

# LEVADURAS DE UNA DERMATOSIS HUMANA

CRYPTOCOCCUS SALMONEUS. Sartory

Por MANUEL RUIZ O.,  
del Instituto de Biología.

**L**AS levaduras que son objeto del presente estudio, fueron aisladas por el doctor Daniel Nieto, de una dermatosis escamosa producida en la piel humana, cuya naturaleza no nos fué posible determinar debido a que la persona de donde se tomaron las escamas no se volvió a presentar para continuar el estudio.

Del cultivo de las escamas en Sabouraud, se aislaron dos especies de levaduras, unas de color rojo que serán objeto de estudios posteriores y otras de color rosa, de las cuales nos ocupamos en este trabajo.

Observando las levaduras al microscopio se notan de forma circular, membrana gruesa, protoplasma granuloso y con uno o dos brotes; sus dimensiones son de 6 a 7 micras de diámetro.

Hicimos el aislamiento de las levaduras por los métodos usuales, con el objeto de estar seguros de que se trataba de una sola especie, y obteniendo resultados positivos se procedió a cultivar la levadura en distintos medios de cultivo anotando sus caracteres.

## CARACTERES MACROSCOPICOS DE LA VEGETACION EN MEDIOS LIQUIDOS

*Mosto de cerveza.*—Sobre este medio, a 15°-20° y a las 48 horas, se desarrolla un pequeño depósito rosáceo, y a los cinco días se empieza a formar un anillo en la superficie del medio, rodeando las paredes del tubo, el cual completa su desarrollo al cabo de diez días con un color blanco rosado. Al mismo tiempo se forma un velo pequeño y tenue en el medio, del mismo color que el depósito y que cae al fondo del tubo con el menor movimiento. No se efectúa fermentación del mosto, y el medio permanece claro y transparente hasta los veinte días, en que se observa un ligero enturbiamiento que pronto desaparece. El anillo se ensancha llegando a alcanzar hasta 5 mm. y el depósito aumenta len-

tamente. El velo tiende a desaparecer, quedando primero fragmentado en pequeños islotes, los cuales terminan por caer al fondo. Con el tiempo el color del depósito y del anillo va cambiando, tomando primero un tinte salmón, luego café y por último grisáceo. El anillo desaparece después de dos meses. El desarrollo se efectúa con más rapidez entre los 22° y los 25°, comienza a disminuir después de los 30° y cesa a los 39°-40°.

*Caldo de carne.*—Escaso desarrollo que se nota hasta los siete días en forma de un depósito muy pequeño, de color rosa pálido, y algunas colonias apenas visibles flotando en el medio. A los diez días se esboza la formación de un anillo y un velo, pero pronto desaparecen. Aun después de tres meses, el depósito es muy escaso y toma un color igual al del medio anterior. Las pequeñas colonias que por un tiempo flotaron en el líquido, terminan por caer al fondo.

*Caldo de levadura glucosado.*—A las 48 horas se forma un depósito blanco rosáceo, y a los cinco días un pequeño anillo y velo del mismo color; éste último desaparece en unos cuantos días. A los diez días el depósito es mayor que en mosto de cerveza y el anillo comienza a desaparecer fragmentándose. Aunque al principio llegó a ser el desarrollo mayor que en mosto, después de veinte días es menor, aumentando lentamente. El medio permanece siempre claro y transparente y sin fermentación. A los tres meses el depósito toma la misma coloración que en mosto simple, y del anillo sólo quedan pequeños fragmentos.

*Raulin.*—Desarrollo con caracteres semejantes a los obtenidos en mosto de cerveza, pero sin llegar a alcanzar su intensidad y abundancia.

*Caldo de levadura simple.*—Se obtiene un desarrollo escasísimo en forma de depósito y el anillo y velo apenas si se esbozan sin llegar a integrarse.

#### CARACTERES MACROSCOPICOS DE LA VEGETACION EN MEDIOS SOLIDOS

*Mosto gelosado.*—A los seis días se obtienen colonias de forma ovoide, circular, globulosas, con bordes recortados u ondulados y color rosado, acentuándose en el centro. A los nueve días, además del aspecto globuloso, se notan húmedas y brillantes, con fisuras que dividen a la colonia en pequeños lóbulos, y radios pequeñísimos de la periferia al centro. A los 14 días, el color rosa se nota más acentuado y las fisuras y radios más numerosos. Después de un mes, el color se torna salmón, y a los tres meses adquiere un tinte café rosáceo; su aspecto húmedo y brillante lo conserva, los bordes se tornan enveros, las fisuras y los radios apenas son perceptibles, y la superficie se nota levemente granulosa.

*Mosto gelatinizado.*—Cultivos semejantes a los obtenidos en mosto gelosado, pero el desarrollo es menor. Colonias de forma circular, poco globulosas,

húmedas, brillantes, bordes enteros en los primeros días, tornándose después un poco recortados; el color rosado desaparece a los 25 días, tornándose café rosáceo. Se forman fisuras pequeñas y poco profundas.

*Gorodkowa*.—Colonias circulares u ovoides, ligeramente globulosas, bordes enteros, color blanco rosáceo más acentuado en el centro. A los nueve días el color rosáceo se acentúa y se esbozan pequeños radios en la periferia que con el tiempo se hacen muy numerosos aunque apenas visibles. A los 30 días el color se torna salmón y a los tres meses café rosáceo.

*Sabouraud*.—Desarrollo intenso, obteniéndose en pocos días colonias circulares, muy globulosas, húmedas, brillantes, bordes enteros y color rosado. Con el tiempo siguen la misma evolución que las obtenidas en mosto gelosado, con la superficie levemente granulosa.

*Papa*.—Colonias de forma circular, poco globulosas, bordes enteros que con el tiempo se hacen ondulados. Color blanco rosáceo y de aspecto seco, opaco y granuloso. A los 30 días las colonias, que han alcanzado pequeñas dimensiones, se secan completamente y mueren; solamente algunas de ellas pudieron vivir tres meses, renovándose constantemente el agua estéril que se coloca en el fondo del tubo.

*Zanaboria*.—Desarrollo aun menor que en el medio anterior, colonias de forma irregular, con bordes recortados, color rosa, aspecto más seco, opaco y levemente granuloso. Centro un poco elevado.

*Gelatina*.—Es el medio que proporciona el desarrollo más escaso, obteniéndose colonias muy pequeñas, de forma ovoide y de bordes ondulados, aspecto húmedo y brillante, centro elevado, color grisáceo en la periferia y en el centro rosado, extendiéndose después a toda la colonia; con el tiempo la superficie se torna granulosa y el color café rosado.

*Gelosa*.—Colonias más desarrolladas que en gelatina, alargadas, circulares u ovoides, bordes ondulados y recortados, húmedas, brillantes y con el tiempo ligeramente granulosas. El color rosado, al principio, se torna café rosáceo.

*Caldo de levadura gelosado*.—Colonias circulares, poco globulosas y con bordes enteros que se tornan ligeramente recortados. Aspecto húmedo y brillante. El color, que en los primeros días es grisáceo se transforma en rosado, aun más en la parte central que es un poco elevada; en la periferia se esbozan pequeños radios. Su aspecto y color siguen la misma evolución que los cultivos anteriores.

*Raulin gelatina.*—Colonias de igual desarrollo que en Gorodkowa, con la misma forma, aspecto y color, pero al poco tiempo se licúa el medio debido probablemente a que había poca gelatina, y sigue el desarrollo en el fondo del tubo, acumulándose un depósito rosáceo.

Los medios en que con mayor intensidad se desarrolla esta levadura, son mosto gelosado y Sabouraud, en cambio el cultivo es muy escaso en gelatina, zanahoria y papa.

#### COLONIAS GIGANTES

Empleamos varios medios, en cajas de Petri y de Petroff, a la temperatura del laboratorio (15°-20°).

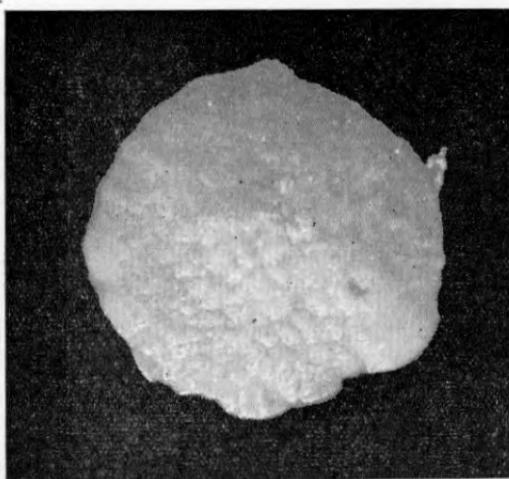


Fig. 1.—Colonia gigante de *Cryptococcus salmoneus* de un mes veinte días, en medio de Sabouraud. (Fot. I. Larios).

En Sabouraud se obtiene, a los tres días, una colonia circular, con bordes enteros, húmeda, brillante, globulosa y de color blanco rosado. A los 16 días el color se hace rosado, aún más en el centro, y se esbozan corto número de fisuras de la periferia al centro; al mismo tiempo se hace más globulosa la colonia. A los 35 días los bordes se tornan ligeramente ondulados, y a los tres meses son, además, finamente aserrados. Adquiere, además, un leve aspecto granuloso en la superficie y el color se torna con el tiempo café rosáceo. Lleg a alcanzar, de dimensiones, 48 mm. en tres meses.

En mosto gelosado, las colonias obtenidas son muy semejantes a la anterior, con ligeras diferencias. Su forma es circular, con bordes enteros que se trans-

forman en ondulados, pero sin llegar a ser aserrados. El color es exactamente el mismo, evolucionando de la misma manera. Las fisuras empiezan a formarse a los 16 días; el aspecto granuloso se percibe en toda la superficie a excepción de una delgada faja en la periferia. El desarrollo es un poco menor que en Sabouraud, ya que en tres meses alcanza 40 mm. de diámetro.

En gelosa las colonias son pequeñas, de forma ovoide y con bordes ondulados, húmedas, brillantes y de color blanco lechoso. A los 12 días el color se torna rosáceo en el centro y blanco grisáceo en la periferia, la cual se provee de pequeños radios; los bordes se hacen entros. A los 16 días el color rosado se extiende por toda la colonia y los bordes se vuelven nuevamente ondulados; los radios se profundizan, transformándose en fisuras que alcanzan hasta el centro. A los tres meses los bordes son muy recortados, dando un aspecto arborescente; la colonia es húmeda, brillante y granulosa; centro elevado y color café rosáceo. Llega a alcanzar 17 mm. de diámetro.



Fig. 2.—Aspecto de la colonia gigante en mosto gelosado, al cabo de cinco meses de cultivo. (Fot. I. Larios).

En Gorodkova, al contrario de lo que sucede en los tubos, el cultivo se desarrolla con mucha intensidad, aunque las colonias son completamente aplanadas, sin hacerse globulosas; la forma, que en los primeros días es circular, se torna ligeramente ovoide y con algunos lóbulos bastante profundos, siendo éstos recortados. El color es igual al descrito en los medios anteriores, y alcanza de dimensiones 48 por 46 mm.

En caldo de levadura gelosado se obtienen colonias gigantes, semejantes a las del mosto, pero de forma ovoide y de aspecto más granuloso, menos globulosas, bordes ondulados y alcanzan de dimensiones 28 por 20 mm.

En gelatina las colonias solamente llegan a alcanzar 4 mm. de diámetro y en zanahoria y papa, son un poco mayores que las anteriores, con aspecto muy granuloso, secas, opacas y con bordes recortados.

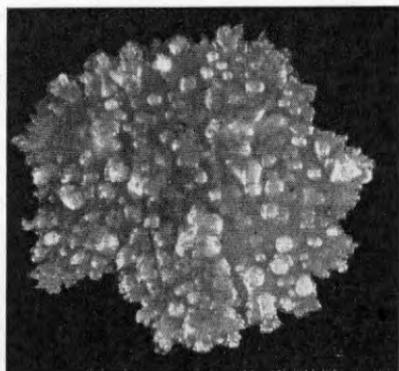


Fig. 3.—Colonia gigante en gelosa, después de cinco meses de cultivo. (Fot. I. Larios).

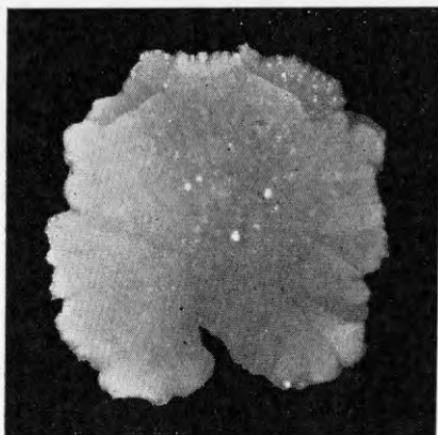


Fig. 4.—Aspecto de la colonia en medio de Gorodkowa, al cabo de tres meses de cultivo. (Fot. I. Larios).

## CARACTERES MICROSCOPICOS DE LAS CELULAS EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO

Observadas las levaduras al microscopio, que se han obtenido en el depósito del mosto simple, a las 48 horas, se notan de forma esférica, muy regular, semejándose, desde luego, al tipo *Torula* y *Cryptococcus*. La membrana es gruesa, distinguiéndose con perfección. El protoplasma es homogéneo, claro y transparente y en pocas células se notan pequeñas granulaciones. Su reproducción, que la observamos con toda claridad en cultivos de cámara húmeda, es por gemación, existiendo generalmente un brote y en algunos casos dos. Dimensiones, 4 a 8 micras de diámetro.

A los diez y quince días aparecen pequeñas células de tipo ovoide, aunque en corto número, con dimensiones de 5 por 4 micras y 6 por 5 micras; la mayoría conserva su forma primordial. El protoplasma en cierto número de ellas se torna oscuro y en la mayoría comienzan a aparecer granulaciones refringentes (gránulos metacromáticos) y pequeños glóbulos de grasa, perfectamente identificables, ya que desaparecen con el alcohol absoluto, con el éter

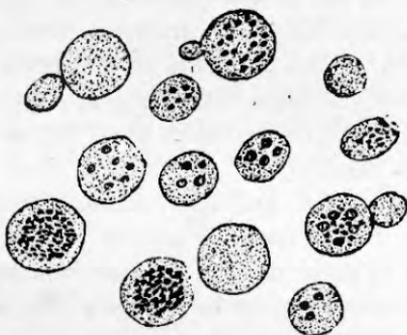


Fig. 5.—Células de *Cryptococcus salmonaeus* en mosto simple, a los diez días de cultivo.

y se tiñen con Sudán III. En muy pocas de las células se nota una gran acumulación de granulaciones de glóbulos de grasa en la parte central de la célula, y dejan sólo una delgada faja de protoplasma claro y homogéneo en la periferia. La mayoría tienen como dimensiones 6 a 8 micras, habiendo unas con 4 y otras con 9 y 10 micras. Al cabo de 35 días, las células se han conservado semejantes, a excepción de unas de 10 micras que poseen una vacuola de grandes dimensiones, llena de granulaciones y que ocupa casi todo el protoplasma. Una gran proporción no adquieren el aspecto granuloso y conservan su protoplasma homogéneo, claro y transparente. Los brotes existen en pequeña proporción. Después de dos meses y medio de cultivo, la mayoría han conservado la forma

esférica y muy pocas son ligeramente ovoides (tipo *cerevisiae*); la membrana es gruesa, clara y refringente. El protoplasma, en la mayor parte de ellas, posee gran cantidad de granulaciones y glóbulos de grasa, que lo tornan obscuro y denso. Sus granulaciones más pequeñas tienen movimiento browniano. Un corto número de células conservan el protoplasma sin granulaciones, homogéneo, claro y transparente. Siguiendo la observación de los cultivos tres y cuatro meses, no cambia el aspecto de las células. Las células que forman el anillo y el velo, son semejantes a las del depósito y solamente cuando el cultivo es viejo, se notan algunas de forma alargada, pero en ningún caso, aun cuando nuestras observaciones se continuaron por tiempo prolongado, notamos formación de micelios, como cita Sartory en algunas de sus observaciones de esta misma especie que estudiamos.

En caldo simple, las células son esféricas, sin existir las formas ovoides. La membrana es poco notable, y el protoplasma homogéneo, muy claro y transparente. En cuanto a las dimensiones son menores que en mosto simple (5 a 6 micras por diámetro). Aun después de tres y cuatro meses de cultivo, las células han cambiado muy poco, adquiriendo algunas de ellas corto número de granulaciones y dos o tres glóbulos de grasa. Los brotes son muy escasos, pues el caldo simple constituye un medio muy pobre para el desarrollo de la levadura.

En caldo de levadura simple, los caracteres microscópicos de las células tienen una gran semejanza a los obtenidos en el cultivo anterior.

En caldo de levadura glucosado, las células se presentan de forma circular (tipo *Tórula*) y con dimensiones medias de 6 a 7 micras. La membrana es gruesa, distinguiéndose con claridad. El protoplasma, desde los primeros días, es en la mayor parte de las células, granuloso, denso, obscuro y con varios glóbulos de grasa. A los 25 días se nota, en algunas células, que las granulaciones quedan confinadas en la parte central, dejando una zona circular periférica transparente, clara y homogénea. Entre los dos y tres meses de cultivo aparecen algunas formas ovoides, pero en corto número.

En líquido de Raulin las características microscópicas son muy semejantes a las descritas en los cultivos de mosto, pero la cantidad de brotes es mucho menor, y las granulaciones poco abundantes.

En mosto gelosado, a las 48 horas se obtienen células esféricas con mayor número de brotes que en otros cultivos; muy pocas tienen granulaciones y glóbulos de grasa, pues en la mayoría el protoplasma es homogéneo, sin granulaciones ni grasa. Dimensiones medias: 6 a 7 micras. A los 10 ó 15 días aumentan las formas granulosas, la membrana se distingue con mucha claridad y algunas se proveen de una vacuola llena de granulaciones. A los 30 días, lo único que ha variado son las dimensiones, que para la mayor parte son de 6 a 8 micras. Entre dos y tres meses aparecen algunas formas ligeramente ovoides, semejándose al tipo *cerevisiae*. El protoplasma, en la mayoría de las células es claro, transparente, homogéneo y con escaso número de granulaciones refrin-

gentes; son muy pocas las células que tienen un protoplasma granuloso y con glóbulos de grasa.

En mosto gelatinizado, las características son semejantes a las citadas anteriormente, pero únicamente en los primeros días, ya que después de 30 días se notan algunas diferencias. Así, a los 2 ó 3 meses, se observan células de forma esférica y algunas ovoides; el protoplasma en la mayoría es oscuro, denso, con gran cantidad de granulaciones y glóbulos de grasa. Hay otras de mayores dimensiones (8 a 9 micras), esféricas y con protoplasma claro y homogéneo, careciendo de granulaciones y de grasa. Dimensiones medias en todo el cultivo: 6 a 8 micras.

En el medio de Sabouraud, fué donde mejor se pudo anotar los caracteres microscópicos. A los 2 ó 3 días únicamente hay formas esféricas con protoplasma sin granulaciones. Después de 10 ó 15 días, la forma esférica se conserva, y el protoplasma se torna oscuro, con gran cantidad de granulaciones pequeñas muy refringentes y con glóbulos de grasa. Además, poseen una delgada faja protoplásmica clara, transparente y sin granulaciones. Hay muy pocas células de mayor tamaño que tienen el protoplasma claro y sin granulaciones, y sí únicamente con uno o dos glóbulos de grasa. Se observan muchas levaduras con dos y tres brotes. A los 25 días aparecen formas ovoides granulosas. En otras se forma una vacuola con muchas granulaciones y grasa. A los 40 días las características se han conservado, siendo la mayoría de las células granulosas con una delgada faja protoplásmica homogénea. Después de dos y tres meses de cultivo, la diferencia sólo se nota debido a la aparición de un gran número de levaduras circulares de 6 a 7 micras, sin granulaciones y únicamente con algunos glóbulos de grasa; hay en ellas gran cantidad de brotes.

En gelatina, durante todo el tiempo que observamos el cultivo, las células son esféricas y a los 30 días ovoides, de 6 a 8 micras de diámetro, con protoplasma homogéneo, claro, sin granulaciones y únicamente en poquísimas se notaron granulaciones refringentes y grasa. Al cabo de dos meses, las células se tornan un poco más granulosas, y otras se proveen de una vacuola muy grande, con glóbulos de grasa y granulaciones refringentes con movimiento browniano. Dimensiones medias durante todo el cultivo: 6 a 8 micras de diámetro.

En gelosa la forma es esférica, existiendo muchas con dimensiones de 9 a 10 micras; el protoplasma es claro, hialino, sin granulaciones ni glóbulos de grasa. Existen gran número de brotes. Hay pocas formas granulosas y otras con vacuolas. Al cabo de 20 a 25 días, las células se notan unidas formando pequeños grupos de 8 a 10 células, característica no observada en ningún medio de los que hemos tratado. A los dos meses comienzan a aparecer algunas formas ovoides, las granulaciones y glóbulos de grasa son más abundantes, las formas que notamos al principio del cultivo, de 9 a 10 micras, han desaparecido y las di-

mensiones medias son menores que las anotadas anteriormente en otros cultivos. Se notan gran cantidad de brotes.

En caldo de levadura gelosado, es donde la forma, tamaño y contenido de las células se conservan con más regularidad durante todo el tiempo de cultivo. La forma es esférica, no hay formas ovoides, la membrana es gruesa y el protoplasma desde los primeros días, aparece con gran cantidad de granulaciones refringentes, repartidas regularmente, y glóbulos de grasa en corto número; hay pocos brotes y las dimensiones medias son de 6 a 8 micras. Llegan a aparecer muy pocas células sin contenido granuloso, pero pronto se proveen de granulaciones adquiriendo el aspecto que tienen la mayoría.

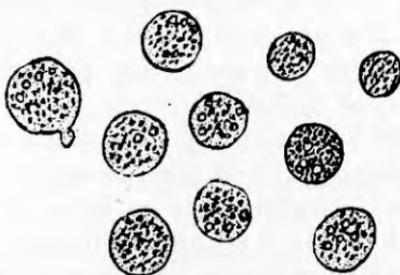


Fig. 6.—Aspecto de las levaduras en caldo de levadura gelosado, a los diez días de cultivo.

En Gorodkowa, se obtienen células con características distintas a las anotadas anteriormente. Desde los primeros días se notan formas esféricas con algunas ovoides y su protoplasma sin ninguna granulación, ni glóbulos de grasa. Dimensiones, 6 a 7 micras. Hasta los 20 días se nota la aparición, en poquísimas células, de granulaciones refringentes, pero no así glóbulos de grasa ni vacuolas, los cuales se notan al cabo de un mes en pequeño número. Las vacuolas se hacen más numerosas después de dos y tres meses, y se llenan de granulaciones con movimiento browniano.

En Raulin gelatina se obtienen células con características semejantes a las anotadas en mosto gelatinizado y gelatina, existiendo formas muy granulosas y con pocos brotes.

En papa y zanahoria, desde los primeros días las formas son ovoides y sobre todo esféricas, con su membrana clara y gruesa; el protoplasma en unas es homogéneo y claro y en otras es granuloso, ya sea con las granulaciones dispersas o confinadas en una o varias vacuolas. No hay glóbulos de grasa. A los 10 ó 15 días aparecen algunas formas elípticas y el protoplasma, en la mayoría de las células se nota con vacuolas, pero sin granulaciones, pues éstas quedan repartidas irregularmente en el protoplasma; las vacuolas contienen glicógeno,

comprobación que hicimos al hacer las tinciones especiales, de que más adelante trataremos, para identificar dicho compuesto. Se encuentran algunas células con 9 y 12 micras de diámetro.

Por lo expuesto anteriormente, se puede notar que en todos los medios de cultivo, ya sean líquidos o sólidos, las levaduras conservan caracteres semejantes, sobre todo en forma y dimensiones; en la mayor parte de las células se notan granulaciones refringentes y glóbulos de grasa, y solamente en corto número de ellas el protoplasma es homogéneo, claro y transparente.



Fig. 7.—*Cryptococcus salmoneus* en cultivo de papa, a los diez días, mostrando vacuolas en sus células.

NUCLEO.—GRANULOS METACROMATICOS.—GRASA.—GLICOGENO

*Núcleo.*—Es muy difícil notar el núcleo en las células en estado vivo, aun en las que tienen protoplasma muy claro y homogéneo. Guillermond recomienda tratar las células por una solución muy diluída de ácido acético, asentando que de esta manera se puede notar el núcleo; recurrimos a la experiencia, pero no obtuvimos resultados concluyentes, ya que, en la mayor parte de los casos no se vió el núcleo, y en pocas células se llegó a esbozar un cuerpo esférico u ovoide dentro de la célula que puede confundirse, por su poca claridad, con una vacuola o un glóbulo de grasa. El único procedimiento es recurrir a las coloraciones. Para ello, hicimos frotis de levaduras de diferentes medios de cultivo, fijamos en Bouin, Zenker, formol al 10%, alcohol metílico y al calor. Teñimos con haemalum-eosina, hematoxilina de Heidenhien, azul de toluidina, azul polícromo, azul de metileno y Leishmann. En todas las preparaciones nos fué posible diferenciar el núcleo, obteniendo los resultados más precisos con haemalum-eosina, hematoxilina y Leishmann, ya que con ellos se puede notar hasta el nucleolo.

Con haemalum-eosina se observa con mucha claridad la membrana de las células teñida de violeta, el protoplasma de color rosado, el núcleo violeta y a veces un nucleolo obscuro. Con Leishmann la membrana y el núcleo toman un color rosa oscuro o violeta y el protoplasma rosado. Empleando hematoxilina-eosina, el núcleo y la membrana se ven de color obscuro, el protoplasma

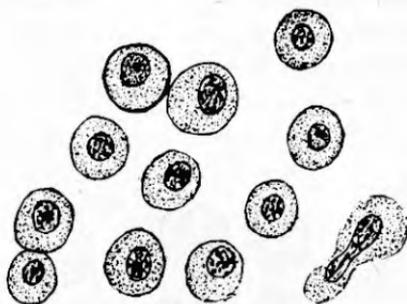


Fig. 8.—Levaduras de un cultivo de Sabouraud, teñidas con azul de toluidina, mostrando el núcleo con la cromatina.

rojo obscuro con varios gránulos metacromáticos de color vinoso. En todas las preparaciones el núcleo generalmente es céntrico, pocas veces excéntrico, esférico u ovoide, con 2 a 3.5 micras de diámetro y algunos con 4 micras. La cromatina se nota muy bien, sobre todo en los frotis teñidos con azul de toluidina y Leishmann, en forma de granulaciones o de filamentos muy pequeños. En muchos casos se observa la división directa del núcleo. El nucleolo, que no es constante, se ve como un cuerpecito esférico muy pequeño, casi siempre excéntrico.

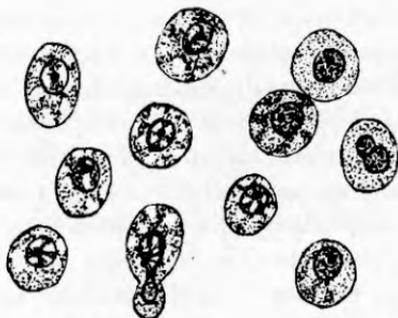


Fig. 9.—Células de un cultivo en mosto gelosado, teñidas con haemalum-eosina, mostrando sus núcleos y nucleolos.

*Gránulos metacromáticos.*—Son muy abundantes en estas levaduras y desde los primeros días de cultivo los encontramos dentro del protoplasma. Se pue-

den observar en células vivas en forma de granulaciones pequeñísimas, y refringentes y a veces animadas de movimiento browniano; se encuentran dispersas por todo el protoplasma o confinadas en una vacuola. Para la tinción, recurrimos a la hematoxilina y al azul de toluidina, previa fijación al calor o en Bouin. Con toluidina, los gránulos metacromáticos se tiñen de violeta obscuro, siendo en tal abundancia a veces, que impiden ver el núcleo. Con hematoxilina se tiñen en menor número y de color vinoso, destacándose entre ellos el núcleo. Con cualquier fijador y colorante que se use, de los que citamos, el protoplasma se retrae un poco, apareciendo la célula con menores dimensiones de las que tiene en estado vivo.

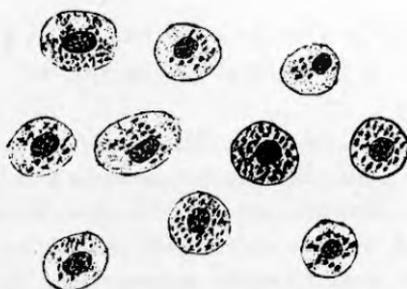


Fig. 10.—Levaduras de *Cryptococcus salmoneus* de un cultivo en Sabouraud, teñidas con hematoxilina y picroindigocarmín, mostrando sus núcleos y granulaciones metacromáticas.

*Glóbulos de grasa.*—Se notan con perfección en la célula viva en forma de esferitas refringentes de contenido homogéneo, de una a dos micras de diámetro y en raras ocasiones un poco mayores. Su número varía según el medio, la edad del cultivo y la temperatura. Se encuentran en mayor abundancia en los medios más nutritivos como el mosto, Sabouraud y Raulin. En los primeros días de cultivo son poco abundantes, existiendo en mayor número entre los 20 y los 30 días, comienzan a disminuir después y llegan a desaparecer al cabo de cuatro o cinco meses. Respecto a la temperatura, son más abundantes entre los 20° y los 30° C., pero no dejan de existir aun en las temperaturas límites, aunque en corto número. Es muy fácil distinguirlos sin necesidad de coloración por su aspecto ya descrito, pero si hay duda, basta con agregar a la preparación un poco de éter o alcohol absoluto y se notará inmediatamente su desaparición del protoplasma. Sin embargo, hicimos algunas coloraciones recurriendo al método de Romeis, fijando al calor y haciendo la tinción con Sudan III y haemalum. Los glóbulos de grasa aparecen teñidos de rojo sobre un fondo violeta muy tenue.

*Glicógeno*.—Es muy difícil identificar este compuesto, con la circunstancia de que en estas levaduras existe en pequeñas cantidades y únicamente en corto número de células de ciertos medios de cultivo. Solamente en los cultivos de papa y zanahoria nos fué posible comprobar, con precisión, la existencia del glicógeno, dentro de una o varias vacuolas. En los demás medios, aunque se forman vacuolas que probablemente tienen glicógeno, no nos fué posible comprobar su existencia, debido a la gran cantidad de granulaciones y glóbulos de grasa, y obtuvimos siempre preparaciones dudosas. Las tinciones especiales de frotis de levaduras, tomadas de los cultivos de papa y zanahoria, las logramos por el método de Best, previa fijación con alcohol absoluto.

#### TEMPERATURAS LIMITES Y OPTIMAS PARA EL BROTE Y LA FORMACION DE VELOS

La temperatura máxima del brote, después de varias pruebas, resultó estar comprendida entre 39° y 40°. En esta temperatura y a los seis días, en mosto gelosado y Sabouraud se obtienen pequeñas colonias circulares, de un color rosa muy pálido que pronto se torna café, bordes ondulados y aspecto húmedo y brillante. Respecto a las características microscópicas de las células, son muy semejantes a las ya citadas en los mismos medios de cultivo a 15° y 20°. Se producen célula circulares especialmente y algunas ovoides; el protoplasma es homogéneo y claro en unas y en la mayoría con granulaciones, aunque se notan muy pocos glóbulos de grasa; vacuolas existen en reducido número de células.

La temperatura óptima la determinamos haciendo cultivos a distintas temperaturas, comprendidas entre 20° y 30°, y llegamos a la conclusión, después de comparar varios cultivos obtenidos durante el mismo tiempo, que el punto óptimo de crecimiento está entre los 22° y 25°. A estas temperaturas las colonias tienen caracteres macroscópicos semejantes a los obtenidos a las temperaturas del laboratorio, siendo más húmedas y brillantes; en cuanto a las células, tienen una forma esférica muy regular, no existiendo tipos ovoides; el protoplasma es claro y transparente, habiendo poco número de granulaciones que a los pocos días se hacen muy numerosos, lo mismo que los glóbulos de grasa. La temperatura mínima del brote, no nos fué posible determinarla con precisión, debido a la falta de aparatos especiales; pero después de cierto número de experiencias, no creemos estar alejados al colocarla entre los 3° y los 5°, ya que a estas temperaturas nos fué dable obtener, al cabo de 12 días, pequeñísimas colonias circulares, húmedas, brillantes y de color café rosáceo. Las características microscópicas son semejantes a las ya anotadas.

La temperatura máxima para la formación del velo está situada entre 36° y 38°; la óptima, entre 26° y 28° y la mínima entre 6° y 8°.

## CARACTERES BIOQUIMICOS

*Fermentación.*—Recurrimos al método de las pequeñas fermentaciones de Lindner, con porta-objetos que poseen su cámara de fermentación. Empleamos los siguientes azúcares: sacarosa, lactosa, maltosa, manosa, levulosa, glucosa, galactosa y la dextrina e inulina. Hicimos tres pruebas con cada uno, colocando los porta-objetos a 25°. Los resultados fueron completamente negativos, aun después de 12 días de observación.

*Inversión de la sacarosa.*—Levaduras cultivadas obtenidas en mosto simple, mosto gelosado y Sabouraud, las cultivamos en tubos con una solución de 5% de sacarosa en agua estéril; se colocaron a 25°, y a las 48 horas efectuamos la prueba con licor de Feheling. El resultado fué positivo, aunque la inversión es débil.

## PODER PATOGENO

Tomando en cuenta que la mayoría de las levaduras del género *Cryptococcus* son patógenas, procedimos a efectuar las pruebas correspondientes para las cuales estudiamos, en animales de laboratorio como la rata y el cuy.

En primer lugar, hicimos escarificaciones en la piel de la parte dorsal de los animales, colocándoles levaduras en cantidad suficiente. Se observaron los animales por espacio de un mes, no presentando ni el más leve síntoma patógeno. Al mismo tiempo se efectuaron otras pruebas que consistieron en inyectar levaduras en solución de suero fisiológico estéril debajo de la piel y en el peritoneo de la rata y del cuy, y resultaron las experiencias completamente negativas. De esta manera podemos afirmar que las levaduras no son patógenas.

## AFINIDADES Y CLASIFICACION

Desde luego esta levadura posee las características del género *Torula*, por no efectuar la formación de esporas; pero teniendo en cuenta la opinión de Vuillemin, que ha creado un nuevo género, donde coloca esta clase de levaduras, o sea el *Cryptococcus*, y respetando asimismo el parecer del eminente micólogo, Guillermond, colocamos las levaduras del presente estudio dentro del género *Cryptococcus* y las identificamos, según sus características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas esenciales, con la especie *salmoneus*, estudiadas por Sartory en 1907.

## SUMMARY

The present work is the study of a yeast found in a dermatosis of human skin and which was identified as *Cryptococcus salmoneus*, studied and classified in 1907, by Sartory.

We determined the macroscopical characters of the growth in several liquid and solid cultures.

We also observed large colonies in the same cultures, in Petri dishes and Petroff dishes.

The cells are especially spherical, have heavy walls, granular protoplasm, and globules of oil, and reach dimensions of 6 to 8 microns.

The maximum temperature of germination is between 39° and 40° C., the optimum between 22° and 25° C., and the minimum between 3° and 5° C.

They do not ferment any of the sugars, invert saccharose only slightly and have not pathogenic role.

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

- ARMENTEROS, J. A.—Consideraciones sobre los hongos productores de algunas dermatomicosis. Vida Nueva. Año V. 2ª época. Tomo XVIII.
- BOULARD, H.—Etudes et recherches sur les levures. 1915.
- CARRION, A. L. y KOPPISCH, E.—Observaciones sobre las dermatosis en Puerto Rico. Comunicación de un caso de Cromoblastomicosis. The Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine. Vol. 9, Núm. 2.
- GUILLIERMOND.—The Yeasts. 1929.
- Clef dichotomique pour la détermination des levures. 1928.
- Recherches cytologiques sur les levures et quelques moisissures a formes de levures. 1902.
- HENRICI, A. T.—Molds, yeasts, and actinomycetes. 1930.
- INSUA, H. J.—Micetos que originan Dermatomicosis del hombre más comunes en Guayaquil. Revista de la Universidad de Guayaquil. Tomo IV. Año IV. Núm. 1.
- KADISCH, E.—Contribución al estudio de las dermatomicosis. Vida Nueva. Año V. 2ª época. Tomo XXVIII. Núm. 5.
- MAZZA, S., STABILE DE NUCKI, L. y CANAL FEIJOO, E. J.—Blastomicosis cutánea de forma lenta por criptococo (n. sp.) Quinta Reunión de la Sociedad Argentina de Patología Regional del Norte. Vol. I.
- NIÑO, FLAVIO L.—Blastomicosis humana generalizada por criptococo. (n. sp.) Quinta y Sexta Reunión de la Sociedad Argentina de Patología del Norte.
- PARDO-CASTELLO.—Dermatomicosis cubanas. Algunas consideraciones sobre las afecciones cutáneas producidas por los dermatofitos en Cuba. Vida Nueva. Año 7. Tomo 32. Núm. 1.
- VUILLEMIN, P.—Les champignons. 1912.
- SARTORY, A.—Cryptococcus salmonis. Bull. de la Soc. Myc. de France. Vol. XXIII. 1907.