producidas por hongos u otros agentes, hemos visto la necesidad de realizar este trabajo de investigación, el cual simplifica por métodos de laboratorio la demostración de C. minutissimum en muestras obtenidas de pacientes con dichas dermatosis.



En entrevistas hechas a dermatólogos, éstos manifiestan la importancia de aislar esta bacteria debido a que por medio de la lámpara de Wood muchas veces no puede precisarse el diagnóstico ya que muchos pacientes se han automedicado con corticosteroides u otros medicamentos que interfieren con la luz ultravioleta. También algunos dermatólogos no cuentan con las condiciones necesarias para poder diagnosticar por medio de la lámpara de Wood.

En este estudio se incluyó muestras de portadores asintomáticos y de pacientes con lesiones clásicas de eritrasma.

## OBJETIVOS

1. Demostrar por examen microscópico directo, aislar e identificar por medio de cultivo la bacteria Corynebacterium minutissimum en muestras de raspado de piel de pacientes con lesiones de Eritrasma y en portadores asintomáticos.
2. Determinar la frecuencia con que se aísla Corynebacterium minutissimum y otros microorganismos como dermatofitos y levaduras, de lesiones clínicamente diagnosticadas como Eritrasma.
- 
3. Evaluar el examen directo con KOH al 40% y coloraciones de Gram, Giemsa, y Kinyoun y el cultivo en medios de carne glicerinado con furoxona para el diagnóstico bacteriológico de Corynebacterium minutissimum.

## MATERIALES Y METODOS

### 1. Población Estudiada

Este estudio se realizó en San Salvador, en pacientes referidos por médicos dermatólogos, endocrinólogos y ginecólogos.

Se estudiaron 100 muestras de pacientes con lesiones en pliegues inguinocrurales, axilas, pliegues submamaros y uñas, diagnosticadas como eritema.

Se incluyeron jóvenes y adultos de ambos sexos. Se anotó el nombre, edad, sexo, registros, nombre del médico que lo refiere, dirección y teléfono, diagnóstico, tratamiento, localización de la lesión; todos estos datos se anotaron en un formulario que se adjunta. (Pág 11). Además se estudiaron 25 personas sanas seleccionadas al azar de las cuales se obtuvieron las muestras de los espacios interdigitales entre el III, IV, y V dedos de los pies.

### 2. Clasificación de la Muestra

- a) Axilar
- b) Submamaria
- c) Inguinocrural
- d) Espacios Interdigitales
- e) Uñas.

### 3. Obtención de la Muestra

Las muestras se obtuvieron limpiando previamente el área afectada con algodón impregnado en alcohol al 70% dejando secar y luego raspando las lesiones con un bisturí estéril. El material se colocó entre dos láminas de vidrio y se trasladó al laboratorio para su estudio.

### 4. Estudio de las Muestras

Las muestras fueron estudiadas siguiendo los pasos especificados en el cuadro 1, los que a continuación se explican..

#### a) EXAMEN MICROSCOPICO DIRECTO.



Con una parte del material obtenido del raspado procedimos a realizar un examen directo con KOH al 40% entre lámina y laminilla sin calentar, dejándolo reposar por 20 a 30 minutos. Luego se observó al microscopio investigando elementos levaduriformes e hifas; después de este examen el material se lavó en una caja de petri con solución salina normal estéril. Se pasó este material a un tubo cónico, centrifugándolo por 10 minutos a 2500 RPM; del sedimento se hicieron frotis que se colorearon por Gram, Giemsa y Kinyoun los cuales se estudiaron microscópicamente con el objetivo de inmersión, buscando filamentos ácido resistentes.

#### b) CULTIVO

##### 1b - Aislamiento

La otra parte del material obtenido del raspado, se inoculó en caldo

de carne glicerinado con furoxona, dispersando el inóculo por agitación y se incubó por 24 a 48 horas a 37°C. El crecimiento se detectó por la formación de una delgada capa blanquecina en la superficie del caldo, además de observar una ligera turbidez en el caldo; procediendo luego a realizar frotis para coloración de Gram, Giemsa y Kinyoun. Si la morfología del microorganismo correspondía a filamentos cortos ácido resistentes se procedió a subcultivar en placas de agar carne glicerinado con furoxona, las cuales se incubaron a 37°C por 3 a 4 días.

El medio fue preparado a partir de un sustrato natural, carne de la mejor calidad de ganado vacuno, la cual fue hervida por media hora y luego filtrada. Al caldo ya filtrado se le agregó 5% de glucosa, 5% de glicerol, se dispensó en frascos de vidrio en volúmenes de 100 mililitros y se esterilizó a 15 libras de presión, por 15 minutos. A los medios ya esterilizados se les añadió furoxona disuelta en propilenglicol en concentraciones de 5 microgramos por mililitro, luego se guardó en refrigeración.

Para el aislamiento y mejor estudio de las bacterias; el crecimiento, en el medio líquido, se subcultivó a agar carne glicerinado con furoxona para obtener colonias aisladas.

## 2b - Identificación.

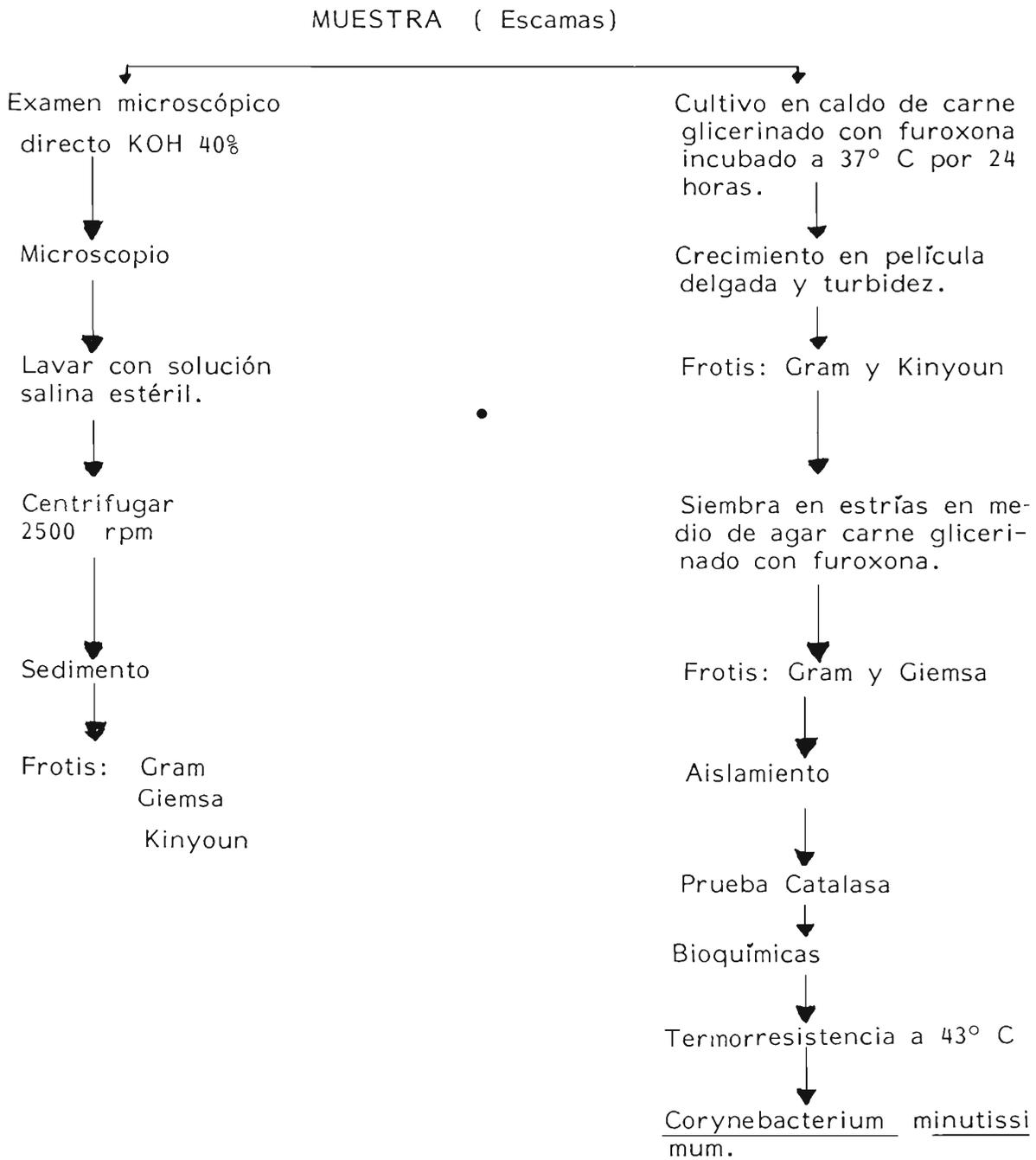
Después del período de incubación, las placas fueron observadas buscando colonias finas de aspecto liso, translúcidas, de color amarillento, típicas de C. minutissimum; a las cuales se le realizó frotis para la colo-

ración de Gram, Giemsa y Kinyoun, para confirmar la presencia de bacilos cortos ácido resistentes. Luego se le realizó la prueba de la catalasa en lámina porta objeto, emulsificando una porción de las colonias, - obteniendo una reacción positiva que se manifestó por un burbujeo. A continuación se realizaron las pruebas bioquímicas siguientes: TSI con tira de acetato de plomo suspendida sobre el bisel para investigar producción de  $H_2S$ , Indol, Rojo de metilo, movilidad, Urea, Hidrólisis de la gelatina, Citrato, Reducción de Nitratos; incubándolos de 24 a 48 horas a  $37^\circ C$ . También incubamos una muestras a  $43^\circ C$  para comprobar su termorresistencia . Dichas pruebas se detallan en el apéndice .

Estas pruebas nos llevaron a la identificación final de C. minutissimum, cuyas características se presentan •en el cuadro 2.

C U A D R O 1

Esquema de los pasos seguidos para identificar Corynebacterium minutissimum.



C U A D R O 2

Características para identificar Corynebacterium minutissimum

Coloraciones	Resultados
Gram	Cocobacilos Gram Positivos
Giemsa	Filamentos Cortos
Kinyoun	Filamentos Cortos Acido-Resistentes ó bacilos cortos Acido - Resistentes.
Prueba Catalasa	Positiva
Bioquímicas	Resultados.
H <sub>2</sub> S en TSI	(-)
H <sub>2</sub> S en TSI con tira de acetato de Plomo	• +
Citrato	-
Indol	-
Urea	-
Rojo de Metilo	+
Movilidad	-
Hidrólisis de la gelatina	-
Reducción Nitratos a Nitritos	+
Prueba de Termorresistencia a 43° C.	+

INVESTIGACION DE ERITRASMA

Fecha: \_\_\_\_\_ Registro: \_\_\_\_\_

Nombre del Paciente: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ No.de Archivo: \_\_\_\_\_

Hospital o Clínica: \_\_\_\_\_

Médico que lo refiere: \_\_\_\_\_

Diagnóstico: \_\_\_\_\_

Tratamiento Previo: \_\_\_\_\_

Localización y Descripción de la Lesión:  
\_\_\_\_\_

Examen Directo KOH 40 %: \_\_\_\_\_ • \_\_\_\_\_

Frotis Gram: \_\_\_\_\_

Frotis Giemsa: \_\_\_\_\_

Frotis Kinyoun: \_\_\_\_\_

Cultivo: Caldo de carne Glicerinado con Furoxona: \_\_\_\_\_

Cultivo Agar de Carne Glicerinado con Furoxona: \_\_\_\_\_

Pruebas Especiales: \_\_\_\_\_

Bacteria Aislada: \_\_\_\_\_

## RESULTADOS

Se estudiaron 125 muestras, de las cuales 100 eran de pacientes con lesiones compatibles con eritrasma y 25 de personas sanas tomadas al azar en quienes se investigó el estado de portador.

De los 100 casos estudiados con diagnóstico de eritrasma, 79 (79%) pacientes fueron del sexo femenino y 21 (21%) del sexo masculino. Sus edades oscilaban entre 6 a 80 años, la mayoría estuvieron comprendidos entre 30 y 50 años (55%) como se observa en la tabla 3.

Se obtuvo un total de 43 (43%) casos positivos a C. minutissimum cuya distribución de acuerdo a las edades se presenta en tabla 4. La mayoría tenían de 31 a 50 años (53%); 16.3% tenían de 6 a 30 años y 30.2% de 51 a 80 años. Los casos positivos fueron también en su mayoría del sexo femenino.

La prevalencia de casos de eritrasma comprobados por exámenes de laboratorio en las 79 mujeres examinadas fué de 45.5% y en los hombres del 33.3%, como se puede observar en la tabla 4.

En el cuadro 5 y gráfica 1 se puede apreciar la procedencia anatómica de las lesiones estudiadas para investigar eritrasma. La región inguinocrural fué la que presentó con mayor frecuencia lesiones sospechosas clínicamente de eritrasma; 74 de los pacientes estudiados consultaron por sintomatología en esa área anatómica y los resultados fueron positivos en 33 (76.7%) de ellos.

El área axilar siguió en frecuencia, 12 pacientes de los cuales 5 (11.6%) fueron positivos.

Con menor frecuencia se refirieron pacientes con lesiones en pliegues submamarios, interdigitales, cuello, glúteos. También se estudiaron 3 pacientes con lesiones de las uñas de los pies de los cuales, 1 (2.3%) resultó positivo.

Los resultados de laboratorio realizados a los 100 pacientes compatibles con eritrasma se presentan en tabla 6. Los 43 pacientes con C. minutissimum fueron positivos al examen directo, de ellos 23 fueron también positivos al cultivo y 20 resultaron negativos a este último examen. Todos los 57 pacientes negativos al examen directo, lo fueron también al cultivo. Dado que el material para el examen directo fue digerido con KOH al 40%, antes de examinarlos con Kinyoun, hubo la oportunidad de investigar la presencia de estructuras de hongos en las muestras, y en el cuadro 7 y gráfica 2 se pueden ver las combinaciones de microorganismos obtenidos. De los 23 casos positivos a C. minutissimum al directo y al cultivo, se observaron en 5 de ellos levaduras e hifas y en 1, sólo levaduras. De los 20 casos positivos sólo al examen directo, uno de ellos presentó levaduras e hifas y otro caso sólo presentó hifas. De los 57 negativos restantes, 9 presentaron levaduras e hifas y 6 sólo hifas. Es necesario aclarar que no se hicieron cultivos para hongos.

El grupo control incluyó 25 personas sin lesiones, quienes fueron muestreados de los espacios interdigitales del III, IV, V, dedos de los pies. Este grupo incluyó personas de ambos sexos cuyas edades oscilaban entre

los 18 a 68 años con predominio del sexo femenino. Los resultados de este grupo pueden observarse en tabla 8. De ellos sólo 2 fueron positivos a C. minutissimum, 1 fue positivo al examen directo y al cultivo y el otro sólo al examen directo. Este último presentaba también levaduras e hifas. Dos de los casos negativos a C. minutissimum, presentaron levaduras e hifas.

El medio utilizado fue preparado en el laboratorio según la formulación proporcionada por la Licenciada Dominga Ayala de Chavarría, de acuerdo a lo recomendado por los Laboratorios de los Doctores Pablo y Ricardo Negroni de la República de Argentina.(20)

Los medios utilizados resultaron fáciles de preparar y permitieron el crecimiento rápido de C. minutissimum, el cual formó colonias puntiformes, translúcidas, bastante características. Ambos medios fueron bastante selectivos para C. minutissimum, interfiriendo con el crecimiento de otras bacterias que usualmente contaminan los medios de cultivo, con excepción de algunas cepas de estafilococo que fueron las que dieron problemas de sobrecrecimiento, impidiendo el aislamiento de C. minutissimum. El proceso de identificación de dicha bacteria fue posible de realizar en el laboratorio, resultó económico y a la vez práctico.

DISTRIBUCION DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS SEGUN EDAD Y SEXO

EDAD	FEMENINOS	MASCULINOS	TOTAL	%
6 - 10	1	1	2	21
11-20	3	2	5	
21-30	12	2	14	
31-40	26	7	33	55
41-50	17	• 5	22	
51-60	9	3	12	
61-70	9	1	10	24
71-80	2	0	2	
T O T A L	79 (79%)	21 (21%)	100	100

SEGUN EDAD Y SEXO.

EDAD	FEMENINOS	MASCULINOS	TOTAL	%
6 - 10	1	-	1	16.3
11 - 20	-	1	1	
21 - 30	5	-	5	53.5
31 - 40	14	1	15	
41 - 50	6	2	8	30.2
51 - 60	5	2	7	
61 - 70	4	1	5	100
71 - 80	1	-	1	
T O T A L	36 ( 45.5%)	7 ( 33.3%)	43	

ZONAS AFECTADAS DE LAS CUALES SE OBTUVIERON LAS MUESTRAS PARA ESTE ESTUDIO.

ZONA AFECTADA	No. DE MUESTRAS	No. POSITIVOS	%
Inguinocrural	74	33	76.7
Axilar	12	5	11.6
Espacios Interdig.	5	3	7.0
Submamaria	3	1	2.3
Cuello	2	0	-
Uñas de los pies	3	1	2.3
Glúteos	1	-	-
T O T A L	100	43	100

T A B L A 6

RESULTADO DE LAS 43 MUESTRAS POSITIVAS A CORYNEBACTERIUM  
MINUTISSIMUM EN 100 MUESTRAS DE PACIENTES COMPATIBLES CON  
ERYTRASMA.

	EXAMEN DIRECTO	
	POSITIVO	NEGATIVO
CULTIVO	23	0
• Positivo		
Negativo	20	57
T O T A L	43	57

T A B L A 7

MICROORGANISMOS INVESTIGADOS EN 100 MUESTRAS DE PACIENTES  
CON LESIONES CUTANEAS.

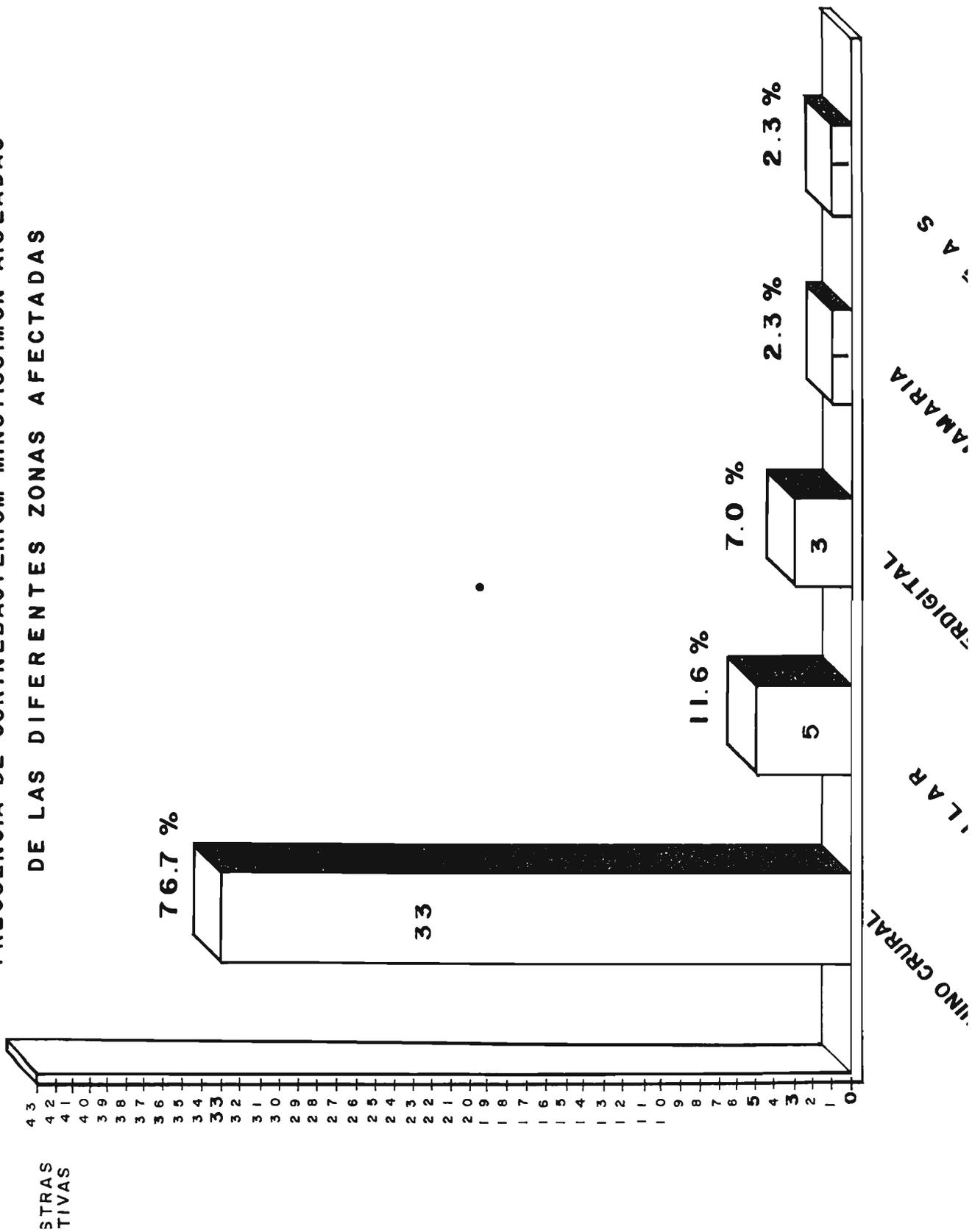
MICROORGANISMOS	TOTAL	PORCENTAJE
Corynebacterium minutissimum POSITIVO al directo y cultivo	17	23 %
Corynebacterium minutissimum Positivo al directo y cultivo más levaduras e hifas.	5	
Corynebacterium minutissimum Positivo al directo y cultivo más hifas	1	
Corynebacterium minutissimum POSITIVO sólo al directo	18	20 %
Corynebacterium minutissimum POSITIVO sólo al directo más hifas. •	1	
Corynebacterium minutissimum POSITIVO sólo al directo más levaduras e hifas.	1	
Corynebacterium minutissimum POSITIVO sólo el cultivo.	0	
Levaduras e Hifas	9	57 %
Hifas.	6	
Negativos a Corynebacterium minutissimum	42	

T A B L A

RESULTADOS OBTENIDOS DE LAS 25 MUESTRAS ANALIZADAS DE PERSONAS IDENTIFICADAS  
COMO PORTADORES.

EDAD	MASCULINOS	FEMENINOS	POSITIVOS A C. minut. Direc- to y Cultivo.	POSIT. C. minut. Directo más Levad. e Hifas	POSIT. Directo sólo a Levad. e Hifas.	NEGAT.
18-28	1	6	0	0	1	6
29-38	2	13	1	0	1	13
39 - 48	0	2	0	1	0	1
49 - 58	0	0	0	0	0	0
59 - 68	1	0	0	0	0	1
T O T A L	4	21	1	1	2	21

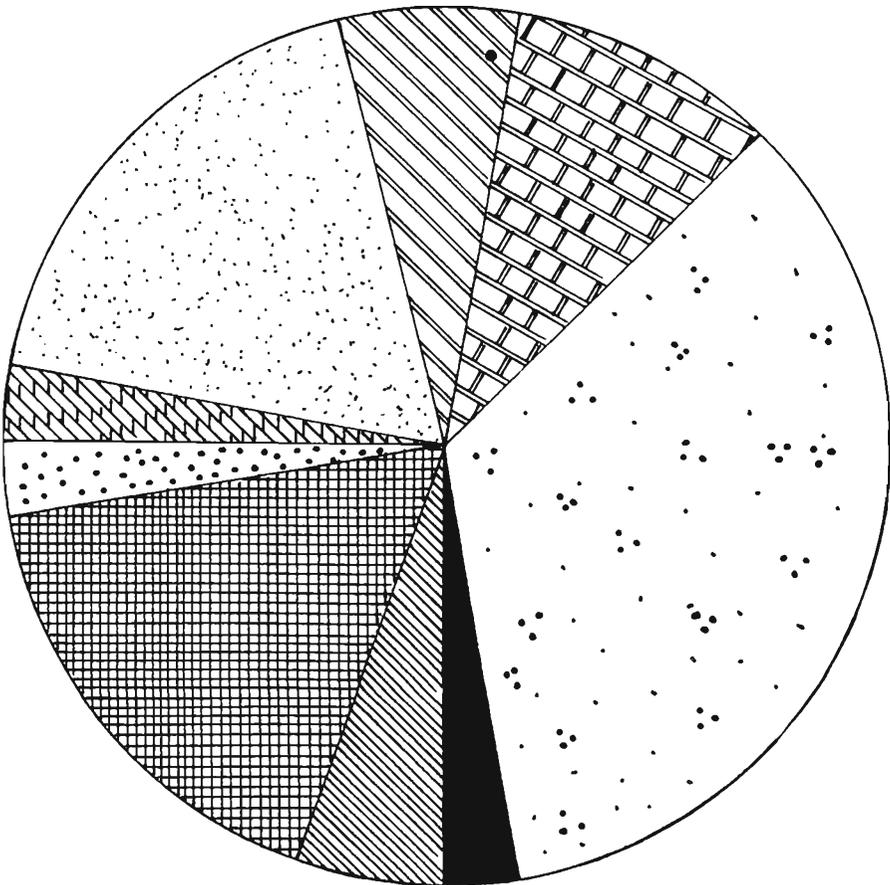
FRECUENCIA DE CORYNEBACTERIUM MINUTISSIMUM AISLADAS DE LAS DIFERENTES ZONAS AFECTADAS



STRAS TIVAS

MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN 100 MUESTRAS ESTUDIADAS

C L A V E	CORYNEBACTERIUM MINUTISSIMUM POSITIVO DIRECTO Y CULTIVO	No. CASOS
	C. MINUTISSIMUM + HIFAS	1
=	C. MINUTISSIMUM + HIFAS Y LEVADURAS.	5
=	C. MINUTISSIMUM	17
	CORYNEBACTERIUM MINUTISSIMUM POSITIVO SOLO DIRECTO	
	C. MINUTISSIMUM + HIFAS Y LEVADURAS.	1
=	C. MINUTISSIMUM + HIFAS	1
=	C. MINUTISSIMUM	18
	NEGATIVOS A C. MINUTISSIMUM	
	HIFAS	6
=	LEVADURAS + HIFAS	9
=	NO MICROORGANISMOS	42



## DISCUSION

Los resultados obtenidos en este estudio, comprueban la existencia de eritrasma en El Salvador ya que de los 100 casos enviados al laboratorio con sospecha clínica, 43 fueron positivos a C. minutissimum, bacteria responsable de dicha dermatosis.

Hemos podido comprobar lo dicho por varios autores en cuanto a que el eritrasma afecta tanto a hombres como a mujeres (10), aunque en nuestro estudio la frecuencia de la enfermedad fue mayor en pacientes del sexo femenino (45%), comparados con (33.3%) de positividad en pacientes del sexo masculino. Esto no concuerda con lo reportado por algunos autores que reportan mayor incidencia de esta dermatosis en hombres que en mujeres (22).

El porcentaje mayor de pacientes del sexo femenino que consultaron puede explicarse porque este es un problema principalmente estético, motivo por el cual la mujer consulta más que el hombre. Además la mujer, con mayor frecuencia padece diabetes y obesidad, los cuales son ambos factores predisponentes para el desarrollo del eritrasma.(4,5,6,7,11).  
Relativo a los factores mencionados algunos de los pacientes incluidos en este estudio fueron diabéticos o tenían otros problemas endocrinológicos.

El eritrasma ocurre con mayor frecuencia en adultos jóvenes según indican varios autores (6,13,12), lo cual coincide con lo encontrado en esta investigación, en la que el grupo etario más afectado estuvo compen-

dido entre las edades de 30 a 50 años.

En El Salvador la consulta dermatológica por eritrasma es poco frecuente, pero los resultados obtenidos en el presente trabajo confirman que dicha dermatosis existe en nuestro medio. Dado que la enfermedad es de una importancia menor para el paciente, se pueden observar muchos casos crónicos y a pesar de haber sido tratados local ó sistemáticamente los pacientes presentan con frecuencia recaídas.(22).

En la mayoría de pacientes incluidos en este estudio la enfermedad se manifestó por lesiones bien circunscritas, de color rosado a café claro, con superficie lisa, finamente descamativa. La condición no fue intensamente pruriginosa, exceptuando algunos casos, en quienes el prurito era intenso y en los que se comprobó que la infección era concomitante con dermatofitos u hongos.

Las muestras fueron obtenidas de una diversidad de áreas anatómicas, siendo las inguinocrurales las más comúnmente afectadas y de las que se obtuvo mayor número de muestras positivas en el laboratorio. Esta zona anatómica presenta, sobre todo en climas cálidos como el nuestro, sudoración intensa y humedad, además el roce continuo; los cuales son factores predisponentes de eritrasma (6,11,22). Similar situación se da en la región axilar que fue la que siguió en frecuencia. Es de hacer notar que no tuvimos igual cantidad de muestras de cada área, por lo cual no se podría inferir diferencia porcentual significativa de positividad.

Muchos problemas dermatológicos causados por C. minutissimum son confundidos generalmente con lesiones causadas por hongos, y en consecuencia tratados con medicamentos antimicóticos u otros medicamentos, que lo que hacen es enmascarar el tipo de lesión ayudando al progreso de la dermatosis y su no curación. Haciendo un buen examen de laboratorio con la metodología usada en este trabajo, el paciente se beneficia con un diagnóstico correcto y un tratamiento específico y oportuno lo que le proporciona pronta mejoría y también le ahorra gastos innecesarios. La metodología, además, cubre el diagnóstico de hongos por el examen directo. Estas observaciones enfatizan la gran importancia de los exámenes de laboratorio, de los cuales el examen directo en dos etapas: primero la digestión con KOH al 40 % y segundo por coloración de Kinyoun del material clínico nos proporcionan resultados presuntivos de la presencia de C. minutissimum, ayudando al médico a comenzar el tratamiento lo más pronto posible.

El cultivo tanto en caldo, como en agar carne glicerinado con foroxona y las pruebas bioquímicas realizadas nos llevaron a la identificación final de C. minutissimum dándonos así el diagnóstico confirmativo a eritrasma.

EL Doctor Pablo Negroni en sus reportes hace notar la importancia de una muestra abundante para obtener un aislamiento por cultivo (20). Es de hacer notar, que en los resultados del cultivo inciden tres factores importantes que afectan a la bacteria en su crecimiento, como son: la medicación previa a la última consulta, la obtención de muestra muy escasa y la interferencia por el crecimiento de otros microorganismos.

En nuestro trabajo pudimos observar que C. minutissimum estuvo asociado con levaduras, hifas u otros microorganismos lo cual lleva a cambios morfológicos en las lesiones típicas de eritrasma. Es aquí donde tienen mayor valor la aplicación de los métodos de laboratorio para el diagnóstico. Por lo anteriormente expuesto creemos que el método utilizado para el aislamiento de C. minutissimum es un método accesible, económico; que puede ser implantado en laboratorios que cuenten con bacteriología general en nuestro país con resultados satisfactorios.

Es sabido que en la mayoría de los casos la administración de Eritromicina en dosis de un gramo por día por cinco días producen la curación de las lesiones (7,10,11,16,22).

En este estudio varios de los pacientes que resultaron positivos a eritrasma fueron tratados con Eritromicina por diez a quince días, obteniéndose resultados satisfactorios. El tratamiento local con cremas a base de Neomicina y corticoides adicionados, coadyuvó eficazmente a la curación. (10).

También se estudió en 25 personas asintomáticas, la existencia de C. minutissimum como parte de la flora normal, presente en los espacios interdigitales de los dedos de los pies. A partir de las escamas de dichos espacios encontramos 2 casos positivos, que representan el 8% de las muestras tomadas, aunque el número de personas investigadas fue bajo, sí pudimos comprobar que dicha bacteria está presente en la flora normal del humano.

Debido a los pocos casos positivos encontrados a partir de portadores, pensamos que el potencial de infección es relativamente bajo.

## CONCLUSIONES

C. minutissimum fue observado en el laboratorio como causante de eritrasma, de los cuales 23 pacientes resultaron positivos al examen directo y 20 al directo y al cultivo de los 100 pacientes estudiados. También se pudo comprobar su presencia en 2 de 25 personas sanas, lo que equivale a 8% en portadores.

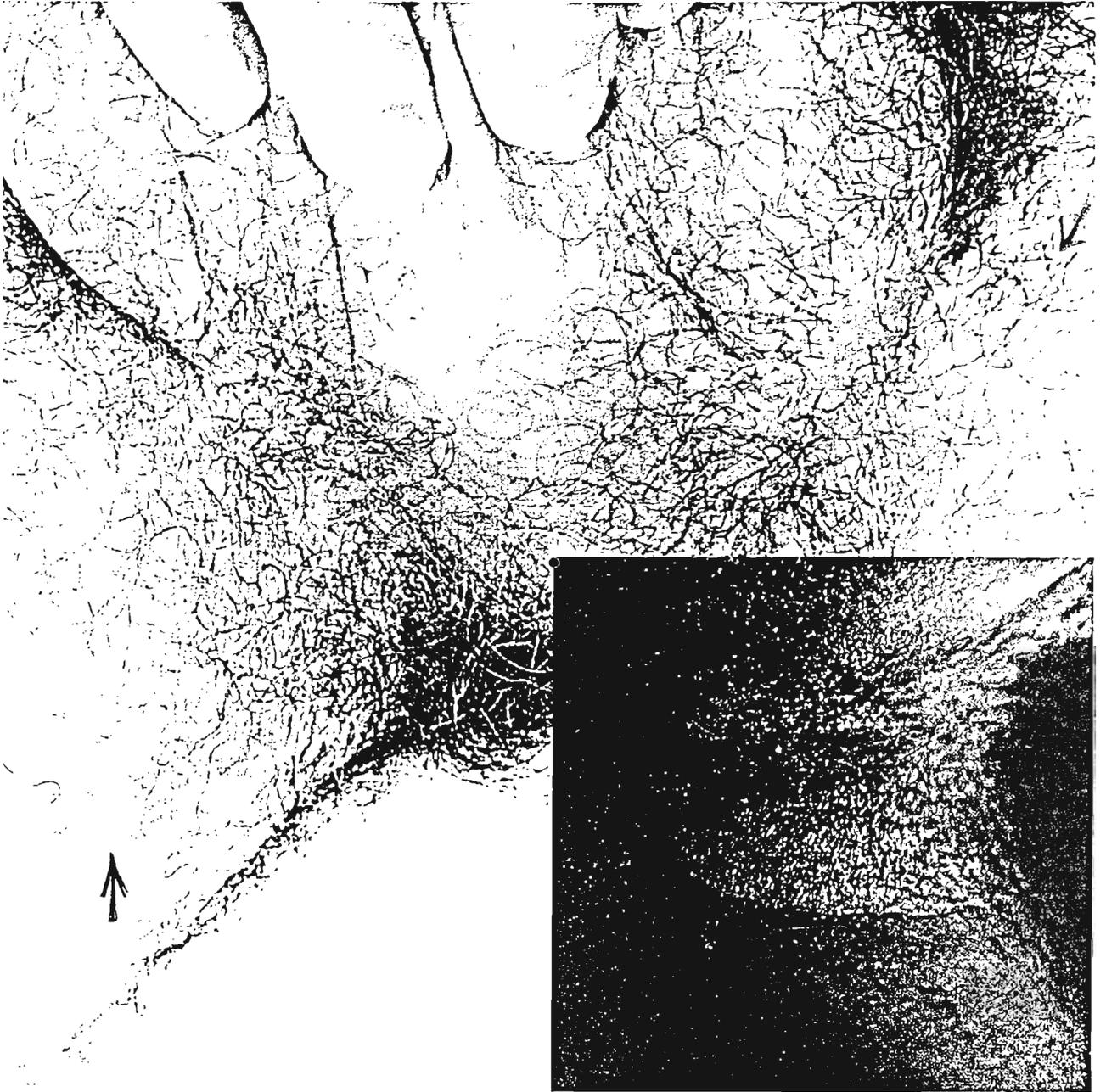
Se determinó también que problemas patológicos, tales como Diabetes, - Obesidad y otras enfermedades Endocrinológicas son factores predisponentes de eritrasma.

El examen directo con KOH al 40% para digestión de la muestra, y observación de hongos, seguido por coloración de Kinyoun, en frotis del material digerido fue el método más sensible para demostrar C. minutissimum en el laboratorio.

El cultivo en caldo de carne glicerinado con furoxona, y la obtención de colonias aisladas en agar carne glicerinado con furoxona, fueron métodos selectivos para el aislamiento de C. minutissimum.

Las pruebas bioquímicas: Producción de H<sub>2</sub>S en TSI con tira de Acetato de Plomo, Citrato, Indol, Urea, Rojo de Metilo, Movilidad, Hidrólisis de la gelatina, reducción de Nitratos a Nitritos y las pruebas de la Catalasa y Termorresistencia a 43° C son las apropiadas para llegar a la identificación de C. minutissimum.

FOTOGRAFIA DE REGION INGUINOCRURAL



rythrasma

Eritrasma

Zona afectada mostrando fluorescencia rojo coral con lámpara de Wood.

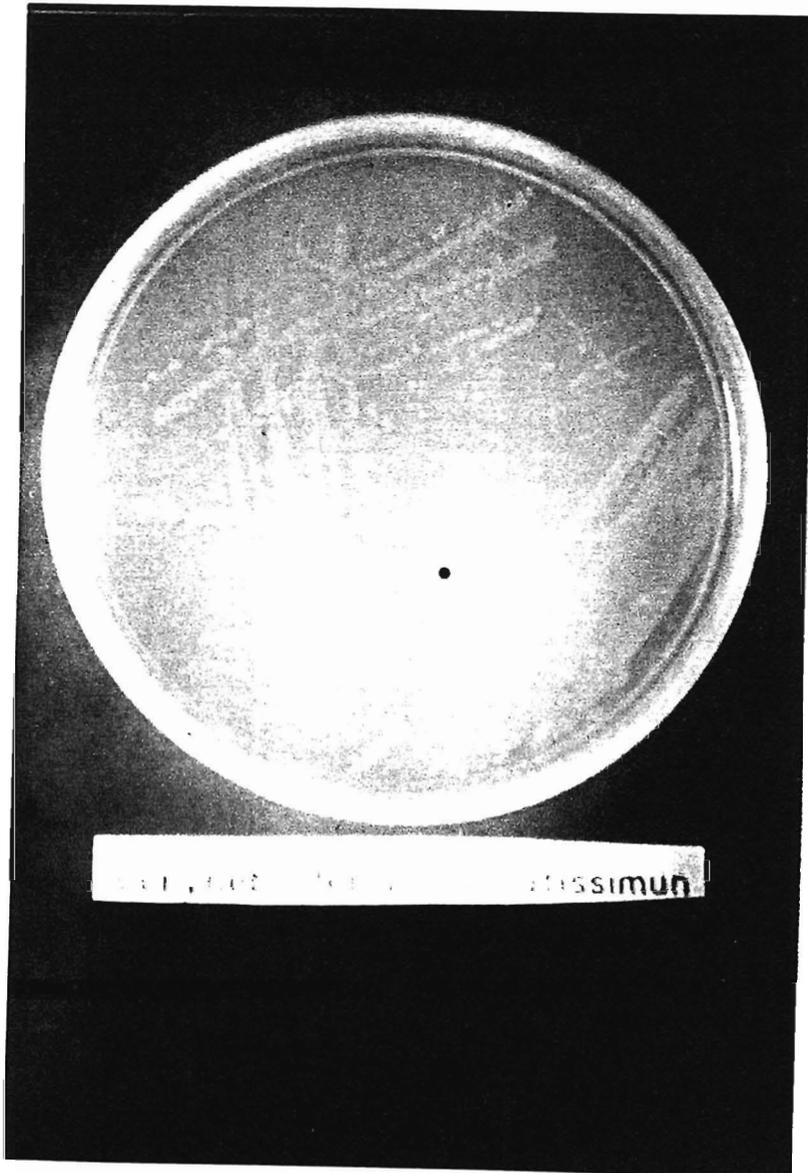
FOTOGRAFIA DE REGION AXILAR



Trichiasis

Eritrasma

CORYNEBACTERIUM MINUTISSIMUM



En medio de agar carne glicerinado con furoxona colonias puntiformes, translúcidas, brillantes, - blanco amarillento.

## A P E N D I C E

### 1. Medio de cultivo

#### 1.1. Caldo de Carne

A una libra de carne de res molida, agregar un litro de agua - destilada y hervir durante 30 minutos; enfriar y filtrar a través de una gasa o manta humedecida. Se lleva a 1000 ml. con H<sub>2</sub>O - destilada.

Agregar 10 g. de peptona y 5 g. de Cloruro de Sodio ajustar a pH = 7; embotellar en cantidades de 100 ml. esterilizar a 15 libras de presión x 15 minutos a 121° C.

#### 1.2 Caldo de Carne Glicerinado con Furoxona

A 100 ml. de caldo de carne, . agregar 5.0 g. de glucosa, 5.0 ml. de glicerina y 5.0 microgramos por ml. de furoxona.

Dispensar en tubos con tapón de rosca 10 ml. en cada uno y en frascos de tapón de rosca 100 ml. cada uno.

Esterilizar en autoclave.

#### 1.3 Agar de carne glicerinado con Furoxona

A 100 ml. de caldo de carne glicerinado con Furoxona agregar - 2 g. de agar. disolver por ebullición y ajustar a pH 7.6. Esterilizar en autoclave a 121° C x 15 minutos a 15 libras de presión. Luego vertir en placas.

### NOTA

La concentración de furoxona, se obtiene preparando una solución Stock de 10 mg de furoxona en 10 ml. de acetona, y luego se prepara una solución de trabajo poniendo 1 ml de la solución Stock en 9 ml de propilenglicol esterilizado, luego a 99 ml de caldo de carne glicerinado agregar 1 ml de la solución de trabajo.

### 1.4 Caldo de Triptófano

Tripticasa o Triptona	1 g
Agua destilada	100 ml

Disolver y dispensar en tubos; esterilizar a 15 libras de presión durante 15 minutos a 121°C. Este medio se utiliza para demostrar la producción de Indol.

### REACTIVO DE EHRLICH

Para -dimetilaminobenzaldehído	100.0 g
Alcohol Etílico	150 ml
Acido Clorhídrico Concentrado	50 ml

### TECNICA

Inocular el caldo triptófano con la bacteria a estudiar e incubar por 24 a 48 horas a 37° C. Añadir 5 gotas del Reactivo de Ehrlich. La producción de Indol a partir del triptófano, se detecta por la formación de un anillo rojo.

1.5 Medio de Movilidad.

Bacto - Triptosa	10 g
Cloruro de Sodio	5 g
Bacto Agar	5 g
p H final 7.2 a 25° C	

Disolver a ebullición. Esterilizar a 121°C x 15 minutos a 15 libras de presión.

Técnica.

Inocular el medio estéril puncionando el centro del medio. La movilidad se manifiesta macroscópicamente por una zona difusa de crecimiento que se extiende a los lados de la línea de inoculación.

1.6 Caldo con Nitrato para la prueba de reducción de Nitratos.

Triptona	5 g
Neopeptona	5 g
Agua destilada	1000 ml
Nitrato de potasio	1 g
Glucosa	0.1 g

Disolver la triptona y neopeptona con el agua y hervir. Agregar la glucosa y nitrato de Potasio; mezclar y ajustar el p H en 7.3 a 7.4 . Repartir 5 ml por tubo y esterilizar a una presión de 15 libras x 15 minutos.

### Reducción de Nitratos

#### Reactivos

Solución A:	Acido Sulfanílico	8.0	g
	Acido Acético 5 N	1000	ml
Solución B:	Alfa Naftilamina	5	g
	Acido Acético 5 N	1000	ml

mezclar

#### Técnica

Inocular un tubo con caldo de Nitrato con la bacteria a estudiar, e incúbase a 37°C por 24 horas. Anádase 5 gotas del reactivo de Acido Sulfanílico - Alfa Naftilamina.

La aparición de un color rosado o rojo indica una reacción positiva (Reducción de Nitratos a Nitritos ).

### 1.7 Agar de tres azúcares y hierro ( T S I )

#### Reactivos:

Peptona	20	g
Cloruro de Sodio	5	g
Lactosa	10	g
Sacarosa	10	g
Glucosa	1	g
Sulfato ferroso Amónico	0.2	g
Tiosulfato de sodio	0.2	g
Rojo Fenol	0.025	g

Agar 13 g  
Agua destilada 1000 ml  
pH final 7.3

Disolver por ebullición:

Colocar en tubos y poner en autoclave a 121°C x 15 minutos a 15 libras de presión.

Se emplea para determinar la fermentación de los hidratos de carbono y la producción de sulfuro de hierro.

#### PRODUCCION DE H<sub>2</sub>S EN TSI CON TIRA DE ACETATO DE PLOMO.

Las tiras de papel filtro de 5 a 10 mm. de ancho por 50 a 60 mm. de largo son impregnadas con una solución al 10% de Acetato neutro de Plomo, luego se secan y se esterilizan. Estas tiras son suspendidas sobre el bisel del medio de TSI que se siembra en la forma convencional.

Una reacción positiva, se manifiesta por coloración negra en el borde de la tira, después de haber incubado a 37°C por 24 horas; en el medio de TSI no hay formación de precipitado negro, porque el sistema enzimático de la bacteria sólo es capaz de producir trazas de H<sub>2</sub>S, lo cual hace necesario un indicador sumamente sensible, que es la tira de acetato de plomo, en la cual se evidencia un precipitado de sulfuro de plomo que es de color negro.

#### 1.8 Caldo rojo de metilo. Voges Proskauer

Peptona Buffer 7 g  
Dextrosa 5 g  
Fosfato Dipotásico 5 g  
Agua Destilada 1000 ml

Disolver los ingredientes en el agua por calentamiento.

Reactivo de Rojo de Metilo

0.1 gr. de rojo de metilo (indicador) en 300 ml. de Alcohol Etílico al 95% y diluir a 500 ml con agua destilada.

Técnica.

Inocular medio de RM - VP con la bacteria a estudiar incúbase 37°C por 24 a 48 horas y luego agregar 5 gotas de indicador (Rojo de Metilo ).

La reacción positiva está dada por un color rojo, que indica la presencia de ácido.

2. REACCIONES

2.1 Reacción de la catalasa.

Colocar una gota de Peróxido de Hidrógeno al 3% sobre una lámina portaobjeto, con suavidad emulsionar una porción de la colonia bacteriana a estudiar.

Reacción positiva, se manifiesta por un burbujeo gaseoso.

3. COLORACIONES

3.1 Coloración de Gram

Reactivos

a) Preparación del Cristal Violeta

Stock

Cristal Violeta	85%	0.6 g
Etanol	95%	10 ml

Sol. de Trabajo

Mezclar partes iguales de Stock cristal violeta y Stock de Oxalato - Mezclar - almacenar en frasco de vidrio ámbar.

b) Solución de Lugol

Cristales de yodo	1 g
Yoduro de Potasio	2 g
H <sub>2</sub> O destilada	300 g

Triturar el yodo y el yoduro de potasio, en un mortero con 5 ml de H<sub>2</sub>O hasta obtener una mezcla más o menos homogénea y agregar poco a poco el resto de H<sub>2</sub>O.

c) Alcohol Acetona

Etanol	95%	75 ml
Acetona	•	25 ml

Safranina

Safranina	2.5 g	
Etanol	95%	100 ml

Mezclar

Solución de trabajo

Diluir Stock de Safranina madre 1:10 con agua destilada, mezclar, filtrar,

Técnica.

Preparar un extendido delgado del material en estudio:

1. Fijar al calor
2. Cubrir la preparación con cristal violeta. Durante 1 minuto.

3. Lavar con agua de chorro.
4. Cubrir, solución de Lugol durante 1 minuto.
5. Lavar con agua de chorro.
6. Decolorar con alcohol acetona goteando sobre el portaobjeto inclinado, debe lavarse hasta que el líquido salga incoloro.
7. Lavar con abundante agua de chorro.
8. Cubrir la preparación con Safranina por 1 minuto.
9. Examinar con objetivo de inmersión.

Resultado: Bacterias Gram positivas colorean en violeta o azul, las Gram negativas en rosa o rojo.

### 3.2 Coloración de Giemsa.

Reactivos

a) Colorante Giemsa en polvo	0.6	g
b) Metanol	50	ml
c) Glicerol	50	ml

Colocar en frascos que contengan cuentecillas de vidrios y sacudirlo. Después de sacudir el frasco 3 veces al día durante 4 días consecutivos . Filtrarlo.

Colorante Giemsa diluído (solución de trabajo)

Preparación

Mezclar 1 gota de colorante por cada ml de solución tamponada de fosfatos (PH = 7.2)

Dilución 1:10

### Técnica

1. Fijar el frotis con alcohol metílico durante 1 minuto.
2. Cubrir con el colorante de Giemsa diluida y dejar actuar durante 30 minutos.
3. Lavar con abundante agua de chorro.
4. Secar y observar al microscopio con el objetivo de inmersión.

### 3.3. COLORACION PARA ACIDO RESISTENTE DE KINYOUN

Fucsina	4	g
Etanol al 95%	10	ml
Fenol	8	g
Agua destilada	100	ml

#### ALCOHOL ACIDO

Acido Clorhídrico concentrado	3	ml
Alcohol Etílico 95%	97.0	ml

#### AZUL DE METILENO

Azul de Metileno	2.5	g
Alcohol Etílico 95%	100	ml

### Procedimiento

Hacer frotis con el material a estudiar. Dejar secar a temperatura ambiente y fijar por calor.

1. Cubrir con Fucsina por 3 minutos sin calentar.
2. Lavar con agua de chorro.
3. Decolorar 5 a 10 minutos con alcohol ácido.
4. Lavar con agua de chorro.
5. Cubrir con azul de metileno de 30 segundos a 1 minuto.
6. Lavar con agua.
7. Dejar secar.

B I B L I O G R A F I A

1. Azulay, R.D. Dermatología, 1a. Ed. Editorial Guanabara Koogan S.A. Río de Janeiro. Pág. 122 - 123, 1985.
2. Bianchi, M.H., Negroni, R. Investigación de portadores de Nocardia minutissima en pliegues perigenitales . Rev. Arg. de Micología 9: 17 - 18, 1986.
3. Bailey and. Scott's. Diagnostic Microbiology, 7th Ed. The C. V. Mosby Company St. Louis. Toronto. Princeton. 1986.
4. Beenson and Mc. Dermott. Text Book of Medicine 12a. Ed. Edit. Saunders. 1969.
5. Bruce, L., Rosen y Roger, H. Brodtkin. Lesiones Cutáneas en el enfermo Diabético. Tribuna Médica Centroamericana, Panamá y República Dominicana. Tomo XLII (10) Nov. Pág. 17-22, 1987.
6. Cordero, C.F.A. 1a. Ed. Edit. Unión Tipográfica, Guatemala, - Pág. 148 - 149, 1961.
7. Domonkos, N., Tratado de Dermatología, 2a. Ed. Salvat Edit.S.A. Barcelona, Madrid. Pág 304 - 305, 1975.
8. Davis, Dulbecco. E.G.W., Tratado de Microbiología, 3a. Ed. Salvat Editores Barcelona, Pág. 901 - 1028, 1979.

9. FitzPatrick, B.T., Eisen, A.Z., Wolff, K. *Dermatology General Medicine*. 3a. Ed. Edit. Mc Graw-Hill. Pág. 2119-2120, 1987.
10. Gray-Prieto, J. *Dermatología*, 8a. Ed. Edit. Científico Médico. Barcelona. Pág. 193 - 194, 1976.
11. Hernández Pérez, E. *Clínica Dermatológica*, 3a. Ed. UCA Edit. Pág. 38 - 39, 1978.
12. Hollis, D.G. Riley, P.S., Utter, G.D. Weaver, R.E. and Baker, C. Characterization and Identification of 95 Diptheroid Grupo J.K. - cultures Isolated from clinical Specimens. *Journal of Clinical Microbiolog y*, 9:418 - 424, 1979.
13. Jouffroy, L. *Micosis Cutáneas*, Tribuna Medica. Centroamericana, Panamá, y República Dominicana. Tomo XLIV (3) Marzo . Pág. 18-20, 1989.
14. Jawetz, E. *Manual de Microbiología Médica*, 9a. Ed. Edit. El Manual Moderno, México. Pág. 207 - 208, 1981.
15. Koneman, E.W., Allen, S.D., Jr. Dowell, V.R., Somers, H.M. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Pág. 13, 1983.
16. Lacaz-Silva, C. *Compendio de Micología Médica*, 1a. Ed. Sarvier Edit. Universidad de Sao Paulo , Pág. 88- 89, 1967.
17. Lennette, E.H. *Manual of Clinical Microbiology*. 4a. Ed. Tomo 1, - 18: 193 - 201. 1985.

18. Manual de Laboratorio de Microbiología Médica. Departamento de Microbiología Médica. Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador. Pág. 126- 127, 1979.
19. Merck, Laboratorios. Atlas Dermatológico, Pág. 6 - 7, 1979.
20. Negroni, P. Keratinophilic Nocardia Like Organism Isolated from Eritrasma and Trichomycosis Axillaris, PAHO, S.C. Pub. 396:88 -92, 1980.
21. Negroni, P. Cultivo y Aislamiento de Nocardia Queratófila del material clínico, Rev. Arg. Micología 2 (2): 25, 1979.
22. Rippon, JW. Other Actinomycetous Infections. Medical Mycology 2a. Ed. Edit. Saunders. Pag. 68 - 71, 1982.
23. Shepard-Charles, C. Otras Infecciones Micobacterianas. Pág. 1439 - 1441, 1976.

\*\*\*\*\*