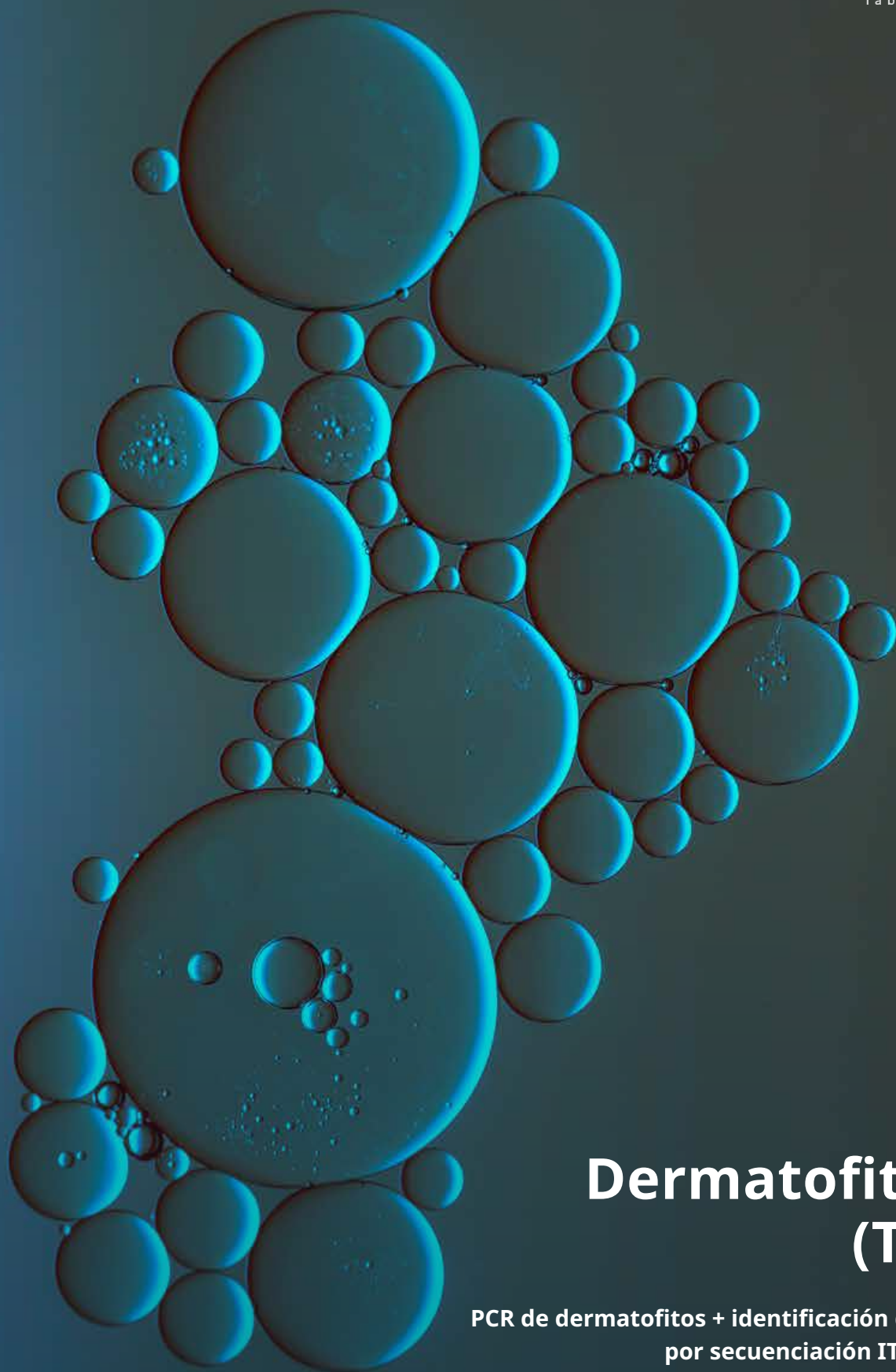




Dermatofitosis (Tiña)

**PCR de dermatofitos + identificación de especie
por secuenciación ITS (Sanger)**

Perro y gato · Material: pelo o raspado cutáneo · PCR y confirmación de especie en
5 días

Contenido

1 La tiña: confirmar que hay hongo no basta.

Reservorio, zoonosis y manejo: lo que decide la especie.

2 Qué es la prueba de PCR de dermatofitos.

Cebadores ITS1/ITS4, gel de agarosa al 3 % y controles.

3 Qué detecta: el panel de hongos.

Dermatofitos de perro y gato y especies accesorias.

4 El límite del gel: los cinco grupos de banda.

G1 a G5 y por qué G3 no distingue especie.

5 Identificación de especie por secuenciación ITS.

El mismo amplicón, leído base a base (Sanger).

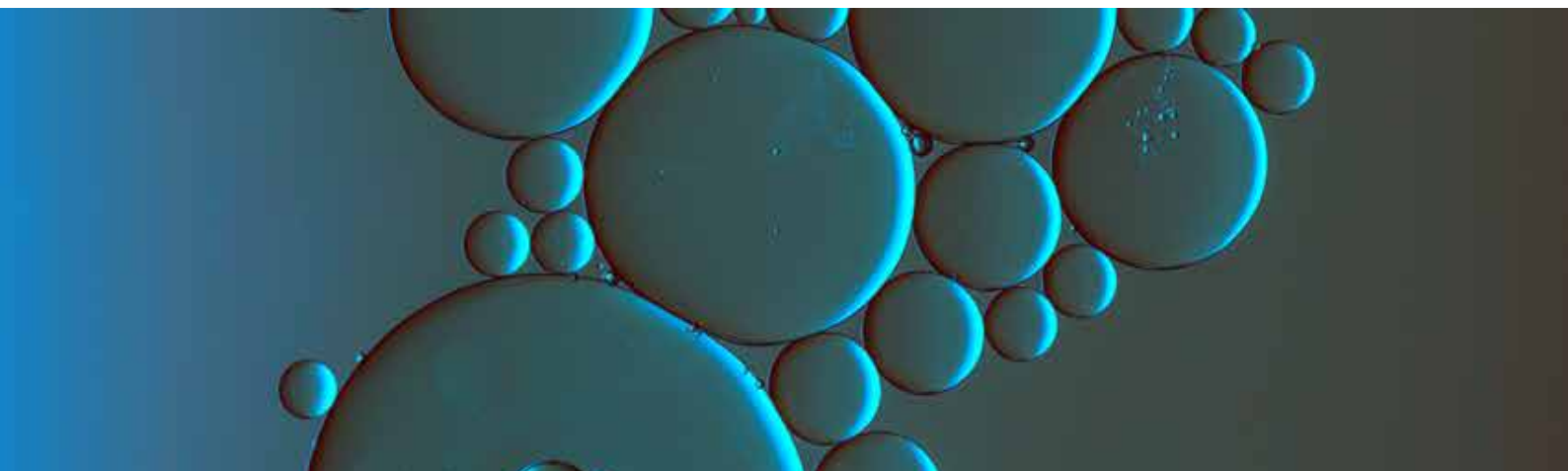
6 Interpretación estandarizada en el informe.

Los textos que se insertan en la ficha de la muestra.

7 Cómo se solicita.

Material, plazos, precios y alta en el LIS.

8 Respaldo científico: fuentes canónicas.





SECCIÓN 1

La tiña: confirmar que hay hongo no basta

■ Un problema frecuente y zoonótico

La dermatofitosis es una de las dermatosis infecciosas más frecuentes en perro y gato, y es **zoonótica**: el mismo hongo salta al conviviente humano, especialmente a niños y a personas inmunodeprimidas. En la mayoría de los casos el origen es **M. canis** (animal de compañía), pero hay hongos que llegan desde **el ganado** (*T. verrucosum*), **roedores** (*T. mentagrophytes*) o **el suelo** (*N. gypsea*): conocer la especie es conocer de dónde viene.

■ Lo que llega hoy a la clínica

La microscopía directa confirma filamentos pero **no da especie**; el cultivo tarda **2 a 4 semanas** y sigue sin discriminar cuando el crecimiento es escaso. En ambos casos la pregunta del manejo —¿quién lo trae, a quién aislar, cuánto durar el tratamiento?— queda sin respuesta.

■ Por qué importa la especie

- **Reservorio**: localizar el origen (animal, humano, ganado, roedor, ambiente) y tratarlo, si no la infección vuelve.
- **Salud pública**: orienta el aislamiento del paciente humano y la revisión de los convivientes.
- **Manejo**: unos cuadros se resuelven con tratamiento tópico y limpieza; otros exigen sistémico prolongado.
- **Control**: la reinfección sin explicación casi siempre es una fuente no identificada.

■ Dónde cambia la decisión

Momento clínico	Sin identificar la especie	Con identificación de especie
Diagnóstico	«Positivo a hongo»	Especie concreta y su procedencia
Hogar	Consejo genérico de higiene	A quién revisar y a quién aislar
Tratamiento	Pauta estándar por tiempo	Duración y profundidad según especie
Seguimiento	Recaídas sin explicación	Fuente identificada y cerrada

El laboratorio deja de informar «positivo»: informa la especie

La misma muestra de pelo o raspado, con una PCR y una secuenciación, responde a las cuatro preguntas de arriba.



SECCIÓN 2

Qué es la prueba de PCR de dermatofitos

■ Definición

Ensayo de **PCR convencional** sobre ADN extraído de pelo o raspado cutáneo que amplifica la región **ITS1-5.8S-ITS2** del cistón ribosomal con un único par de cebadores universales de hongos: **Panit-1 / ITS1** y **Panit-2 / ITS4**. Los productos se separan en **gel de agarosa al 3 %** y se tiñen con SYBR Gold: el tamaño de la banda orienta al grupo de especie.

Método y controles

Extracción automatizada de ADN (GeneRotex 96, lisis NT1 + Proteinasa K), PCR con programa de **30 ciclos** y electroforesis a 150 V. En **cada corrida** se procesan un control positivo diagnosticado y un control negativo de extracción para descartar contaminación.

Qué informa

Resultado **Negativo** o **Positivo** con el **grupo de banda (G1-G5)** y su tamaño aproximado. Cuando el grupo no discrimina especie, el informe **recomienda expresamente** la identificación por secuenciación ITS.

Qué NO es

No es un cultivo y **no identifica la especie**: devuelve la banda y el grupo. La lectura de especie se obtiene secuenciando ese mismo amplicón (prueba dsng). Tampoco valúa la respuesta al antifúngico.

Especies, material y plazo

Perro y gato. Material: **pelo o raspado cutáneo** (coletilla de la prueba). Plazo: **5 días · 21,84 €**. Se procesa con las muestras habituales del envío, sin logística adicional.

Del raspado al resultado en 5 días

Frente a las 2-4 semanas del cultivo, y con la misma muestra que ya va al laboratorio.



SECCIÓN 3

Qué detecta: el panel de hongos

Especie(s)	Origen habitual	Interés clínico
Microsporum canis	Perro y gato	El dermatofito más frecuente en pequeños animales; causa habitual de tiña en niños convivientes
Trichophyton mentagrophytes / T. interdigitale	Roedores	Complejo zoonótico; procedencia animal distinta del perro/gato
Trichophyton rubrum / T. soudanense	Antropófilo	Formas crónicas; el reservorio suele ser un humano conviviente
Trichophyton verrucosum	Ganado	Tiña de origen ganadero; especie verificada en el ensayo
Nannizzia gypsea (= M. gypseum)	Suelo	Geófilo; cuadros a menudo autolimitados en animales jóvenes
Microsporum nanum, M. audouinii	Roedores / humano	Especies menos frecuentes, incluidas en el panel
T. tonsurans, T. violaceum, T. schoenleinii, T. quinckeanum, E. floccosum	Humano / diversos	Dermatofitos de menor incidencia, también diferenciables por secuencia
Candida albicans, C. parapsilosis, Scopulariopsis brevicaulis	Oportunistas / ambiente	Detección accesoria a partir de la misma amplificación

Panel comprobado especie a especie con los cebadores ITS1/ITS4: todos se amplifican con el mismo par de cebadores y se identifican por el análisis de la secuencia. Los fragmentos no bajan de 600 pb, lo que permite lectura Sanger larga y fiable.

■ La misma PCR responde a todo el panel

No hay que elegir cebadores según la especie sospechosa: un **único par de cebadores** amplifica el panel completo, de modo que la muestra se procesa igual llegue la sospecha de donde llegue. La decisión de profundizar se toma **después**, sobre el resultado del gel.

Un raspado · un par de cebadores · todo el panel

La identificación de especie se añade encima de la misma PCR, sin repetir la muestra ni la extracción.



SECCIÓN 4

El límite del gel: los cinco grupos de banda

Grupo	Tamaño	Especies del grupo	Lectura
G1	~600 pb	Microsporum nanum	Especie única → concluyente
G2	~720 pb	Microsporum canis	Especie única → concluyente
G3	~680 pb	Microsporum gypseum (Nannizzia gypsea), Trichophyton mentagrophytes y Trichophyton rubrum	Tres especies en la misma banda
G4	~820/850 pb	Candida spp., Saccharomyces spp.	Levaduras
G5	< 600 pb	Malassezia, Cryptococcus, Candida, Penicillium y Acremonium	Cajón de levaduras y mohos

Nota: la electroforesis se hace en agarosa al 3 % a 150 V (TAE 1X) con tinción SYBR Gold y un marcador de 100 bp en cada gel; los tamaños se estiman por comparación con ese marcador, y la lectura se contrasta siempre con el control positivo y el negativo de la corrida.

G3: el grupo más frecuente y el que menos dice

Las tres especies que comparten la banda de 680 pb son **justamente las clínicamente relevantes**: *N. gypsea* del suelo, *T. mentagrophytes* de roedores y *T. rubrum* antropófilo. El gel confirma que hay hongo y que es uno de esos tres, pero **no puede elegir**: es ahí donde la secuenciación aporta la respuesta.

G5: cuando el patrón no es un dermatofito

Por debajo de 600 pb aparecen levaduras cutáneas y mohos ambientales. Un resultado en G5 **no equivale a tiña**: orienta a que la banda amplificada procede de otro hongo y que conviene confirmar la identidad de la especie.

Fuera de G1-G5

Patrones que no encajan con ninguno de los cinco tamaños se informan como **no concluyentes** y se recomienda identificación por secuencia: la banda existe, pero el tamaño no está catalogado.

El gel orienta por grupos; no identifica especie

Amplificar confirma la presencia del hongo. Decir cuál es requiere leer la secuencia de esa banda.



SECCIÓN 5

Identificación de especie por secuenciación ITS (Sanger)

■ Definición

Se secuencia **el mismo amplicón** de la PCR con el método de Sanger. La región ITS1–5.8S–ITS2 es el **código de barras universal de los hongos**: comparada con las bases de datos, devuelve el nombre de especie. La banda del gel pasa de ser una longitud a ser una **secuencia leída base a base**.

Qué resuelve

Separa las tres especies de **G3** (*N. gypsea*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*), confirma las de **G1 y G2** y da nombre a las bandas de **G4, G5 y a los patrones no concluyentes**. También distingue dentro de complejos (p. ej. *T. mentagrophytes* / *T. interdigitale*).

Cómo se hace

Banda única → purificación del producto (BDX) → Sanger. **Varias bandas** → se recortan del gel, se purifican con kit y se secuencia por separado. Muestra única, sin repetir extracción ni PCR.

Qué informa

Nombre de **especie identificada** a partir de la secuencia, con el grupo de banda del gel como control interno de coherencia. Si la secuencia no alcanza especie, se informa el nivel resuelto.

Plazo y precio

5 días desde la recepción · **22,99 €**. Se solicita **sobre el producto de PCR** de Dermatofitosis (misma muestra), como add-on de secuenciación.

■ Antes y después

Resultado del gel	Con PCR sola	Con PCR + secuenciación ITS
Banda de 680 pb (G3)	Positivo: tres especies posibles	Especie identificada
Banda de 600 o 720 pb	Grupo compatible	Especie confirmada
Patrón fuera de G1–G5	No concluyente	Identidad por secuencia

Misma muestra, mismo PCR: solo cambia que se lea la banda

22,99 € con el mismo plazo de 5 días para convertir «compatible con» en «corresponde a».



SECCIÓN 6

Interpretación estandarizada en el informe

El informe de Dermatoftosis se emite con **textos de resultado predefinidos**, cargados en el LIS y disponibles en la ficha de la muestra. Así todos los informes salen con la misma redacción, con la indicación explícita de cuándo conviene secuenciar.

Resultado emitido	Lectura y acción
Negativo (en pelo, en raspado, o en ambos)	Sin amplificación del ADN fúngico con el control de la corrida válido
Positivo · G1 (~600 pb): Microsporum nanum	Especie única del grupo → resultado concluyente
Positivo · G2 (~720 pb): Microsporum canis	Especie única del grupo → resultado concluyente
Positivo · G3 (~680 pb): N. gypsea, T. mentagrophytes, T. rubrum	Sin diferenciación por banda → se recomienda secuenciación ITS (dsng)
Positivo · G4 / G5	Levaduras y mohos; valorar identificación por secuencia
Positivo · patrón no concluyente	Fuera de G1-G5 → se recomienda secuenciación ITS (dsng)

■ Y una nota técnica en el informe

Junto a los resultados se incluye el recordatorio de que los cebadores **ITS1/ITS4 amplifican el panel completo** (incluidas *T. verrucosum* y el resto de especies verificadas), que **el gel solo orienta por grupos** y que la identificación de especie se realiza por secuenciación de la banda.

En la ficha de la muestra

Los textos se insertan en el campo de resultado con un **botón de texto tipo** o con la **tecla F2**, y se graban con el flujo normal de validación del laboratorio.

Ventaja práctica

Se elimina la redacción improvisada y la posibilidad de olvidar la **recomendación de secuenciación** en los casos G3 o no concluyentes, que son los que más se repiten.

Mismo informe, mismo criterio, cualquier turno

Once textos de resultado cubren los negativos, los cinco grupos y los casos no concluyentes.



SECCIÓN 7

Cómo se solicita

Material

Pelo o raspado cutáneo (coletilla de la prueba derp). Para la secuenciación no hace falta muestra nueva: se trabaja sobre el **producto de PCR** de Dermatofitosis.

Plazo

5 días para el PCR y **5 días** para la identificación de especie por secuenciación, ambos registrados en el LIS.

Especies

Perro y gato (pruebas para animales de compañía, no exóticos ni equinos).

Alta en el LIS

Se pide desde la ficha de la muestra como cualquier otra prueba: **Dermatofitosis (Tiña) PCR** y, si procede, **Identificación de especie por secuenciación ITS (Sanger)**.

■ Las dos pruebas, lado a lado

	PCR de Dermatofitosis	+ Secuenciación ITS (Sanger)
Qué resuelve	Presencia de hongo y grupo de banda (G1-G5)	Especie a partir de la secuencia del amplicón
Plazo	5 días	5 días
Precio	21,84 €	22,99 € (44,83 € el conjunto)
Material	Pelo o raspado cutáneo	Producto de PCR de la misma muestra
Informe	Determinación de hongos dermatofitos por PCR	Identificación de dermatofitos por secuenciación ITS (Sanger)
Indicación	Diagnóstico inicial de tiña	Banda en G3 o fuera de G1-G5, y cuadros con reservorio a aclarar

Mismo raspado · dos decisiones · 44,83 € el conjunto

Se puede pedir el PCR solo y añadir la secuenciación después, sobre la misma muestra, cuando el gel abre la duda.



SECCIÓN 8

Respaldo científico: fuentes canónicas

White et al. 1990

«Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics»: origen de los cebadores **ITS1 (Panit-1)** y **ITS4 (Panit-2)** usados en el ensayo, sobre la región ITS1–5.8S–ITS2.

Schoch et al. 2012

PNAS 109(16):6241–6246. Establece la región **ITS como código de barras universal de los hongos**: base de la identificación por secuencia en el ensayo dsng.

PNT «Dermatofitosis (Tiña)»

Protocolo normalizado interno: extracción de ADN, PCR convencional (30 ciclos), electroforesis en agarosa 3 % con SYBR Gold, controles positivo y negativo, y los **patrones de banda G1–G5**.

Verificación interna de especies

Panel comprobado **una a una** con los mismos cebadores: todas se amplifican y todas se diferencian por el análisis de la secuencia. Fragmentos de 600 a 800 pb, lectura Sanger larga.

Solicite un informe de ejemplo

Le enviamos el informe real de PCR de Dermatofitosis —con y sin secuenciación— para ver la resolución antes de pedir la primera prueba.

Laboratorio Dr. Barba — C/ Puerto Linera 14, 28935 Móstoles (Madrid) · 91 364 58 35 · www.lbbarba.es