

1.-GENERALIDADES

Mykes (gr.) = seta, su raíz combinante: miceto -> Micetología -> "Micología"

Sphongos (gr.) = esponja -> fungi (lat.) -> fúngico, Reino Fungi .

-El reino de los hongos comprende las setas, los champiñones, los hongos microscópicos y los mohos.

-Todos tienen un importante papel en la naturaleza ya que degradan y reciclan la materia orgánica muerta, merced a sus numerosas posibilidades metabólicas de tipo quimioheterotrofo.

-La mayoría son aerobios. Algunos son anaerobios facultativos y unos pocos son fermentadores.

La ciencia que estudia los hongos es la Micología.

Las enfermedades en humanos se llaman MICOSIS

Los hongos de interés para el TSS se pueden clasificar en dos grandes grupos:

-Levaduras: unicelulares

-Mohos: pluricelulares

1.1.-Estructura

-Los hongos, como células eucariotas que son, poseen núcleo, nucleolo, retículo endoplásmico, ribosomas, mitocondrias, vacuolas, cuerpos lipídicos y otras inclusiones, todo ello rodeado por una membrana bicapa y una pared celular. Algunos desarrollan cápsula y su reproducción puede ser sexual y/o asexual y se describen a continuación:

1.1.2.-MEMBRANA

-Contienen fosfolípidos y esteroides como las células eucariotas superiores. Los esteroides a diferencia de los mamíferos (en donde predomina el colesterol) son principalmente el ergosterol y su precursor zimosterol. Son esenciales para su viabilidad y se utilizan como órgano diana para el desarrollo de fármacos antifúngicos como los polienos (anfotericina B, nistatina, etc..) que se combinan con el ergosterol produciendo una alteración de la permeabilidad de la membrana o los compuestos de imidazol, triazol, alilaminas o amorolfina que inhiben su síntesis en distintos niveles de su ruta metabólica.

1.1.3.-PARED

Su principal función es proteger al hongo del shock osmótico y darle rigidez. Está compuesta por polímeros polisacáridos fibrilares como la quitina, celulosa..y sustancias amorfas como b-glucanos y mananos. Estos últimos pueden comportarse como Ag. de pared. La presencia y concentración de cada uno de los polímeros polisacáridos definirá los diversos grupos taxonómicos. A diferencia de lo que ocurre con el peptidoglucano de la pared bacteriana, convertido en órgano diana de varios antimicrobianos extensamente utilizados, la pared fúngica con su alta variedad de su composición bioquímica dificulta el hallazgo de antifúngicos que interfieran su síntesis. A pesar de ello se están investigando dos grupos: los que inhiben la síntesis de quitina y b-glucano.

1.1.4.- CÁPSULA: Algunos hongos unicelulares (levaduras) producen cápsula de similar composición y utilidad que las de las procariotas

1.1.5.-REPRODUCCIÓN

-Puede hacerse de dos formas: -Asexual, simplemente por mitosis y sexual a través de la meiosis celular.

-ASEXUAL: -gemación.

-*esporas*. La producción de esporas tiene lugar a través de la formación de unos elementos resistentes y diferenciados que son las propágulas asexuales (hifas reproductoras). Estas pueden ser de dos tipos: esporangioesporas y conidios.

-Las primeras se encuentran dentro de una estructura globulosa denominada esporangio. Las segundas se forman a partir de células especializadas en una estructura hifal :el conidióforo. En la conidiogénesis se pueden formar a su vez: conidios tálicos, dentro del thallus o cuerpo como la artroconidia, y blásticos, producidos por un proceso de gemación o crecimiento polar en la célula conidiógena como la blastoconidia, fialoconidia (fiálide o botella de la que emergen), alenoconidia (anillo por cada una), etc..

-SEXUAL

Cuando dos núcleos haploides compatibles se unen formando un núcleo diploide, después del la meiosis, surgen un número par de células denominadas esporas sexuales (ej. zigosporas, ascosporas, oosporas).

1.1.6.-ESTRUCTURAS VEGETATIVAS: **MOHOS**

-El TALO o COLONIA de moho consiste en largos filamentos celulares agrupados.

-Estos filamentos se llaman HIFAS. En la mayoría de los mohos las hifas contienen unos tabiques llamados SEPTOS que dividen a las hifas en unidades diferenciadas, mononucleares, semejantes a células. Este tipo de hifas se denominan HIFAS TABICADAS, sin embargo, en algunas clases de hongos la hifa no contiene tabiques y aparecen como largas células continuas con numerosos núcleos. Estas se conocen como HIFAS CENOCÍTICAS.

-Las hifas del talo crecen alargándose por sus extremos. Cada parte de una hifa es capaz de crecer y, cuando se separa un fragmento, puede alargarse para formar una nueva hifa. Cuando las condiciones ambientales son apropiadas las hifas crecen, se entrelazan y forman una masa llamada MICELIO. La parte del micelio implicada en la obtención de nutrientes de llama MICELIO VEGETATIVO y la relacionada con la reproducción MICELIO REPRODUCTOR o AEREO, llamado así porque se proyecta sobre la superficie del medio en el que crece el hongo.

1.1.7.-LEVADURAS

-Son hongos unicelulares no filamentosos, con una morfología característica esférica u ovalada, de 3 a 10 micras de diámetro. La mayoría de las levaduras forman colonias de organismos unicelulares y la colonia crece a medida que aumenta el número de levaduras. Este aumento suele ocurrir por gemación. En la gemación, la célula forma una protuberancia o yema sobre su superficie externa. Algunas especies de levaduras forman yemas que no logran separarse y dan lugar a una corta cadena de células llamada "Pseudohifa".

-Las levaduras son capaces de crecer como anaerobias facultativas. Si disponen de oxígeno, realizan la respiración aeróbica para metabolizar azúcares hasta CO₂ y H₂O. Por el contrario, si carecen de oxígeno, fermentan azúcares produciendo Etanol y CO₂.

1.1.8.-HONGOS DIMÓRFICOS

-Algunos hongos y especialmente, las especies patógenas, muestran dimorfismo, es decir, dos formas de crecimiento. Estos hongos pueden crecer como "moho" o como levadura. A menudo, este dimorfismo depende de la temperatura de incubación: a 37°C el hongo es levaduriforme mientras que a 25°C es filamentosos.

2.-NOMENCLATURA-CLASIFICACIÓN

El reino de los hongos está subdividido jerárquicamente, reconociéndose por su terminación latina. Así:

- División: mycota
- Subdivisión: mycotina
- Clase: mycetes
- Subclase: mycetidae
- Orden: ales
- Familia: aceae

Según el tipo morfológico de esta espora así como el tejido o estructuras que lo sostienen, los hongos se clasifican en las siguientes divisiones:

- Myxomycota
- Chytridiomycota
- Oomycota
- Zygomycota
- Ascomycota
- Basidiomycota

Hay un grupo del cual solo se conoce su reproducción asexual y por tanto están excluidos a priori de esta clasificación. Se denominan Fungi imperfecti y en la clasificación se les incluye

con el nombre de Deuteromycota - mycotina - mycetes.

Su importancia estriba en que la mayoría de hongos patógenos antropofílicos pertenecen a esta división (dermatofitos y levaduras).

3.-ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR HONGOS EN EL SER HUMANO

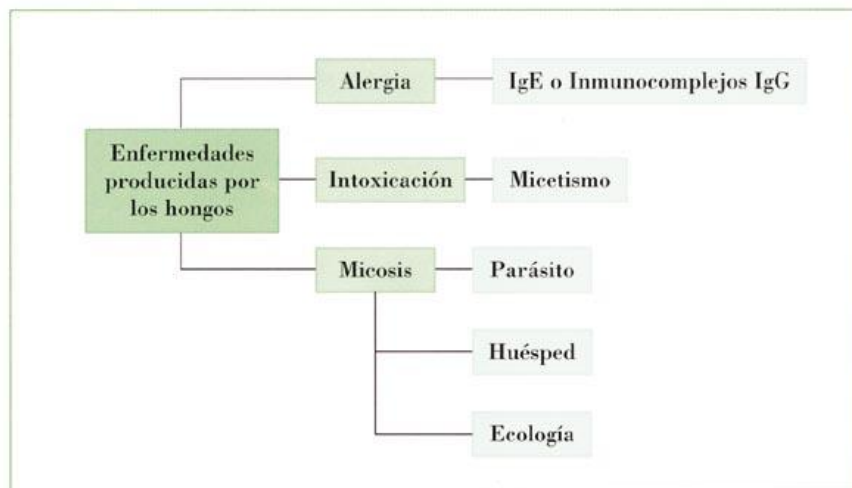
Según su mecanismo patogénico pueden dividirse en:

3.1.- Alergia

Por sensibilización a sus antígenos de pared. Se produce por inhalación de conidias, esporas o fragmentos miceliales de algunas especies fúngicas induciendo una inmunorrespuesta mediada por IgE o por formación de inmunocomplejos IgG. Esto da lugar a la aparición de sintomatología clínica en forma de rinitis, asma bronquial y alveolitis o neumonitis generalizada. Esta última conocida clásicamente como el "pulmón del granjero" se ha visto relacionada con la exposición a aires acondicionados. Las conidias / esporas pueden colonizar en las biomasas de los sedimentos en las conducciones.

3.2.-Intoxicación (toxinas)

La intoxicación clásica (micetismo) se caracteriza por su manifestación en dos tiempos: en el primero y tempranamente aparecen síntomas digestivos y en el segundo, de las 18 a 24 horas, insuficiencia renal y hepática con afectación neurológica. Se produce a través de unos metabolitos secundarios llamados amatoxinas (*Amanita phalloides*). Otras especies (*Boletus satanas*) solo producen sintomatología de tipo digestivo reversible. Existen otro tipo de toxinas que tienen capacidad mutagénica y carcinógena (micotoxinas). Se denominan aflatoxinas y son tumorígenas para animales, no existiendo evidencias de que lo sean para el ser humano..



3.3.-Micosis

La colonización o invasión de una especie fúngica se denomina micosis. La mayoría se adquieren por inhalación o inoculación de conidias o esporas. El tipo de micosis va a depender de las propiedades tanto del parásito (capacidad patógena) como del huésped (inmunidad) como de la ecología (distribución y acceso o terreno adecuado). Hay especies saprofitas de distribución universal (*Aspergillus*), otras en zonas geográficas concretas (micosis endémicas - *Coccidioides immitis*) y un tercer grupo cuyo hábitat es la piel y mucosas del ser humano (*Malassezia furfur*, *Cándida albicans*).

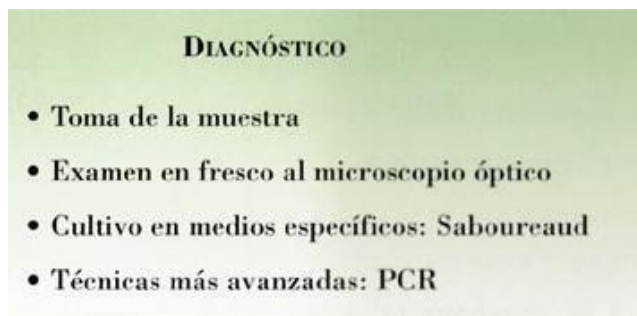
El modo de transmisión será para las especies saprofitas por inhalación o inoculación y para las comensales por contacto o endógena (de tejido a tejido) por lo que depende de la inmunidad del huésped (normalmente habrá un equilibrio estable).

La mayoría de las dermatofitosis se adquieren por contacto interhumano (especies antropofílicas) o con animales (especies zoofílicas). Las micosis pueden estar producidas por hongos "patógenos" y por "oportunistas". En los primeros, la infección depende de la cantidad de inóculo y la inmunorrespuesta provocará la aparición de un granuloma (*Histoplasma*). En los segundos influirá la disminución de la inmunorrespuesta del huésped (*Candida*).

La respuesta inmunitaria del huésped (inmunidad celular) no es la única barrera defensiva de que dispone el ser humano. La temperatura y el potencial "redox" merecen destacarse. La mayoría de hongos crecen a una temperatura inferior a la del ser humano y en un ambiente menos reducido que el de los tejidos vivos (material en descomposición). Los hongos saprófitos para parasitar se han de adaptar a estas circunstancias. También los ácidos grasos saturados del sebo ofrecen una protección, por su efecto fungistático y fungicida, explicando por qué son raras las infecciones por *Microsporum ovale* en adolescentes que presentan una seborrea importante.

4.-DIAGNÓSTICO DE LAS MICOSIS

Para un correcto diagnóstico es imprescindible seguir los siguientes pasos:



4.1. -Toma de la muestra

Hay que tener en cuenta:

- que el enfermo no haya recibido tratamiento antimicótico (general o local) en al menos los 7 días anteriores
- si la lesión es seca y escamosa, hay que recoger el material con un escalpelo (escamas) del borde de la lesión y depositarlo sobre un portaobjetos estéril
- si es exudativa, untando una torunda convencional en las lesiones pilosas, hay que recoger los pelos rotos o descoloridos con unas pinzas de depilar. En las lesiones ungueales la muestra se ha de tomar de la zona subungueal, recortando la uña y raspando la hiperqueratosis.
- Muestras de la Piel: se deben recoger abundantes escamas de la zona lesionada, preferiblemente de los bordes o bien pasar un trozo de moqueta especial y estéril varias veces por la lesión.
- Muestras de la Cabeza: recoger las escamas, los pelos (con raíz) o pasar la moqueta.
- Muestras de las Uñas: tomar fragmentos pequeños de las uñas, o un raspado subungueal. Si hay un exudado periungueal se recogerá la muestra con una torunda estéril.
- Lesiones en pliegues (interdigitales, inguinales, submamarios, labiales,...): recoger escamas o pasar la moqueta. Si la lesión es exudativa y no se pueden recoger escamas, la muestra se tomará con una torunda o mediante pases de moqueta.
- Lesiones en mucosas oral, balanoprepucial, etc: se recogerá un exudado mediante una torunda. Se tomarán preferiblemente dos muestras, una para examen microscópico y otra para la siembra en un medio de cultivo.

Es importante que si las lesiones tienen más de una localización, se realicen tomas separadas. Además, en los volantes deberá aparecer la fecha de la toma de muestra, la localización de la lesión y tipo de muestra que se ha tomado, junto con otros datos de interés personales.

4.2.-EXAMEN AL MO

Materiales

- Portas y Cubres
- Placas de petri estériles
- Torundas
- Bisturí y pinzas de disección
- Espátulas de siembra
- Asas de siembra

- Pipetas estériles y no estériles
- Papel celo
- Cinta adhesiva
- Guantes
- Laca de uñas para sellar portas

Reactivos

- Suero salino
- KOH (Hidróxido potásico) ó Dimetil Sulfóxido
- Azul Algodón Lactofenol: colorante para el examen directo o para teñir hongos de un medio de cultivo.
- Tinta china
- Alcohol de 70°.

-Examen microscópico directo

Se realiza a partir de muestras obtenidas de lesiones. Es el método más simple y más rápido para establecer un diagnóstico presuntivo de micosis, ya que no necesita de incubación. Si la muestra no es abundante hay que dar prioridad al cultivo, frente al examen directo.

Preparación de la muestra:

- En el caso de tejidos: cortar, trocear, machacar, etc.
- En el caso de líquidos: concentrar por centrifugación.
- En el caso de uñas: trocear, repartir en fragmentos, etc.
- Si son otras muestras como escamas, pelos, etc, no es necesaria una preparación previa, sino que se hace directamente el examen.

-TÉCNICAS Y TINCIONES PARA EL EXAMEN DIRECTO:

1. Examen Directo con Solución Salina

Colocamos una gota de la muestra líquida en un porta y añadimos una gota de solución salina. Ponemos el cubre y observamos al microscopio con poca luz y variando el aumento. Los hongos se observan refráctiles o brillantes, ligeramente verdosos. En el caso de las levaduras pueden aparecer inclusiones. También se pueden observar burbujas de diferentes tamaños. No debemos confundir las levaduras con hematíes y con burbujas de aire. Se diferencian porque las levaduras presentan pequeñas inclusiones en la célula y las burbujas van a ser siempre de diferentes tamaños.

2. Hidróxido Potásico con Dimetil Sulfóxido

No es necesario calentar la preparación, de esta forma no aparecen precipitados. Las muestras de pelos, escamas y biopsias se observan con poca luz.

Es importante no confundir artefactos como fibras de tejidos, granos de polen, etc, con hongos. Otra causa de error es lo que se denomina "hongos en mosaico", que suele aparecer cuando las muestras están muy queratinizadas. Suelen ser acúmulos lipídicos que desaparecen cuando se calienta la preparación.

Colocamos la muestra en pequeñas porciones sobre un porta y añadimos varias gotas de KOH + Dimetil y ponemos el cubre. Observamos los elementos fúngicos (hifas, levaduras, etc).

Si la muestra observada son uñas muy queratinizadas, el tiempo que actúa del KOH es de varias horas. Es conveniente dejar el porta en una cámara con ambiente húmedo (placa de petri con un algodón empapado en agua dentro).

3. Azul Algodón de Lactofenol

Se realizan las preparaciones a partir de cultivos. El fenol destruye la flora acompañante y organismos; el ácido láctico conserva las estructuras fúngicas y el azul algodón tiñe la quitina de las paredes fúngicas.

Añadimos una gota de la muestra o una porción del hongo en un porta. Sobre ella colocamos una gota de azul algodón y ponemos el cubre. Observamos al microscopio.

4. Blanco de Calcofluor

Se realiza un examen directo sea cual sea la muestra. Es útil en cortes de tejidos.

Colocamos en un porta la muestra + 1 gota de KOH dimetil sulfóxido + 1gota de calcofluor. Mezclamos y ponemos el cubre. Después de varios minutos se ha producido la clarificación, y se observa en un microscopio de fluorescencia (verde brillante o blanco azulado). Las fibras elásticas y colágeno se observan con fluorescencia amarillo verdosa y se pueden confundir

con hongos y levaduras; se diferencian en la fluorescencia.

Hay algunos hongos ("hongos dematiaceos") que producen enfermedades como micetomas que se tiñen con gran dificultad usando el blanco de calcofluor.

5. Colorante de Cobre (tinta parker-KOH)

Para el diagnóstico de Malassezia furfur se tiñen intensamente de color azul.

La tinta china se utiliza en muestras de LCR y exudados. La usamos siempre que busquemos Cryptococcus neoformans.

La técnica consiste en añadir 1 gota de tinta china junto con 3 gotas de la muestra, dejar reposar, apareciendo un color marrón (la cápsula se rodea con un halo blanco).

6. Tinción de Gram

Se realiza para la identificación de hongos cuando pueden encontrarse bacterias. Suelen ser Gram+ y la única consideración a tener en cuenta es que el cristal violeta hay que mantenerlo por más tiempo.

Otras técnicas histológicas o tinciones: Plata Metalamina; Hematoxilina; Tinción Wright.

EXAMEN DIRECTO Y CULTIVO

Las muestras a partir de las cuales se realizan son:

- Exudados óticos
- Secreciones respiratorias
- Biopsias
- Cepillados esofágicos
- Escamas
- Pelos y uñas

4.3.-MEDIOS DE CULTIVO

Para el aislamiento primario de los hongos, se utilizan diversos medios de cultivo. Estos medios hay que seleccionarlos en función del hongo que se sospeche y del tipo de muestra.

Los medios de cultivo se pueden utilizar en tubos cerrados con tapón de rosca o en placas de petri. La gran superficie de estas últimas facilita el aislamiento y la dilución de sustancias inhibitorias en las muestras. Es importante que el medio no se desecue por lo que el espesor de las mismas debe ser por lo menos de 25 mm, aproximadamente 35-40 mL de medio. Las placas se contaminan con facilidad durante la incubación, por lo que es aconsejable sellarlas con cinta adhesiva. Los medios en tubo tienen la ventaja de que no se deshidratan y se contaminan menos, pero en cambio tienen menos superficie.

Si la muestra es de una zona contaminada se deben incluir medios que contengan Cloranfenicol y Cicloheximida. El primero inhibe los contaminantes bacterianos y el segundo inhibe el crecimiento de hongos saprofitos. Hay algunas especies patógenas que pueden ser inhibidas por ambos, por esta razón es importante usar medios con y sin agentes inhibidores. Las muestras de zonas estériles pueden inocularse en medios sin sustancias inhibitorias.

La temperatura de incubación debe ser seleccionada teniendo en cuenta el tipo de hongo, en general, los medios deben incubarse a 25°C y a 37°C durante 4 semanas antes de considerarse como negativos.

Si se emplean tubos con tapón de rosca deben estar flojos para permitir la entrada de aire.

Medios más utilizados

- *Agar Dextrosado de Saboureaud con Cicloheximida y Cloranfenicol*: se utiliza para el aislamiento e identificación de dermatófitos y Cándidas.
- *Agar Dextrosado con Cloranfenicol sin Cicloheximida*: se utiliza para el aislamiento e identificación de patógenos ambientales y oportunistas.
- *Agar de harina de maíz ("Corn Meal Agar")*: -*Suplementado con Tween 80*: para diferenciar distintas especies de Cándida y para realizar subcultivos ya que estimula la esporulación de hongos miceliales.
- -*Suplementado con 10 gramos de Glucosa*: para diferenciar Trichophyton
- *Agar de Urea*: se utiliza para diferenciar entre levaduras e identificar diferentes especies de Trichophyton.

4.4.-TÉCNICA DE SIEMBRA Y PROCESAMIENTO

El procesamiento debe ser inmediato. Muchas muestras se pueden sembrar inmediatamente tras su recogida.

Se debe sembrar la muestra en su totalidad. En caso de aspirado de abscesos, médula

ósea, líquido cefalorraquídeo, etc, el volumen deberá ser de al menos 2 mL.

En el caso de que la muestra proceda de exudados vaginales: agitar la torunda en 0,5 mL de agua y sembrar, o bien sembrar con la torunda directamente.

En el caso de líquidos corporales se deberán tomar más de 2 mL y si en los líquidos hay coágulos o material membranoso, será necesario fragmentarlos con el bisturí y luego realizar la siembra.

Cuando la muestra son pelos y raspados: depositar directamente en el medio, presionando para que queden adheridos. En caso de uñas se pueden pulverizar o cortar en fragmentos.

Por último, cuando se trata de cepillados bronquiales, hay que mezclar con agua destilada y sembrar el volumen total (más de 1 mL).

Siembra con concentración

Se realizan siempre que la muestra es líquida y se hace por centrifugación a 1500-2000 r.p.m. durante 10 minutos. El sedimento se utiliza para un examen directo o bien para cultivo.

En líquidos corporales: el volumen tiene que ser mayor de 2 mL. Se fragmenta y se centrifuga. Si las muestras son muy densas, hay que diluirlas con agua destilada y centrifugar.

En orina: volumen superior a 2 mL

En LCR: centrifugar el LCR durante 10 minutos a 1500-2000 r.p.m. Retirar el sobrenadante con una pipeta estéril y resuspender el sedimento con el líquido que ha quedado. Sembrar.

Siembra con machacado u homogeneización

Se realiza en biopsias, muestras procedentes de tejidos y uñas. Se realizan con el fin de aumentar la superficie de la muestra, para lo cual cortamos en pequeños fragmentos que depositamos en una placa de petri estéril que contiene una cantidad de agua destilada estéril.

En el caso de las biopsias, homogeneizar en un triturador de tejidos. Primero cortamos la muestra, la mezclamos con agua destilada, trituramos y sembramos los medios con el homogeneizador y con pequeños fragmentos de tejido.

Incubar a 37°C durante 3 semanas. Un error habitual es tirar los medios una vez que se ha conseguido el aislamiento de algún hongo, ya que puede haber otros de crecimiento más lento.

NO EXAMEN DIRECTO PERO SÍ CULTIVO

Exudado balanoprepuciales

Exudado bucal-lingual

5.-IDENTIFICACIÓN DE HONGOS MICELIALES

La identificación se hace en base a su morfología, que puede ser macroscópica y microscópica y que varía en función del medio de cultivo, tiempo y temperatura de incubación.

La velocidad de crecimiento varía según el hongo:

Hongos miceliales:

- No dermatófilos 🐌 crecen rápido 3-5 días
- Dermatófilos 🐌 1-3 semanas

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

- Textura de la colonia
- Algodonosa: micelio denso y largo
- Glabra: consistencia cerosa. No micelio aéreo
- Aterciopelada: micelio aéreo corto
- Pulverulenta: gran cantidad de esporas y conidias
- Coloración

5.1.-CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

- **TÉCNICA CON PAPEL DE CELO CON AZUL**

Cogemos un trozo de celo tocamos suavemente la parte superior del hongo del que queremos observar sus características microscópicas y lo colocamos sobre un porta al que anteriormente habíamos añadido una gota de colorante azul algodón de lactofenol. Observamos al microscopio con el objetivo de 40x ó 100x.

- **CULTIVO O MICROCULTIVO EN PORTA**

No se alteran las estructuras fúngicas. Se utiliza un medio Sabouraud que se vierte sobre

una placa de petri (capa delgada). Una vez solidificado cortamos cuadrados con un bisturí estéril de 1-3 cm y los colocamos en un porta estéril o flameado. El porta estará colocado en una placa de petri estéril, sobre un soporte. En el fondo de la placa añadiremos unas gotas de agua para evitar la desecación durante la incubación.

Inoculamos o bien las esquinas, o bien los bordes del agar con el hongo a estudiar. Tomamos la muestra con un asa estéril humedecida con agua. Sellamos las placas con parafilm y llevamos a incubar.

- **EXAMEN DE FRAGMENTOS DE COLONIAS AL MICROSCOPIO**

Mediante esta técnica se rompen los conidios y las esporas. Consiste en cortar con el asa un fragmento de la colonia en el borde (asa en forma de cuña) y depositarlo sobre un porta con una gota de azul de lactofenol. Si se ha incluido agar, calentar suavemente para fundirlo y aplastar el cubre.

- **TÉCNICA PARA CONFIRMAR EL DIMORFISMO**

Consiste en incubar la misma muestra a 25°C, temperatura a la que crecen los hongos miceliales, y a 37°C temperatura a la que crecen las levaduras (tejidos o medios especiales).

Las especies más importantes dimórficas son: *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis*. *Penicillium marneffei*, *Sporothrix schenckii*.

Para la confirmación es necesario convertir la fase filamentosa en levaduriforme. Para ello incubamos parte de la colonia micelial en una placa de Agar Sangre (3-4 fragmentos). Sellamos e incubamos a 37°C. Examinamos periódicamente el crecimiento buscando levaduras. Si crece colonia micelial repetimos la siembra hasta conseguir fase levaduriforme.

- **MEDIOS DIFERENCIALES**

Resistencia a Cicloheximida Actidiona:

Dermatofitos y hongos dimórficos resistentes a 30°C

Zigomicetos, algunas levaduras, mayoría de agentes micetomas inhibidos

Agar Maíz (patata, arroz): permite la esporulación de hongos

Desdoblamiento de urea: permite identificar especies de *Trichophyton* incubando a 25°C / 7 días.

5.2.-IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS

- **Test de filamentación**

Preparamos una suspensión de levaduras en 0.5-1 mL de suero de conejo e incubamos a 35-37°C no más de 3 horas.

Transcurrido el tiempo observamos al microscopio la presencia o ausencia de tubos germinales, es decir, de filamentos que no constriñen su punto de origen en la levadura.

El test será POSITIVO si se observan los tubos germinales (*C. albicans*)

El test será NEGATIVO cuando no encontremos los tubos germinales (otras especies de *Cándida*).

- **Medio diferenciador para levaduras**

Posee cromógenos que colorean las colonias según la especie. En el caso de la *Cándida albicans*, las colonias son de color azul.

- **Asimilación de azúcares (API)**

- **Técnicas inmunológicas y moleculares**

Se utilizan para el estudio de hongos que producen micosis invasivas. Detectan Ag del *Criptococo* (hongo que produce una cápsula con el Ag en su interior) en LCR o suero del paciente.

6.-HONGOS PRODUCTORES DE MICOSIS

6.1.-SUPERFICIALES: DERMATOFITOS:

Son hongos filamentosos, septados, con afinidad por la queratina, resistentes a la cicloheximida o actidiona.

En base a las características morfológicas en cuanto a la reproducción asexual se clasifican en tres géneros:

- *Microsporum*
- *Trichophyton*
- *Epidermophyton*

-*Microsporum* : Presenta abundantes macroconidias con pared gruesa y rugosa con septos

transversales en número que oscila de 3 a 15. Su aspecto suele ser fusiforme. Las microconidias son escasas o incluso ausentes, tienen forma piriforme.

Desde el punto de vista clínico, microsporum se puede encontrar infectando la piel, el cabello y excepcionalmente las uñas.

El principal representante de este grupo es el *Microsporum canis*, que en un medio de cultivo presenta colonias planas, con un micelio cereo corto, de color amarillento en la periferia y blanquecino en el centro. El reverso que es inicialmente amarillo, pasa posteriormente a anaranjado.

-Trichophyton

Presenta unas macroconidias de pared delgada y lisa que se observa de forma individual o en racimos que presenta forma de maza con un número de septos que depende de la longitud de la conidia.

Las microconidias son muy numerosas con forma esférica, oval o periforme y aparecen formando racimos a lo largo de las hifas.

Las especies del género *Trichophyton* pueden infectar la piel, el pelo y las uñas.

El principal representante de este grupo es el *Trichophyton mentagrophytes* que crece dando colonias planas, con el centro ligeramente elevado, de superficie pulverulenta o algodonosa.

-Epidermophyton

No presenta nunca microconidias. Desarrolla abundantes macroconidias con pared y septos delgados, completamente lisas, en forma de mazas y dispuestas en racimos. No suelen presentar más de 4 septos. Se encuentran infectando la piel, en ocasiones las uñas y nunca el pelo.

El principal representante de este género es *Epidermophyton floccosum* que presenta colonias de aspecto pulverulento o aterciopelado de color amarillo-verdoso o de color marrón. El reverso es también de color amarillo-marrón.

6.2.-HONGOS PRODUCTORES DE MICOSIS SUBCUTÁNEAS

Cromomycosis o Cromoblastomycosis 🦠 *Phialophora verrucosa / fonsecae*

Producidas por un grupo de hongos que se denominan "dermatíaceos" (pigmentados negros). El hongo penetra en el tejido subcutáneo, generalmente por un traumatismo y queda localizado en el lugar de la lesión en los tejidos cutáneos y subcutáneos. La respuesta del huésped se caracteriza por la aparición de nódulos verrucosos que sobresalen entre 1 -3 cm sobre la piel.

Esporotricosis 🦠 *Sporothrix schenckii*

Suele ser una lesión crónica que se caracteriza por el desarrollo de nódulos en los tejidos cutáneos y subcutáneos que llegan a ulcerarse y producir supuración, acompañándose de una afectación de los ganglios linfáticos de la zona. El hongo penetra generalmente por traumatismos subcutáneos con árboles y plantas, aunque también se puede producir la infección por mordedura de animales, picaduras de insectos, etc.

Micetomas 🦠 *Actinomicetales / hongos*

Se caracterizan por la aparición de tumoraciones múltiples y deformantes en las que se produce una fistulización por las que drena un líquido que contiene el hongo infectante.

6.3.-HONGOS PRODUCTORES DE MICOSIS SISTÉMICAS

Son infecciones fúngicas de tejidos profundos del cuerpo que pueden afectar a distintos órganos. Suelen estar causadas por hongos saprofitos que viven en el suelo y cuya transmisión se produce por inhalación. Suelen comenzar de forma característica en los pulmones desde donde se extienden a otros tejidos. Por regla general no suele producirse el contagio del animal al hombre.

Micosis primarias: afectan a individuos inmunocompetentes

Histoplasmosis 🦠 *Histoplasma capsulatum*

Es un hongo dimórfico, es decir, que se puede encontrar como parásito en estado levaduriforme (30-37°C) o como saprofito en estado filamentoso o micelial (25°C).

Se localiza primariamente en los pulmones y puede producir lesiones en diferentes órganos del cuerpo.

La sintomatología es poco clara y se desarrolla de forma subclínica. Esta micosis se contrae por inhalación de las conidias transportadas por el aire, las cuales se han formado bajo condiciones particulares de humedad y pH. Estas condiciones suelen producirse cuando se

acumulan excrementos de aves que por su alto contenido en Nitrógeno favorecen el desarrollo dimórfico del hongo.

Blastomycosis 🦠 *Blastomyces dermatitidis*

Se trata de un hongo dimórfico (igual que el anterior). La infección comienza en los pulmones y se disemina a otros órganos. Frecuentemente aparecen úlceras cutáneas con formación de abscesos y destrucción de tejidos. El m.o puede aislarse del pus y de las biopsias de tejidos.

Coccidioidomycosis 🦠 *Coccidioides immitis*

Se trata de un hongo dimórfico. Se produce por inhalación de las conidias transportadas por el viento. Da lugar a una infección respiratoria y se manifiesta con dolor torácico y a veces fiebre, aunque la mayoría de las veces inaparentes

Micosis secundarias: afectan a individuos inmunodeprimidos (oportunistas)

Candidiasis 🦠 *Cándida albicans*, *C. tropicalis*, parasilopsis

Criptococosis 🦠 *Criptococcus neoformans (levaduriforme)*

Lo característico de *Criptococcus* es la presencia de una cápsula que se observa mediante una tinción con tinta china. Se desarrolla bien en los medios de cultivo habituales. Es característica la infección pulmonar, que a menudo es asintomática.

Formas filamentosas:

Aspergilosis 🦠 *Aspergillus fumigatus*, *A. Níger*, *A. Flavus*

El mecanismo de transmisión es por inhalación de las conidias. Puede producir 3 cuadros:

- Aspergilosis pulmonar alérgica: asma, aumento de las IgE, eosinofilia
- Aspergiloma: crece en una cavidad preexistente (como tuberculosis)
- Aspergilosis invasiva: pulmón y diseminación secundaria.
- Zigomicosis o mucormicosis 🦠 géneros *Rhizopus* y *Mucor*

Se caracterizan porque producen infecciones muy graves en las cuales el hongo invade paredes arteriales produciendo embolias y necrosis tisular.

CANDIDIASIS - CANDIDOSIS – CÁNDIDA

Las candidiasis son las infecciones agudas o crónicas, superficiales o profundas, causadas por levaduras del género *Cándida*.

Son células redondeadas u ovaladas que aparecen de forma individual o asociadas formando pseudomicelios. Son Gram+ y su metabolismo es principalmente aerobio. Forman parte de la flora saprofita mucocutánea existiendo un equilibrio entre su virulencia y los mecanismos de defensa del huésped. "*Cándida albicans*" se encuentra habitualmente formando parte de la flora gastrointestinal y bucal y también como parte de la flora vaginal.

Manifestaciones Clínicas

- *Candidiasis Cutáneas:*

Intertrigo. Axilas, pliegue interglúteo, surco submamario, etc.

Oniquia y paroniquia:

uñas y lecho ungueal

- *Candidiasis de las mucosas:*

-*Candidiasis oral*: "muget bucal" 🦠 recién nacidos cuando hay un descenso del pH y la flora habitual normal aún no es completa.

-*Candidiasis genitourinarias:*

Vaginitis: eritema, prurito, leucorrea.

Balanitis: afectación del glande y del surco balanoprepucial.

- *Candidiasis gastrointestinal*: muy infrecuente

-*Candidiasis sistémicas*: invasión de tejidos (localización renal, SNC, pulmonar, endocarditis, afectación cardíaca, etc.)

ACTINOMICETOS (una bacteria, que "parece" un hongo)

Son bacterias Gram+ que se asemejan a los mycobacterias. En la observación al microscopio se presentan con morfología variable, que puede ser cocobacilar o filamentosas. El aspecto macroscópico de las colonias puede ser similar al de una bacteria o presentar hifas aéreas recordando la morfología de los hongos filamentosos. Se encuentran principalmente en suelos, plantas y vegetales, aunque también se pueden aislar de la piel, orofaringe, y tracto gastrointestinal del hombre y de los animales. El hombre puede infectarse por este tipo de bacterias por inhalación o por contacto directo con una herida o

traumatismo abierto.

ESPECIES DE IMPORTANCIA CLÍNICA

Géneros: Nocardia, Nocardiosis, Streptomyces, Actinomadura, Rhodococcus.

N. asteroides, N. brasiliensis: mayor parte de las infecciones sistémicas

N. brasiliensis, Streptomyces somaliensis, Actinomadura madurae: micetoma

Rhodococcus: infecciones de heridas abiertas, abscesos, infecciones pulmonares, osteomielitis.

IDENTIFICACIÓN

Nocardia y Rhodococcus tienen tendencia a fraccionarse y aparecen al microscopio con morfología cocobacilar.

Actinomadura y Streptomyces se presentan como masas filamentosas.

No hay un medio específico para el aislamiento de estos microorganismos. Se puede emplear cualquier medio general como el Saboraud con o sin antibióticos, Agar Sangre, etc.

Las especies de Nocardia sobreviven a menudo a los procesos de descontaminación de mycobacterias, por lo que pueden crecer en dichos medios.

Las placas para el aislamiento de Actinomicetes se incuban a 30°C.

Los géneros Streptomyces y Nocardia se desarrollan en un tiempo que oscila entre 2 – 10 días, y las especies de Actinomadura pueden tardar en desarrollarse hasta 3 semanas.

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Hidrólisis de Aminoácidos: Caseína, Tirosina y Lisina. Se utilizan medios sólidos que contengan los aminoácidos. Alrededor de la colonia aparece una zona clara.

Resistencia de la enzima Lisozima: los microorganismos resistentes no se lisan cuando se ponen en contacto con ella. Esto les sucede a las especies que poseen la característica de AAR (Nocardia y Rhodococcus).

- Producción de Ureasa
- Licuefacción de la Gelatina
- Reducción de Nitratos
- Degradación de Etilenglicol
- Actividad α - galactosidasa

PATOLOGÍA

La infección producida por este tipo de bacterias depende en gran medida del estado inmunológico del huésped. En individuos inmunocompetentes son frecuentes los procesos alérgicos y el micetoma. En personas inmunodeprimidas es más frecuente que se produzcan infecciones pulmonares y sistémicas.

Enfermedad respiratoria alérgica: producida como una reacción de hipersensibilidad frente a Ag de los Actinomycetes.

Nocardiosis cutánea

Micetoma

