

<https://doi.org/10.24245/drm/bmu.v68i1.9470>

Efecto de crecimiento *in vitro* de *Nocardia* spp frente a la lisozima

In vitro growth effect of *Nocardia* spp against lysozyme.

Alejandro Palma Ramos,¹ Jorge Ismael Castañeda Sánchez,¹ Laura Estela Castrillón Rivera,¹ Roberto Arenas Guzmán²

Resumen

OBJETIVOS: Estudiar el efecto *in vitro* de la lisozima en seis cepas de *Nocardia* y determinar si existe efecto inhibitor del crecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio prospectivo efectuado de marzo a diciembre de 2022 en el laboratorio de Inmunobiología de la Universidad Autónoma Metropolitana, plantel Xochimilco, en el que se crecieron seis cepas de *Nocardia* (5 aislamientos clínicos proporcionados por el Hospital General Manuel Gea González y la cepa de referencia CETC 3032) en caldo BHI; se ajustaron al tubo 1 del nefelómetro de McFarland y se colocaron en presencia de la enzima lisozima de neutrófilos humanos a diferentes concentraciones y tiempos en *buffer* de acetatos para posteriormente realizar la cuenta de microorganismos.

RESULTADOS: La lisozima mostró un efecto inhibitor del crecimiento a concentraciones de 500 y 1000 µg/mL en la cepa de *Nocardia brasiliensis* CETC 3032 a las 48 horas. *N. brasiliensis* (aislamiento clínico 1) y las cepas de *N. farcinica* y *N. asteroides* (aislamientos clínicos 3 y 4) mostraron inhibición del crecimiento bacteriano en las tres concentraciones de enzima probadas a las 24 horas.

CONCLUSIONES: La enzima lisozima tuvo un efecto inhibitor del crecimiento bacteriano en todas las cepas de *Nocardia* estudiadas.

PALABRAS CLAVE: Lisozima; *Nocardia*; *Nocardia brasiliensis*; neutrófilos humanos.

Abstract

OBJECTIVES: To study the *in vitro* effect of lysozyme on six strains of *Nocardia* and to determine whether there is a growth inhibiting effect.

MATERIALS AND METHODS: A prospective study was carried out from March to December 2022 in the Immunobiology laboratory of the Metropolitan Autonomous University, Xochimilco campus, Mexico City, in which six strains of *Nocardia* were grown (5 clinical isolates provided by the Manuel Gea González General Hospital and the reference strain CETC 3032) in BHI broth; they were adjusted to tube 1 of the McFarland nephelometer, and were placed in the presence of the enzyme lysozyme of human neutrophils at different concentrations and times in acetate buffer to later perform the count of microorganisms.

RESULTS: Lysozyme showed a growth inhibiting effect at concentrations of 500 and 1000 µg/mL in the *Nocardia brasiliensis* CETC 3032 strain at 48 hours. *N. brasiliensis* (clinical isolate 1) and *N. farcinica* and *N. asteroides* strains (clinical isolates 3 and 4) showed inhibition of bacterial growth at all three enzyme concentrations tested at 24 hours.

CONCLUSIONS: The enzyme lysozyme showed an inhibitory effect on bacterial growth on all strains of *Nocardia* studied.

KEYWORDS: Lysozyme; *Nocardia*; *Nocardia brasiliensis*; Human neutrophils.

¹ Laboratorio de Inmunobiología, Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, Ciudad de México.
² Sección de Micología, Hospital General Manuel Gea González, Secretaría de Salud, Ciudad de México.

Recibido: junio 2023

Aceptado: julio 2023

Correspondencia

Alejandro Palma Ramos
alpalma@correo.xoc.uam.mx

Este artículo debe citarse como:
Palma-Ramos A, Castañeda-Sánchez JI, Castrillón-Rivera LE, Arenas-Guzmán R. Efecto de crecimiento *in vitro* de *Nocardia* spp frente a la lisozima. Dermatol Rev Mex 2024; 68 (1): 5-12.

ANTECEDENTES

El actinomicetoma es una infección granulomatosa crónica causada por diversas bacterias filamentosas, las más frecuentes son *Nocardia brasiliensis* y *Nocardia asteroides*.^{1,2} En México el 85% de los casos son causados por *Nocardia brasiliensis*.³ En el cultivo microbiológico de *Nocardia brasiliensis* se observa un crecimiento de colonias blanquecinas plegadas que muestran hidrólisis positiva en agar caseína. En términos histológicos, la tinción de hematoxilina eosina muestra granulomas supurativos (compuestos de neutrófilos) que rodean granos actinomicóticos característicos en el tejido subcutáneo rodeado de histiocitos más allá de los cuales se ve un infiltrado inflamatorio mixto compuesto por linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos, macrófagos y fibrosis, ocasionalmente células gigantes multinucleadas.^{4,5} En los gránulos primarios de los polimorfonucleares neutrófilos (PMN), llamados azurófilos, podemos encontrar enzimas como la sintetasa del óxido nítrico, fosfatasa ácida, lisozima, proteinasa 3, tres defensinas y mieloperoxidasa; esta última es la más abundante, reacciona con el peróxido de hidrógeno y los cloruros, para producir ácido hipocloroso y cloraminas, dos potentes bactericidas. Cuatro proteasas de serina se han caracterizado: azurocidina, elastasa, catepsinas G y D que hidrolizan proteoglucanos y colágena insoluble, lo que permite fijar y atrapar las bacterias a su alrededor, y proteinasa 3 o mieloblastina. Los gránulos específicos (o secundarios) contienen lisozima, colagenasa, gelatinasa, lactoferrina, activador del plasminógeno, histaminasa y fosfatasa alcalina.

La lisozima es una enzima "bacteriolítica" que se especializa en la hidrólisis de los enlaces glucosídicos β -1,4 que se forman entre el ácido N-acetilmurámico y la N-acetilglucosamina presentes en el peptidoglucano de la pared celular de las bacterias grampositivas y en menor proporción en bacterias gramnegativas,

haciendo a esta enzima atractiva como una nueva alternativa para controlar microorganismos patógenos.⁶

La lisozima se ha considerado parte importante de un mecanismo primitivo de defensa en una gran variedad de organismos que carecen de un sistema inmunológico bien desarrollado, mientras que en organismos superiores la lisozima aparece en secreciones y tejidos mucosos con la función de protección bacteriana.⁷ Como se mencionó, esta enzima se encuentra en los gránulos primarios y secundarios de los neutrófilos, los cuales la secretan al encontrarse frente a los agentes etiológicos que producen actinomicetoma y nocardiosis. Debido a que tiene la capacidad de degradar la pared bacteriana de algunos microorganismos grampositivos, es posible que inhiba el crecimiento de bacterias del género *Nocardia*.

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto *in vitro* de la lisozima sobre seis cepas de *Nocardia* y determinar si existe un efecto inhibitorio significativo en el crecimiento de estos microorganismos expuestos a diferentes concentraciones de enzima en un lapso determinado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio prospectivo efectuado de marzo a diciembre de 2022, en el laboratorio de Inmunobiología de la Universidad Autónoma Metropolitana, plantel Xochimilco.

Se llevó a cabo el crecimiento de seis cepas de *Nocardia* en caldo BHI (infusión cerebro corazón), después se ajustaron al tubo 1 del nefelómetro de McFarland (300×10^6 UFC/mL) y se colocaron en presencia de la enzima lisozima (*lysozyme, from human neutrophils* Sigma L8402 núm. CAS 9001-63-2) a diferentes concentraciones y tiempos en *buffer* de acetatos para posteriormente realizar la cuenta de microorganismos en agar BHI.

Microorganismos

Las cepas utilizadas en este estudio fueron proporcionadas por el laboratorio de Micología del Hospital General Manuel Gea González y se identificaron de la siguiente manera:

Cepa 1: *N. brasiliensis*, referencia CETC 3032.

Cepa 2: *N. brasiliensis*, aislamiento clínico (1).

Cepa 3: *N. brasiliensis*, aislamiento clínico (2).

Cepa 4: *N. asteroides*, aislamiento clínico (3).

Cepa 5: *N. asteroides*, aislamiento clínico (4).

Cepa 6: *N. farcinica*, aislamiento clínico (5).

Cada cepa de *Nocardia* se sembró en 50 mL de caldo BHI y se creció durante 24 horas a 37°C.

Preparación de solución *buffer* de acetatos

Se prepararon 16 mL de solución *buffer*, se pesaron 0.01 g de hidróxido de sodio y se disolvieron con 5 mL de agua; por otra parte, se pesaron 0.01 g de acetato de sodio heptahidratado que se disolvieron en 10 mL de agua, ambas soluciones se mezclaron (solución A).

La solución B se preparó pesando 0.005 g de albúmina sérica bovina y se disolvieron en 10 mL de agua. Finalmente, se mezclaron 14 mL de la solución A con 2 mL de la solución B y se ajustó el pH a 6.4 con ácido clorhídrico 0.1 N (solución *buffer* de acetatos).

Preparación de la concentración de microorganismos

Para cada una de las cepas de *Nocardia* se centrifugaron 5 mL del crecimiento microbiano en caldo BHI a 7000 rpm y una temperatura de

8°C durante 30 minutos; el pellet de microorganismos se suspendió en *buffer* de acetatos hasta alcanzar la turbidez del tubo 1 del nefelómetro de McFarland (300×10^6 UFC/mL) y se realizaron 12 alícuotas de 1 mL en tubos Eppendorf, se centrifugaron a 11,000 rpm, durante un minuto, y se eliminó el sobrenadante, para posteriormente adicionar el *buffer* de acetatos con lisozima de acuerdo con la concentración y tiempo a probar.

Prueba de crecimiento microbiano en *buffer* de acetatos

Para verificar si el *buffer* de acetatos inhibe el crecimiento del microorganismo, se realizó una prueba sin la enzima, tomando muestras a diferentes tiempos para conteo de microorganismos: en t0 se toma la muestra al inicio del tratamiento, t1 a las 24 horas, t2 a las 48 horas y t3 a las 72 horas de crecimiento.

Determinación del efecto enzimático de la lisozima

Preparación de la solución Stock. Para determinar el efecto de la lisozima en cada una de las 6 cepas de *Nocardia* se utilizaron las siguientes concentraciones de enzima: 100, 500 y 1000 µg/mL. Para lograr estas concentraciones se tomaron 10 mg de lisozima y se llevaron a volumen de 10 mL de *buffer* de acetatos a pH de 6.4; a partir de esta solución se hicieron las diluciones con *buffer* de acetatos 1:10 para la concentración de 100 µg/mL, 1:2 para una concentración de 500 µg/mL, y sin diluir para la concentración de 1000 µg/mL y obtener la concentración requerida.

Una vez transcurrido el tiempo en presencia de la enzima, se centrifugó la muestra, se eliminó el sobrenadante y se reconstituyó con 1 mL de solución salina estéril para realizar la técnica del conteo microbiano.

Cuenta de microorganismos

Se realizaron 6 diluciones de cada muestra en solución salina. **Figura 1**

Se tomaron 10 µL de cada dilución y se colocaron en una placa con agar BHI (**Figura 2**) y se incubaron durante 24, 48 y 72 horas a 37°C para posteriormente realizar la cuenta de unidades formadoras de colonias (UFC/mL).

RESULTADOS

El efecto que la lisozima mostró sobre la cepa de referencia de *Nocardia brasiliensis* CETC 3032 fue que en la concentración de 500 µg/mL hubo una disminución de 150×10^6 UFC/mL en 24 horas y con una segunda disminución entre 48 y 72 horas, hasta alcanzar 80×10^6 UFC/mL, dando una disminución del crecimiento del microorganismo de 220×10^6 UFC/mL en 72 horas;

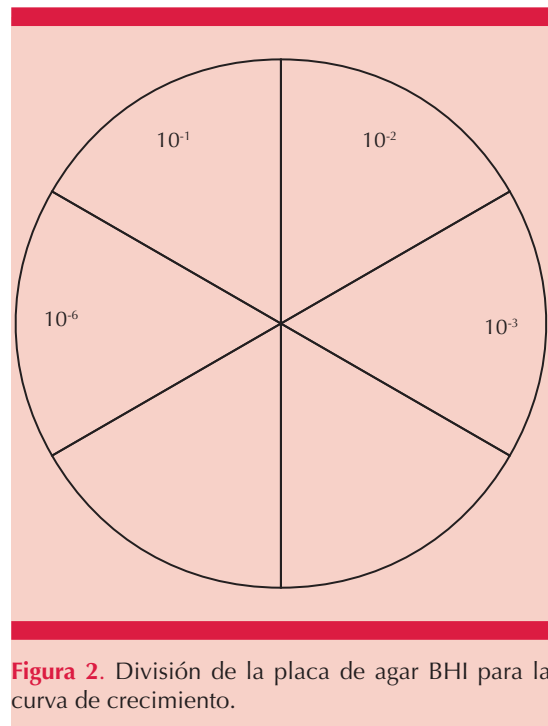


Figura 2. División de la placa de agar BHI para la curva de crecimiento.

	30 µL	30 µL	30 µL	30 µL	30 µL	30 µL	30 µL
	50 µL	270 µL	270 µL	270 µL	270 µL	270 µL	270 µL
Tiempo 0							
24 horas							
48 horas							
72 horas							
	[] inicial	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}

Figura 1. Diluciones de las muestras para el conteo de microorganismos.

en la concentración de 1000 µg/mL, se observó reducción a partir de las 24 a 48 horas con una disminución de 110×10^6 UFC/mL continuando con ésta hasta las 72 horas cuando se llegó a 130×10^6 UFC/mL; en la concentración de 100 µg/mL, no se observó ningún cambio. **Figura 3**

El efecto que mostró la lisozima en la cepa de un aislamiento clínico de *Nocardia brasiliensis* (1) fue que a las 24 horas de actividad enzimática en la concentración de 100 µg/mL mostró una disminución de 220×10^6 UFC/mL, hasta llegar a un valor de 80×10^6 UFC/mL que se mantuvo hasta las 72 horas. En la concentración de 500 µg/mL, al igual que la concentración de 1000 µg/mL, se observó una caída importante desde 300×10^6 hasta 10×10^6 UFC/mL que equivale a un logaritmo en 24 horas y se mantuvo así en las dos concentraciones, hasta las 72 horas. **Figura 4**

La lisozima en la cepa de aislamiento clínico de *Nocardia brasiliensis* (2) no mostró ningún efecto inhibitorio de crecimiento a ninguna concentración en el tiempo estudiado. **Figura 5**

El efecto en el crecimiento de los dos aislamientos clínicos de *Nocardia asteroides* (3 y 4) se observó a las 24 horas con un descenso importante de aproximadamente un logaritmo y

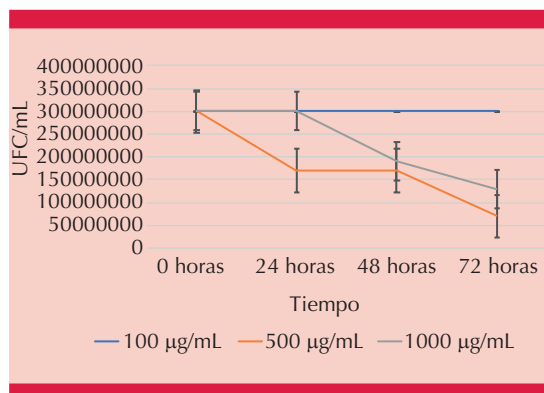


Figura 3. Efecto de la lisozima en *Nocardia brasiliensis* CETC 3032.

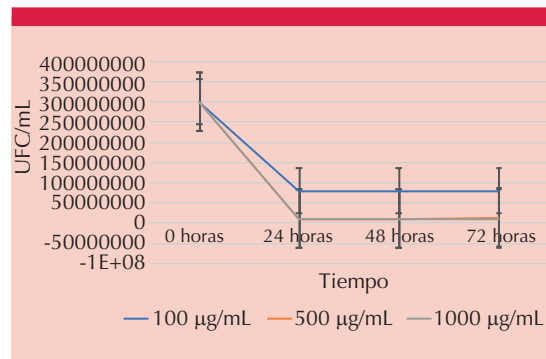


Figura 4. Efecto de la lisozima en *Nocardia brasiliensis* aislamiento clínico (1).

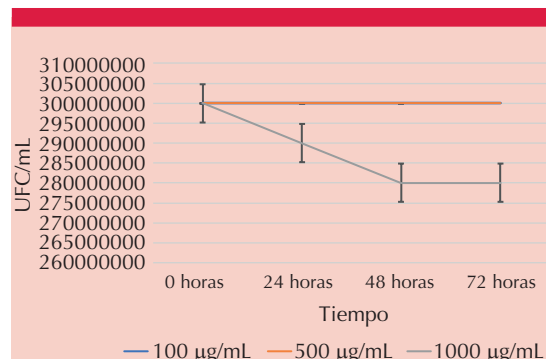


Figura 5. Efecto de la lisozima en *Nocardia brasiliensis* aislamiento clínico (2).

se mantuvo hasta las 72 horas mostrando mayor sensibilidad a la enzima que *Nocardia brasiliensis*. **Figuras 6 y 7**

Nocardia farcinica también mostró un descenso en el crecimiento considerable de aproximadamente un logaritmo a las 24 horas en presencia de la lisozima y se mantuvo así hasta las 72 horas. **Figura 8**

DISCUSIÓN

Desde que la lisozima fue descubierta por Alexander Fleming en 1922⁷ se han realizado muchos

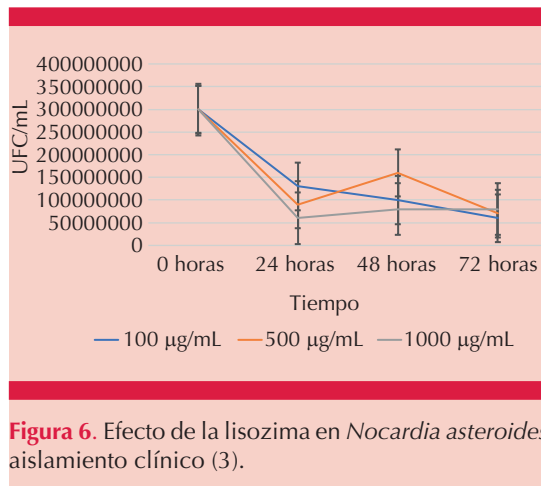


Figura 6. Efecto de la lisozima en *Nocardia asteroides* aislamiento clínico (3).

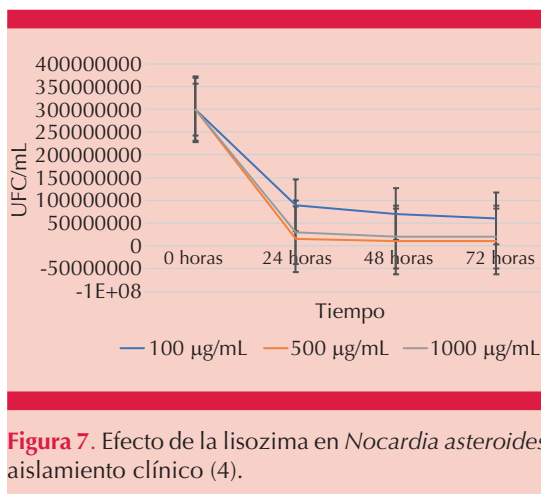


Figura 7. Efecto de la lisozima en *Nocardia asteroides* aislamiento clínico (4).

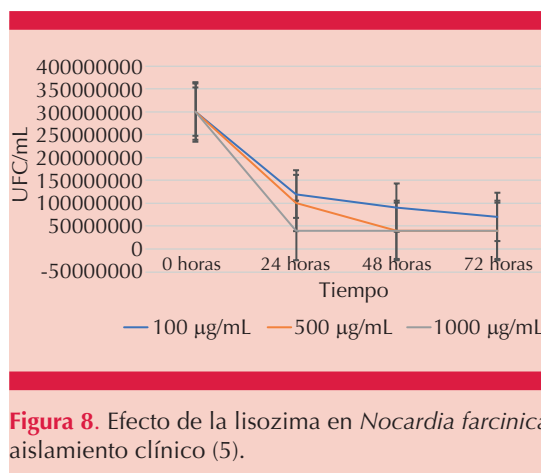


Figura 8. Efecto de la lisozima en *Nocardia farcinica* aislamiento clínico (5).

trabajos para describir las distintas actividades biológicas; además de ser uno de los principales componentes de los gránulos primarios y secundarios de los neutrófilos, es el principal producto de secreción de los macrófagos.^{7,8,9} Esta enzima actúa destruyendo las paredes celulares de bacterias grampositivas por ruptura del enlace β -(1-4) entre el ácido N-acetilmurámico (NAM) y N-acetilglucosamina del peptidoglicano (NAG), debilitando así la pared celular.¹⁰ Es importante hacer notar que la enzima lisozima en las diferentes cepas de *Nocardia* probadas mostró un efecto inhibitor del crecimiento bacteriano en las diferentes concentraciones de enzima probadas y, sabiendo que está presente en las células encargadas de la inflamación, es un aliado importante en la inhibición del crecimiento una vez que este microorganismo ha sido fagocitado por estas células.

Aunque se ha reportado que la mayor parte de las bacterias afectadas por lisozimas no son patógenas, la lisozima puede actuar como una opsonina innata uniéndose a la superficie bacteriana, facilitando la fagocitosis de las bacterias antes de la llegada de las opsoninas del sistema inmunológico. Como enzima funciona atacando a los peptidoglicanos, lo que explica su localización en la pared celular de las bacterias, especialmente en las grampositivas.^{6,11}

Aunque el efecto de la lisozima está dirigido principalmente hacia la pared celular bacteriana, en estudios recientes se ha demostrado su actividad antifúngica por su capacidad para hidrolizar la pared celular de hongos y levaduras como *Aspergillus parasiticus* cuando se combina con otros compuestos como el quitosano y carragenina. Se ha sugerido como mecanismo de acción su capacidad para hidrolizar los enlaces glicosídicos β -(1-4) entre las moléculas de N-acetilglucosamina que forman la quitina.¹²

Existen reportes relacionados con la sensibilidad de la lisozima de la clara de huevo contra hongos

dimórficos como *Paracoccidioides brasiliensis*¹³ y contra *C. albicans*,^{14,15} así como la lisozima humana que es activa contra *A. fumigatus*.^{16,17,18}

Otra actividad relacionada con la lisozima resulta del papel que juega como agente inmunomodulador en la dinámica de la relación hospedero-parásito, esto es importante que sea considerado un mecanismo que permite mantener bajo control la respuesta inmunitaria innata.^{19,20,21}

Sin embargo, de acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación, la lisozima muestra un efecto inhibitor del crecimiento a concentraciones de 100, 500 y 1000 µg/mL. Los estudios de las cepas CETC 3032 de *Nocardia brasiliensis* y *N. brasiliensis* (aislamiento clínico) muestran inhibición del crecimiento bacteriano a las 24 horas de actividad enzimática; sin embargo, la cepa CETC 3032 de *Nocardia brasiliensis* no muestra efecto en la concentración de 100 µg/mL. Las gráficas de las cepas de *N. farcinica* y *N. asteroides* (aislamientos clínicos) indican que también hubo inhibición del crecimiento en las tres concentraciones probadas a las 24 horas.

En general, en este estudio se observó que existe un efecto inhibitor del crecimiento bacteriano en las cepas de *Nocardia* en presencia de lisozima.

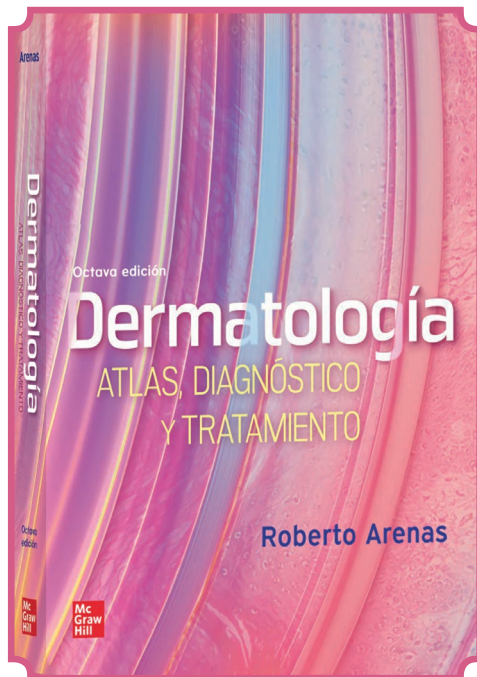
CONCLUSIONES

La enzima lisozima tuvo un efecto inhibitor del crecimiento bacteriano sobre todas las cepas de *Nocardia* estudiadas.

REFERENCIAS

- Pardo M, Bonifaz A, Valencia A, Araiza J, Mejia SA, Mena C. Actinomycetoma by *Nocardia brasiliensis* in a girl with Down syndrome. *Dermatol Online J* 2008; 14 (8): 9. DOI: 10.1016/j.anpedi.2010.02.021.
- Gugnani HC, Sehgal VN, Singh VK, Boiron P, Kumar S. *Nocardia asteroides* mycetoma of the foot. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002; 16: 638-649. DOI 10.1046/j.1468-3083.2002.00653_3.x.
- Bonifaz A, Flores P, Saúl A, Carrasco-Gerard E, Ponce RM. Treatment of actinomycetoma due to *Nocardia* spp. with amoxicillin-clavulanate. *Br J Dermatol* 2007; 156: 308-311. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2006.07557.x>.
- Hernández BP, Mayorga J, Pérez ME. Actinomycetoma por *Nocardia brasiliensis*. *An Pediatr* 2010; 73 (4): 213-226. DOI: 10.1016/j.anpedi.2010.02.021.
- Alam K, Maheshwari V, Bhargava S, Jain A, Fatima U, Haq EU. Diagnóstico histológico del pie de Madura (micetoma): imprescindible para el tratamiento definitivo. *J Glob Infect Dis* 2009; 1 (1): 64-67. doi: 10.4103/0974-777X.52985.
- Gálves-Irriqui AC, Plascencia-Jatomea M, Bautista-Baños S. Lysozymes: characteristics, mechanism of action and technological applications on the control of pathogenic microorganisms. *Mex J Phytopathology* 2020; 38 (3): 360-383. DOI: 10.18781/r.mex.fit.2005-6.
- Carrillo TW. Lisozima: Actividad antibacteriana y alergenidad. Actualización en *Nutrición* 2013; 14 (4): 314-326.
- Ganz T, Gabayan V, Liao H, Liu L, Oren A, Graf T, Cole AM. Increased inflammation in lysozyme M-deficient mice in response to *Micrococcus luteus* and its peptidoglycan. *Blood* 2003; 101 (6): 2338-92. DOI: 10.1182/blood-2002-07-2319.
- Cho JH, Fraser IP, Fukase K, Kusumoto S, Fujimoto Y, Stahl G, Ezekowitz AB. Human peptidoglycan recognition protein S is an effector of neutrophil-mediated innate immunity. *Blood* 2005; 106: 2551-2555. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-02-0530>.
- Ibrahim HR, Yamada M, Kobayashi K, Kato A. Bactericidal action of lysozyme against Gram-negative bacteria due to insertion of a hydrophobic peptide into its C-terminus. *Biosci Biotech Biochem* 1992; 56: 1361-1363. DOI: 10.1271/bbb.56.1361.
- Lesnierowski G, Cegielska-Radziejewska R, Kijowski J. Thermally and chemically modified lysozyme and its bacteriostatic activity. *World's Poultry Science Journal* 2004; 60: 303-309. <https://doi.org/10.1079/WPS200318>.
- Hernández-Tellez CN, Cortés-Rocha MO, Burgos-Hernández A, Rosas-Burgos EC, Lizardi-Mendoza J, Torres-Arreola W, Plascencia-Jatomea M. Chitosan/carrageenan/lysozyme particles: Synthesis, characterization and antifungal activity against *Aspergillus parasiticus*. *Rev Mex Ing Quim* 2018; 17 (3): 897-912.
- Lopera D, Aristizabal BH, Restrepo A, Cano LE, González A. Lysozyme plays a dual role against the dimorphic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2008; 50 (3):169-175. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652008000300008>.
- Sebaa S, Hizette N, Boucherit-Otmani Z, Courtois P. Dose-dependent effect of lysozyme upon *Candida albicans* biofilm. *Mol Med Reports* 2007; 15 (3): 1135-1142. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6148>.

15. Ibrahim RH, Imazato K, Ono H. Human lysozyme possesses novel antimicrobial peptides within its N-terminal domain that target bacterial respiration. *J Agric. Food Chem* 2011; 59: 10336-10345. <https://doi.org/10.1021/jf2020396>.
16. Woods CN, Hooper DN, Ooi EH, Tan L-W, Carney AS. Human lysozyme has fungicidal activity against nasal fungi. *Am J Rhinology & Allergy* 2011; 25 (4): 205-208. <https://doi.org/10.2500/ajra.2011.25.3631>.
17. Mena R, Carrasco E, Godoy MP, Stchigel AM, Cano LJ, Zaror L. Un caso de queratitis micótica por *Fusarium solani* en Valdivia. *Rev Iberoam Micol* 2015; 32 (2): 106-110. <http://dx.doi.org/10.1016/j.riam.2013.12.001>.
18. Manikandan M, Balasubramiam R, Chun SC. A single step purification of cauliflower lysozyme and its dual role against bacterial and fungal plant pathogens. *Appl Biochem Biotechnol* 2015; 177 (2): 556-566. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1747-3>.
19. Ragland SA, Criss AK. De la matanza bacteriana a la modulación inmune: información reciente sobre las funciones de la lisozima. *PLoS Pathog* 2017; 21; 13 (9): e1006512. doi: 10.1371/journal.ppat.1006512.
20. Sukhithasri V, Nisha N, Biswas L, Kumar VA, Biswas R. Innate immune recognition of microbial cell wall components and microbial strategies to evade such recognitions. *Microbiol Res* 2013; 168 (7): 396-406. <https://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2013.02.005>.
21. Grishin VA, Karyagina SA, Vasnja VD, Vasnja VI, Gushchin AV, Lunin GV. Resistance to peptidoglycan-degrading enzymes. *Crit Rev Microbiol* 2020; 46 (6): 703-726. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2020.1825333>.



Arenas R. Dermatología. Atlas, diagnóstico y tratamiento. 8ª ed. McGraw-Hill, 2024.

La octava edición de *Dermatología. Atlas, diagnóstico y tratamiento* conserva los aspectos de la especialidad fundamentales para el estudiante de medicina y el médico general, pero ha sido actualizada para facilitar la consulta diaria del dermatólogo y del médico internista. Se han incluido datos relevantes sobre las dermatosis relacionadas con la COVID-19 y la viruela símica.

Cuenta con 175 capítulos y 2 apéndices; se analizan más de 250 enfermedades y se presentan más de 1600 ilustraciones sobre las diferentes dermatosis. Las imágenes clínicas y microscópicas cuentan con gran calidad y muestran los aspectos más representativos de las diferentes dermatosis, así como de su con-

texto histopatológico y dermatoscópico. Este libro ha devenido en material de consulta insustituible para el dermatólogo, el patólogo, el micólogo y cualquier especialista en las enfermedades de la piel y las mucosas.

Esperamos que siga con el mismo éxito de las ediciones anteriores.