

1987-2

REG. No. 079549193

Universidad de Guadalajara

FACULTAD DE CIENCIAS



CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

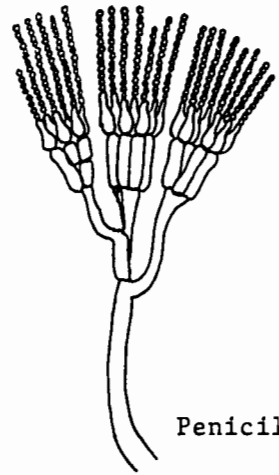
METODOLOGIA PARA EL ESTUDIO E IDENTIFICACION
DE LOS MICROMICETOS QUE AFECTAN
AL HUMANO.

Jorge Arturo Mayorga Rodríguez

"METODOLOGIA PARA EL ESTUDIO E IDENTIFICACION
DE LOS MICROMICETOS QUE AFECTAN
AL HUMANO"

LA CASUALIDAD SOLO FAVORECE A
LAS MENTES QUE SE ENCUENTRAN
PREPARADAS PARA ELLA.

P A S T E U R



Penicillium sp.

DIRECTORA DE TESIS:

M. EN C. MA. DEL REFUGIO MORA NAVARRO

A G R A D E C I M I E N T O S

La respuesta que deja todo trabajo realizado a conciencia deja a uno un conocimiento sólido y una satisfacción muy propia al concluirlo.

En la elaboración del presente trabajo tuve en cuenta que la micología médica es parte de la ciencia experimental y que se puede llevar a la práctica en el laboratorio y en todo ámbito científico, esto resulta indispensable para que toda persona que realice todo tipo de investigación tenga un criterio que se base en la solidez que nos proporciona el método científico.

Parece una utopía omitir los agradecimientos en todo trabajo, pero la realidad es que sin la ayuda de las personas que aportan su colaboración no se llegaría al término de los mismos. Por tal motivo mis agradecimientos a:

- Dr. J. Jesús Mayorga Loera, por sembrar el espíritu de aprendizaje para poder superar los obstáculos de la vida.

- M. en C. Ma. del Refugio Mora Navarro, por las atenciones prestadas en la realización del trabajo.

- Instituto Dermatológico de Guadalajara, en especial al laboratorio de micología a cargo de la Dra. I. Ludivina Fuentes S., agradeciendo la enseñanza y amistad recibidas, además mi gratitud por igual motivo a la Dra. Gabriela Briseño R.

- A mis Padres, como agradecimiento de la vida.

- A todas aquellas personas que significan un impulso de superación en la vida (hermanos, tíos, abuelos, Martha, Karmen).

- En especial a el Biol. David S. Rodríguez García por la elaboración de los dibujos y a la Sra. Esperanza Medina Gómez por la transcripción del presente trabajo.

R E S U M E N

Mediante el estudio de los micromicetos que afectan al humano se pretende que esta tesis sirva de manual para estudiantes y personal académico de áreas biomédicas, familiarizándose de esta manera con las técnicas laboratoriales y el diagnóstico de las enfermedades infecciosas producidas por hongos (micosis).

Se incluye en la metodología los aparatos, equipos, reactivos, medios de cultivo, técnicas de obtención y procesamiento, utilizadas con mayor frecuencia en micología médica.

Se decidió exponer las enfermedades fúngicas de acuerdo a la clasificación expuesta en las generalidades, mencionando para cada agente etiológico algunas características clínicas, sintomatología, zonas geográficas mas frecuentes en donde se presenta la infección, datos laboratoriales (examen directo, características macro y microscópicas de los cultivos, medios de cultivo mas adecuados, etc.).

La observación de los dibujos seguidos de la revisión detenida de la tesis dá al lector información para adquirir conocimiento fundamental para la identificación de los hongos patógenos.

Para obtener los resultados se realizó un estudio de tipo retrospectivo en un período de 2 años (Enero de 1986 a Diciembre de 1988), en el Instituto Dermatológico de Guadalajara (IDG) y en el laboratorio particular del Dr. J. Jesús Mayorga Loera, con el objeto de observar la frecuencia de los agentes etiológicos mas comunes en nuestro medio.

I N D I C E

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	
RESUMEN	
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	3
I.- GENERALIDADES	4
- Que son los hongos	5
- Desarrollo y reproducción	7
- Dimorfismo	10
- Clasificación de las micosis humanas	10
- Epidemiología	11
- Sistemática	13
II.- MATERIAL Y METODOS	16
- Aparatos y equipos	16
- Material	17
- Reactivos	18
- Medios de cultivo	22
- Obtención de muestras biológicas	31
- Procesamiento de muestras biológicas	38
III.- METODOS DE DIAGNOSTICO EN MICOLOGIA MEDICA	48

	Pág.
IV.- LAS MICOSIS Y SUS AGENTES ETIOLOGICOS	59
1- Micosis superficiales	60
a). Dermatofitosis	60
- <u>Trichophyton tonsurans</u>	62
- <u>T. rubrum</u>	63
- <u>T. schoenleini</u>	64
- <u>T. mentagrophytes</u>	65
- <u>T. violaceum</u>	66
- <u>T. verrucosum</u>	68
- <u>Microsporum canis</u>	69
- <u>M. audouinii</u>	70
- <u>M. gypseum</u>	71
- <u>Epidermophyton floccosum</u>	72
b). Pitiriasis versicolor	73
c). Piedra negra	74
d). Piedra blanca	75
e). Tinea nigra	76
2- Micosis subcutáneas	77
a). Esporotricosis	78
b). Cromomicosis	80
c). Micetomas	85
3- Micosis sistémicas	91
A). Por patógenos primarios	91
a). Histoplasmosis	91

	Pág.
b). Coccidioidomycosis	94
c). Blastomycosis	96
d). Paracoccidioidomycosis	97
B). Por oportunistas	100
a). Candidosis	101
b). Cryptococosis	103
c). Ficomicosis	105
V.- RESULTADOS	108
CONCLUSIONES	120
BIBLIOGRAFIA	122

INTRODUCCION

México, al igual que otros países, presenta altos índices de enfermedades producidas por hongos microscópicos, y en nuestro medio, el diagnóstico y tratamiento de estas micosis se dificulta en su mayoría por diversos factores, a saber:

- a). Falta de laboratorios especializados en micología.
- b). Escaso personal capacitado para el estudio y diagnóstico laboratorial de estas afecciones
- c). Limitada enseñanza a estudiantes de áreas biológicas en instituciones magisteriales.

Los hongos presentan gran dificultad para su identificación a las personas que no están familiarizados con ellos, debido a su gran variación en el aspecto macroscópico de las colonias, a la gran variedad de sus estructuras microscópicas y a las formas dimórficas que presentan algunos hongos, tanto en el medio de cultivo (forma saprofítica), como el tejido que afecta (forma parasitaria), y, a la nomenclatura poco conocida; por este motivo se presentan en este trabajo las técnicas y los medios de cultivo mas frecuentemente utilizados en el diagnóstico de los hongos patógenos para el hombre.

En esta tesis, me refiero solo a algunos de los hongos microscópicos (micromicetos) que afectan al hombre, haciendo mayor énfasis, en aquellos que se presentan con

mayor frecuencia en nuestro medio; especificando que existen una gran variedad de hongos patógenos tanto de vegetales como de animales que deben ser estudiados en micología agrícola y veterinaria respectivamente.

El presente trabajo tiene la pretensión de que podrá ser utilizado como material de información complementaria en el diagnóstico laboratorial de las micosis humanas mas frecuente - mente encontradas en nuestro medio y además como manual de prácticas de laboratorio en la cátedra de micología en las escuelas y facultades de disciplinas biológicas.

OBJETIVOS

OBJETIVO ESPECIFICO

* Elaborar un manual de técnicas para el estudio, identificación y clasificación de los micromicetos que afectan al humano.

OBJETIVOS GENERALES

* Señalar en forma útil para el biólogo la patogenia de cada uno de los micromicetos estudiados.

* Revisar estadísticamente las micosis mas frecuentes en el Instituto Dermatológico de Guadalajara y Laboratorio particular del Dr. J. Jesús Mayorga Loera en el período comprendido de enero de 1986 a diciembre de 1988.

C A P I T U L O I

GENERALIDADES

Se asegura que actualmente sobre el planeta tierra, se conocen aproximadamente 2 millones de organismos vivientes, que en perfecto equilibrio mantienen nuestro ecosistema mas o menos controlado. Formando un grupo perfectamente identificado biológicamente se encuentran los hongos. La mayoría de ellos son tan pequeños (micromicetos) que pasan inadvertidos, pero sentimos su presencia por el daño o beneficio que nos causan (12).

No obstante que existen infinidad de hongos útiles a la industria y a la antibioterapia, encontramos otros causando daños tanto a materias primas (pieles, maderas, telas, etc.) como a plantas y animales incluyendo al hombre (micosis humanas) al que pueden producir hasta la muerte.

Los antecedentes históricos que se han encontrado de los hongos demuestran que las antiguas civilizaciones conocían ya de las manifestaciones que éstos les causaban. Su estudio sistemático se inicia hace aproximadamente 250 años pero el estudio de los micromicetos se desarrolla desde la aparición del microscopio.

Se conocen actualmente un número entre 80 y 100 mil especies diferentes de hongos, de las cuales 60 infectan continuamente al hombre y otro número mas ó menos igual de especies lo infectan solo por excepción. (6).

QUE SON LOS HONGOS

Los hongos son organismos aerófilos, acrofilos por carecer de clorofila y por lo tanto, dependen de materias orgánicas tanto animales como vegetales para nutrirse; llamándolos saprófitos cuando utilizan dichas materias en descomposición y parásitos cuando las utilizan vivas; dentro de estos algunos forman parte de la flora normal de microorganismos que habitan nuestro organismo y otros requieren de sustancias elaboradas que les proporcionen los elementos necesarios para desarrollarse y reproducirse, son los llamados hongos patógenos causando daño a su hésped. (2).

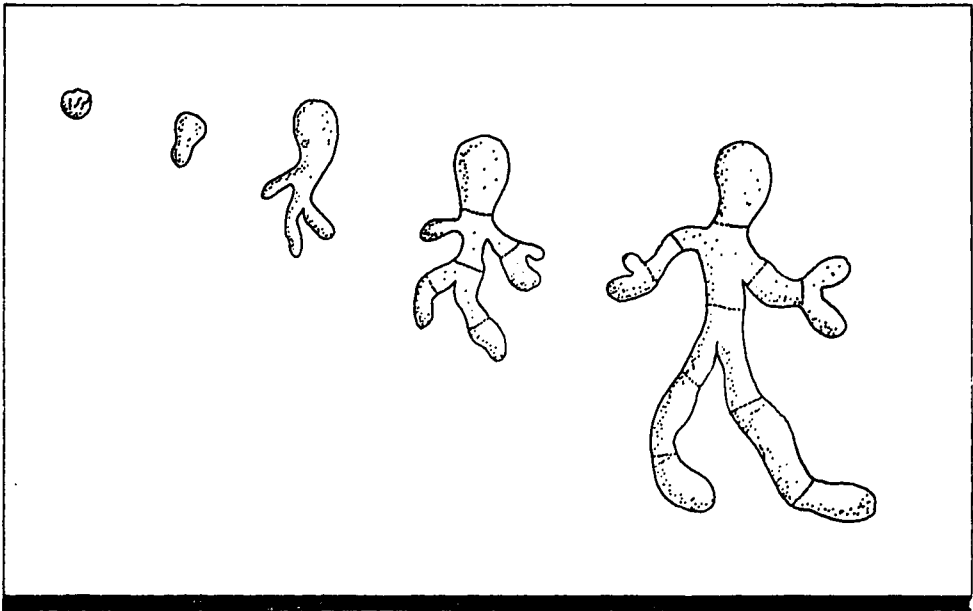
Los hongos se clasifican dentro del reino de los protistas superiores propuesto por Haeckel en 1866, basándose en las ideas de Hogg (29). Mas sin embargo esta clasificación ha causado polémicas en los últimos años ya que Whittaker (1969), apoyándose en Copeland (1956) y Martin (1955), creó para los hongos un reino independiente, el de los micetos (2). Desde el punto de vista biológico se utiliza con mayor frecuencia la clasificación propuesta por Whittaker, y, desde el punto de vista

médico se ha conservado la clasificación propuesta por Haeckel (Reinos vegetal, animal y protista). Basándome en el presente trabajo en la clasificación de Haeckel.

Los hongos pueden ser tanto macroscópicos como microscópicos, enfocándome en los microscópicos (micromicetos) que afectan al hombre.

DESARROLLO Y REPRODUCCION

El desarrollo de los hongos se efectúa a partir de una espora o trozo de hifa, que germinan una u otra, y origina una prolongación tubular que va creciendo apicalmente y forma ramificaciones, que reciben el nombre de hifas. (Gr. hyphe = telaraña). Al conjunto de estas ramificaciones o hifas se les denomina micelio (Gr. mykes = seta).



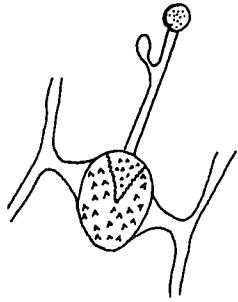
DESARROLLO Y CRECIMIENTO DEL MICELIO

Cada célula del micelio consta de una pared que encierra protoplasma con uno o varios núcleos. En cada una de éstas células se producen enzimas que se difunden hacia el medio externo, simplificando el sustrato en el cual se encuentra el hongo, y así, éstas sustancias simplificadas difunden ahora hacia el interior de la célula fúngica, donde participan en los procesos metabólicos del hongo. De las enzimas que un hongo es capaz de producir depende en gran manera su capacidad para utilizar ciertas sustancias como alimento (2).

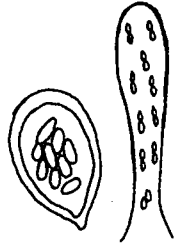
Existen hongos unicelulares como las levaduras y pluricelulares como la gran mayoría de ellos. El micelio también se le puede llamar talo o tallo, el cual contiene dos porciones importantes para su reproducción y desarrollo: una llamada "porción vegetativa" que es la porción que el hongo introduce en el medio que le proporciona alimento y la "porción aérea o reproductiva" que está destinada a formar los elementos reproductivos llamados conidios o esporas.

Naturalmente, un hongo unicelular se reproducirá asexualmente por mecanismos muy simples, tales como la división directa, brotación o gemación; mientras que los pluricelulares organizan aparatos reproductivos mas o menos complejos y mediante los cuales pueden darse dos formas de reproducción una sexual y otra asexual.

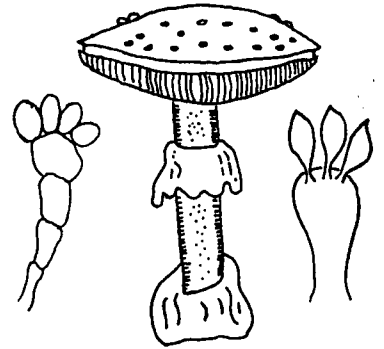
ESPORAS SEXUALES



Zygospora



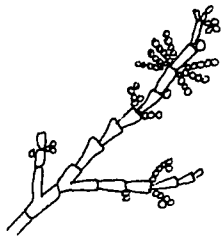
Ascosporas



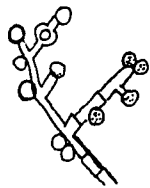
Basidioesporas

DIVERSAS ESPORAS ASEXUALES

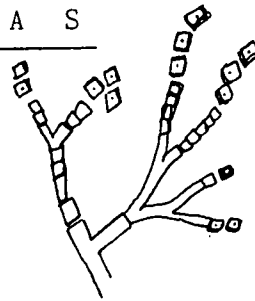
T A L O S P O R A S



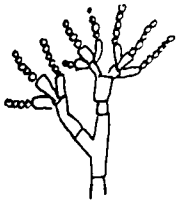
Blastosporas



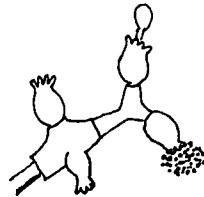
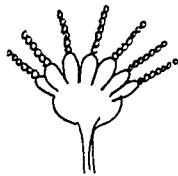
Clamidosporas



Artrosporas



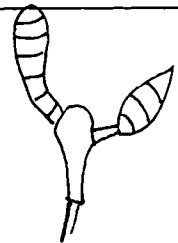
C O N I D I A S



Phialide



Microconidia



Macroconidia



Macroconidia



EL FENOMENO DEL DIMORFISMO DE ALGUNOS MICROMICETOS

El dimorfismo es otra particularidad de algunos hongos patógenos que afectan al hombre, este es un fenómeno biológico muy importante de conocer en el laboratorio de micología médica, el cual consiste en un cambio en la forma de un mismo hongo, que puede presentarse con un aspecto diferente cuando se le encuentra en tejidos del cuerpo humano y a cuya forma se le denomina "forma parasitaria", ésta es muy simple y generalmente toma una forma de levadura, muy distinta ésta forma estructuralmente a la que se encuentra cuando el hongo se desarrolla en un medio de cultivo a la que denominamos "forma saprofítica o micelial". (6, 12, 24, 29).

CLASIFICACION DE LAS MICOSIS HUMANAS

Gruby en 1841, fue el primero en demostrar que un microorganismo causaba enfermedad en el hombre al aislar un dermatofito de un paciente tiñoso. (21).

Los hongos pueden causar enfermedades en varias partes del cuerpo humano, las cuales pueden ser leves e intrascendentes como las dermatomicosis o de tal gravedad como ocurre con la histoplasmosis o la coccidioidomicosis por ejemplo. A las enfermedades producidas por los hongos se les denomina genéricamente micosis; término que fue utilizado por vez primera en 1858 por Virchow, para designar las entidades mórbidas humanas o animales producidas por hongos.

Por su localización y tejidos que afectan, se clasifican las micosis humanas en: (9)

a). Micosis superficiales:

- Dermatofitosis
- Pitiriasis versicolor
- Tinea nigra palmaris
- Piedra negra y piedra blanca

b). Micosis subcutáneas:

- Esporotricosis
- Cromomicosis y Faeomicosis (phaeohyphomycosis)
- Micetomas
- Rinosporidiosis

c). Micosis sistémicas:

(Por patógenos primarios)

- Histoplasmosis
- Coccidioidomicosis
- Blastomicosis
- Paracoccidioidomicosis

(Por oportunistas)

- Candidosis
- Criptococosis
- Ficomicosis

EPIDEMIOLOGIA

Los agentes etiológicos de las micosis pueden ser endógenos o exógenos. (12)

Los endógenos se encuentran en estado saprofitico en las mucosas o en la piel de los individuos sanos, y, bajo formas muy especiales como cuando existen enfermedades caquetizantes (cáncer, diabetes, tuberculosis, inmunosupresión, etc.), estos hongos que se encuentran en número limitado se desarrollan abundantemente y se convierten en patógenos, caso típico de este fenómeno es la Candidosis.

Los exógenos viven fuera del hombre, se encuentran muy difundidos en la naturaleza y en el aire que respiramos (Aspergillus, Mucor, Penicillium y otros por ejemplo), ordinariamente estos hongos no dañan al hombre y solo en condiciones especiales (factores que causan inmunosupresión), el hombre enferma por estos hongos. Dentro de este grupo existen algunos hongos patógenos que habitan en el suelo, vegetación o diversos artefactos y desde estas posiciones dañan al humano, penetrando al organismo por inhalación, ingestión y/o a través de lesiones en la piel.

En condiciones favorables las esporas o los fragmentos de micelio de los hongos patógenos se introducen en los tejidos donde empiezan a reproducirse. El período de incubación oscila entre unos días a varios meses.

En algunas formas de micosis se lesionan los tegumen-

tos cutáneos y las víceras desarrollándose procesos generalizados. En la patogénesis de las micosis juegan un determinado papel los factores predisponentes (Patogenéticos). Entre las condiciones que predisponen el surgimiento de enfermedades producidas por hongos se encuentran:

- + Alteraciones del equilibrio vitamínico
- + Enfermedades caquetizantes
- + Disbacteriosis y sudoración excesiva
- + Traumatismos
- + Y principalmente, la terapéutica y uso irracional de antibióticos, de quimioterapéuticos e inmunosupresores.

SISTEMATICA

Los hongos patógenos constituyen un grupo pequeño entre el gran número de organismos que pertenecen a los hongos (80 a 100 mil especies). Los miembros de este grupo heterogéneo están distribuidos en cuatro clases taxonómicas basadas en sus métodos de reproducción: (9)

1). CIGOMICETOS.- Se reproducen asexualmente por aplanoesporas que pueden estar libres o en esporangios, su reproducción sexual se efectúa por la formación de un cigoto que se produce después de la fusión de los extremos hifales.

2). BASIDIOMICETOS.- Las esporas sexuales nacen externamente en células en forma de trébol, llamadas basidios.

3). ASCOMICETOS.- Las esporas sexuales se producen dentro de sacos o bolsas denominadas ascas. La hifa ascogena es dicariótica, en cápsulas regulares, irregulares o típicamente en ascocarpos.

NOTA:- Ya que los hongos de estas tres clases producen esporas sexuales, se les conoce como "hongos perfectos".

4). DEUTEROMICETOS.- (Hongos imperfectos). Carecen de esporas sexuales y se reproducen solamente por diversas formas asexuales de esporas.

NOTA.- Algunos hongos, previamente miembros de esta clase, han sido asignados a una de las otras clases, cuando se les ha encontrado su estado perfecto.

CUADRO 1.- REPRESENTACION DE LOS ESTADOS PERFECTOS Y/O IMPERFECTOS DE LOS HONGOS PATOGENOS.

C L A S E	ESTADO PERFECTO	ESTADO IMPERFECTO
ZIGOMICETOS	<u>Mucor</u>	
	<u>Absidia</u>	
	<u>Cunninghamella</u>	
	<u>Basidiobolus</u>	
	<u>Conidiobolus</u>	
BASIDIOMICETOS	<u>Filobasidiella neoformans</u>	<u>Cryptococcus neoformans</u>
	<u>Ajellomyces dermatitidis</u>	<u>Blastomyces dermatitidis</u>
	<u>Arthroderma spp.</u>	<u>Trichophyton spp.</u>
	<u>Emmonsia capsulatum</u>	<u>Histoplasma capsulatum</u>
ASCOMICETOS	<u>Endomyces geotrichum</u>	<u>Geotrichum candidum</u>
	<u>Leptosphaeria senegalensis</u>	
	<u>Nannizzia spp.</u>	<u>Microsporium spp.</u>
	<u>Petriellidium boydii</u>	<u>Monosporium apiospermum</u>
	<u>Piedraia hortai</u>	
	<u>Sartorya fumigatta</u>	<u>Aspergillus fumigatus</u>
	<u>Zopfia rosatii</u>	
DEUTEROMICETOS (HONGOS IMPERFECTOS)	(sin estado ascomicetoso)	<u>Epidermophyton</u>
	(sin estado ascomicetoso)	<u>Microsporium</u>
		<u>Trichophyton</u>
		<u>Sporothrix</u>
		<u>Candida</u>
		<u>Pityrosporum</u>
		<u>Trichosporum</u>
		<u>Paracoccidioides</u>
		<u>Cercospora</u>
		<u>Cladosporium</u>
		<u>Phialophora</u>
		<u>Fonsecae</u>
		<u>Madurella</u>
	<u>Pyrenochaeta</u>	
	<u>Coccidioides</u>	
	<u>Emmonsia</u>	

C A P I T U L O I I

MATERIAL Y METODOS

En este capítulo se anota material de laboratorio, equipo, reactivo, medios de cultivo y metodología micológica que se utiliza en el laboratorio de micología médica y que usualmente manejan los laboratorios de enseñanza especializada y no especializada.

Se hace omisión de todo aquel material utilizado con frecuencia en los laboratorios de microbiología y solo se mencionan los mas comunes en el trabajo de laboratorio micológico, además se hace referencia de los medios de cultivo que han sido aceptados por su uso común para el crecimiento, aislamiento e identificación de los hongos patógenos mas frecuentes en nuestro medio; por lo que se subdivide el capítulo en cuatro puntos

- 1.- Aparatos y equipos
- 2.- Material y reactivos
- 3.- Medios de cultivo
- 4.- Técnicas para la obtención y procesamiento de muestras biológicas.

1- APARATOS Y EQUIPOS:

- + Incubadora eléctrica para cultivos a 25 y 37°C.
- + Horno eléctrico para secado y esterilizado

- + Autoclave
- + Centrífugas (4,500 r.p.m.)
- + Estufa eléctrica para coagulación de medios
- + Balanza analítica de precisión
- + Refrigerador
- + Microscopio óptico binocular de preferencia con contraste de fases

2- MATERIAL Y REACTIVOS

A). MATERIAL

- + Cajas de Petri 100 x 20 mm. y 15 x 60 mm.
- + Pipetas graduadas 1, 5 y 10 ml.
- + Pipetas Pasteur
- + Tubos de ensayo 12 x 75, 13 x 100 y 15 x 150 ml.
- + Portaobjetos 25 x 75 mm.
- + Cubreobjetos 24 x 24 y 24 x 40 mm.
- + Varilla de vidrio 0.3 y 0.5 mm. de diámetro
- + Matraz Erlenmeyer 250, 500 y 1000 ml.
- + Vasos de precipitados 250, 500 y 1000 ml.
- + Probetas 250, 500 y 1000 ml.
- + Embudos de vástago corto 90 y 120 mm. de diámetro
- + Termómetros para temperaturas ambiente, de refrigera -
dor y de estufa de incubación
- + Pinzas y tijeras quirúrgicas
- + Legras de escarificación

- + Mecheros bunsen
- + Asas de nicromo
- + Canastillas metálicas y rejillas para tubos de ensayo
- + Lancetas desechables
- + Hojas y mangos para bisturí
- + Guantes para cirujano

B). REACTIVOS

+ Colorantes para tinción de Gram

- Solución cristal violeta

Cristal violeta 1 gr.

Agua destilada 100 ml.

- Solución alcohol-acetona

Acetona 50 ml.

Alcohol etílico 50 ml.

- Solución de safranina

Safranina 0.5 gr.

Agua destilada 100 ml.

+ Colorantes para tinción de Ziehl Neelsen

- Fuscina fenicada (fenolada)

Fuscina básica 4 gr.

Fenol 8 gr.

Alcohol (95%) 20 ml.

Agua destilada 100 ml.

- Azul de metileno

Azul de metileno 1 gr.

Agua destilada 100 ml.

- Alcohol ácido

Acido clorhídrico concentrado	3 ml.
-------------------------------	-------

Alcohol etílico (96%)	9 ml.
-----------------------	-------

+ Colorante lactofenol - Azul de algodón

Cristales de fenol	20 gr.
--------------------	--------

Acido láctico	20 ml.
---------------	--------

Glicerina	40 ml.
-----------	--------

Agua destilada	20 ml.
----------------	--------

Azul de algodón	0.05 gr.
-----------------	----------

Disolver por calentamiento suave y añadir el azul algodón al último

USO: Para preparados húmedos de cultivos, cuando se remueve una pequeña cantidad de agar con el cultivo

+ Coloración de Schiff (PAS)- Acido peryodico

Acido peryodico	5 gr.
-----------------	-------

Agua destilada	100 ml.
----------------	---------

- Solución fuscina básica

Fuscina básica	0.1 gr.
----------------	---------

Agua destilada	95 ml.
----------------	--------

Alcohol etílico (95%)	5 ml.
-----------------------	-------

Mezclar el alcohol y el agua, añadir cuidadosamente la fuscina a la mezcla y agitar la solución con movimientos rotatorios.

+ Cloral lactofenolde Amman

Hidrato de cloral	2 partes
-------------------	----------

Fenol	1 parte
-------	---------

Acido acético	1 parte
---------------	---------

+ Coloración azul-algodón-acético

Azul algodón	0.5 gr.
Agua destilada	100 ml.
Acido acético	3 ml.

+ Coloración de WrightRegulador - pH = 7

Fosfato monopotásico	1.63 gr.
Fosfato de sodio	3.20 gr.
Agua destilada	1000 ml.

Colorante de Wright

Polvo de colorante de Wright	0.3 gr.
Glicerol	3 ml.
Alcohol absoluto	9 ml.

Moler el colorante en mortero, añadir el glicerol, moler de nuevo, pasar a un frasco de color ámbar, añadir el alcohol y mezclar vigorosamente. Guardar en la obscuridad un mes, filtrar antes de usar.

+ Coloración de Nigrosina

Nigrosina	10 gr.
Formaldehído (10%)	100 ml.

Disolver la nigrosina en el formol, poner en baño de agua hirviendo por 30 minutos y añadir formol para reemplazar el volumen perdido por la evaporación.

Filtrar dos veces a través de un papel filtro de Whatman

USO: Para la detección de Criptococcus en líquidos corporales

+ Solución de lugol

Yodo saturado en yoduro de Potasio al 1%

USO: Para observación de granos producidos por micetomas.

+ Hidróxido de potasio (KOH)

Hidróxido de potasio (cristales) 10 gr. (10%) ó 20 gr. (20%)

Glicerina 10 ml.

Agua destilada Aforar a 100 ml.

USO: Aclaramiento de muestras biológicas, para la detección de elementos micóticos por examen directo.

+ Albúmina de Meyer

Clara de huevo 1 parte

Glicerina 1 parte

Timol Unos cristales

Batir la clara a punto de turrón, se agrega la glicerina y en seguida los cristales de timol

USO: Para montar escamas de piel y uñas.

+ Solución de cloruro de benzalconio al 1% para lavado de piel y lesiones

+ Alcohol metílico comercial

+ Solución salina isotónica

+ Aceite de inmersión

+ Tinta china

3- MEDIOS DE CULTIVO

Los medios de cultivo utilizados en el laboratorio de micología médica, se dividen en medios para aislamiento y medios para identificación o diferenciación. (5)

Los hongos deben encontrar en el medio de cultivo los elementos necesarios para su crecimiento y desarrollo, por lo que generalmente requieren de un material nitrogenado (a menudo la peptona), de un hidrato de carbono (glucosa, dextrosa, maltosa, etc.), un soporte sólido (agar) y un pH ligeramente ácido que favorezca su desarrollo. (27).

Numerosos hongos patógenos requieren de medios especiales de cultivo que contengan vitaminas u otros elementos que favorezcan su desarrollo, por lo que es necesario introducirlos al medio de cultivo. También es importante señalar que en algunos casos deberá agregársele al medio de cultivo inhibidores de crecimiento bacteriano, como cloranfenicol, penicilina, actidiona o ciclohexamida. (7).

Cabe especificar que en el dimorfismo fúngico se puede obtener la forma levaduriforme de algunos hongos patógenos a partir de medios especiales, sin necesidad de inocular algún animal para obtener esta forma. También se obtienen de los medios especiales la forma micelial o saprofítica que tiene el hongo en su habiudad natural.

La temperatura también es un factor fundamental para el crecimiento de los hongos patógenos en los medios de cultivo; los hongos de las micosis superficiales se desarrollan bien a la temperatura ambiente entre 20 y 30°C., mientras que los hongos que afectan algunos órganos profundos se desarrollan bien a 37°C., lo que permite la diferenciación con algunos hongos saprófitos, que no se desarrollan a esta temperatura.

Fórmulas de los medios de cultivo

+ Sabouraud dextrosa agar

Dextrosa	40 gr.
Peptona	10 gr.
Agar	15 gr.
Agua destilada	1000 ml.
pH = 5.5 - 6	

Disolver por calentamiento, esterilizar a 15 lbs. durante 15 minutos

USO: Aislamiento e identificación de dermatofitos.

Este medio con un pH de 7 es un buen medio para el aislamiento de algunos agentes micóticos sistémicos.

+ Sabouraud dextrosa agar tiamina

Sabouraud dextrosa agar	980 ml.
Solución de tiamina	20 ml.

Esterilizar el medio a 15 lbs. por 15 minutos

Solución de tiamina - 0.05 gr. en vaso de precipitado de 100 ml
 Aforar el vaso con agua destilada y ajustar el pH 6.5-6.8 con NaOH (N/0.1), esterilizar y filtrar con filtro de Seitz.

USO: Medio utilizado para aislar Trichophyton verrucosum y para estimular la esporulación de cepas de Trichophyton tonsurans.

+ Agar glucosa (4%) de Sabouraud

Peptona	10 gr.
Glucosa	40 gr.
Agar	20 gr.
Agua destilada	1000 ml.

pH = 6

USO: Este medio tiene un empleo muy extendido y sirve de base para el aislamiento, identificación y cultivo de todos los hongos microscópicos (micromicetos).

+ Medio Sabouraud - Actidiona - Cloranfenicol

Agar glucosa (4%) de Sabouraud	1000 ml.
Actidiona	0.5 gr.
Cloranfenicol	0.5 gr.

USO: Medio indicado para el aislamiento de los dermatofitos. La incorporación al medio glucosado de Sabouraud de cloranfenicol elimina los contaminantes bacterianos y la adición de actidiona inhibe el desarrollo de algunos hongos saprófitos.

+ Agar con infusión cerebro - corazón (BHI)

Infusión de cerebro de ternera	200 gr.
Infusión de corazón de res	250 gr.
Peptona	10 gr.
Glucosa	2 gr.
Cloruro de sodio	5 gr.
Fosfato monosódico	2 gr.
Agua corriente	1000 ml.

La carne sin grasa se corta en fragmentos y se pone a macerar durante 2 horas y se hierve una hora, filtrar sobre un lienzo o con gasas, agregar la peptona cuando está caliente y luego las sales. Se lleva a 120°C. para precipitar fosfatos y otras sustancias, se filtra por un papel, ajustar el pH a 7 y se esteriliza a 115°C. por 20 minutos.

USO: Para recuperar los hongos patógenos de sangre.

+ Agar corn-meal

Harina de maíz	40 gr.
Agua destilada	1000 ml.
Agar	20 gr.

Se hace hervir en el agua la harina de maíz suavemente durante una hora, se filtra sobre gasas, se ajusta el volumen a 1000 ml. Se agrega el agar que se funde en el autoclave, filtrar sobre varias capas de algodón y gasa. Repartir en tubos y esterilizar a 115°C. durante 15 minutos

USO: Utilizado para la obtención de clamidosporas.

+ Agar Sabhi

Infusión cerebro de ternera	100 gr.
Infusión corazón de res	125 gr.
Proteasa peptona	5 gr.
Glucosa	21 gr.
Cloruro de sodio	2.5 gr.
Fosfato disódico	1.25 gr.
Agar	15 gr.

Para rehidratar el medio, suspender 59 gr. en 100 ml. de agua destilada y calentar hasta hervir. Esterilizar en autoclave, en friar a 50°C. y agregar 1 ml. de solución de cloranfenicol esté ril 100 mg./ml.

USO: Util para la recuperación de Blastomyces dermatitidis e Histoplasma capsulatum. También útil para la conversión de ambas especies a su forma levaduriforme.

+ Agar papa-zanahoria (PZ)

Pulpa de zanahoria	20 gr.
Pulpa de papa	20 gr.
Agar	20 gr.
Agua corriente	1000 ml.

Se maceran las pulpas durante una hora y selleva a ebullición 5 minutos a 100°C., se filtra, se agrega el agar y se funde, re - partir y esterilizar a 120°C. durante 15 minutos

USO: Medio favorable a la esporulación.

+ Agar papa-zanahoria-bilis (PZB)

Al medio agar papa-zanahoria (PZ), se le agrega 15% de bilis fresca.

USO: Medio óptimo para la producción de clamidosporas, principalmente Candida albicans

+ Agar caseína

Caseína, libre de vitaminas	2.5 gr.
Glucosa	40 gr.
Sulfato de Magnesio	0.1 gr.
Fosfato monopotásico	1.8 gr.
Agua	1000 ml.
Agar lavado	20 gr.

- Con el agregado de tiamina-inositol

Se añade a 100 ml. del medio agar caseína 2 ml. de cada una de las soluciones de stock tiamina e inositol, se esteriliza y se conserva a 5°C.

Stock tiamina = Cloruro de tiamina 10 mg; H₂O 1000 ml, pH 5

Stock inositol = i-inositol 250 mg; H₂O 100 ml.

USO: Medio para pruebas diferenciales en Trichophyton

+ Medio para auxonogramas (Modificación de Lodder)a) Asimilación de azúcares

Agar lavado	20 gr.
Sulfato de amonio	2 gr.
Fosfato monopotásico	1.5 gr.
Sulfato de magnesio	0.25 gr.
Biotina	10 ⁻⁹ =1x10 E-9 ml.
Tiamina-Piridoxina-Ac.nicotínico	10 ⁻⁶ =1x10 E-6 ml.

Solución mineral	0.5 ml.
Agua bidestilada	1000 ml.
<u>Solución mineral</u> BO_3H_3 , 28.5 mg.; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 93 mg.;	
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot (\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$, 865 mg.;	
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 30.5 mg.; $\text{Zn SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 395 mg.;	
H_2O hasta completar 500 ml.	

b) Asimilación de nitrógeno

El mismo medio que el anterior con la sustitución del sulfato de amonio por 20 gr. de glucosa

+ Caldo tioglicolato

Peptona caseína	15 gr.
Extracto de levadura	5 gr.
D(+) Glucosa	5.5 gr.
L(+) Cistina	0.5 gr.
Cloruro de sodio	2.5 gr.
Sodio tioglicolato	0.5 gr.
pH = 7.1 \pm 0.1	
Agua destilada	1000 ml.

Suspender 29 gr. del medio en 1000 ml. de agua destilada, hervir hasta completar la disolución. Vaciar en tubos y esterilizar en autoclave 15 minutos a 121°C.

USO: Para el aislamiento de actinomicetos.

+ Agar caseína

Leche descremada (deshidratada o instantánea)	10 gr.
Agar base	10 gr.
Agua destilada	200 ml.

Disolver la leche en 100 ml. de agua destilada, revolver hasta disolución y calentar hasta hervir. Disolver el agar en 100 ml. de agua destilada, revolver hasta disolución y calentar. Esterilizar en autoclave cada solución por separado durante 15 minutos a 115 lbs. de presión. Enfríar a 45°C. ambas soluciones, verter las soluciones en caja de Petri para mezclarlas, agitar la caja para homogenizar y dejar enfriar.

USO: Para identificación de especies de Nocardia, principalmente favorece el desarrollo de Nocardia brasiliensis.

4- TECNICAS DE OBTENCION Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

El diagnóstico de una micosis depende en gran medida de la manera como se efectúa la toma del material patológico sospechoso y del cultivo que se hace de éste. (14).

La recolección apropiada y el rápido envío de muestras al laboratorio clínico son de suma importancia para la recuperación de los agentes etiológicos de las infecciones micóticas. Las muestras deben tomarse y transportarse en envases estériles.

La toma de muestras varía según la zona afectada y el diagnóstico clínico que efectúe el médico; las principales técnicas empleadas en micología médica tienen como objetivo, hacer aparecer en las muestras procesadas y en los cultivos las características distintivas de los hongos patógenos. (27)

Deben de existir en cada laboratorio de micología médica criterios de rechazo, de las muestras que son inaceptables para el estudio micológico en las diversas micosis humanas; por lo que las muestras deben ser tomadas de una manera adecuada. Por ejemplo: Un hisopo escasamente inoculado y seco es casi siempre inútil, un paciente que se presente a la toma de muestras con diversos tipos de artefactos en la piel (cremas, pomadas, antimicóticos, etc.) o en los anexos (uñas y pelos), no puede proporcionar un mal diagnóstico, unas pocas escamas cutáneas recogidas casualmente o pelos tironeados al azar pueden no ser representativos de la enfermedad. (14). Tomando en cuenta los criterios de rechazo es necesario realizar de una manera adecuada la obtención del material biológico que se desea para el estudio micológico, por lo que a continuación se describen las técnicas para la obtención y procesamiento de muestras biológicas mas frecuentemente utilizadas.

A)- OBTENCION DE MUESTRAS BIOLOGICAS

Antes de iniciar la toma de muestras es necesario pedirle al paciente los datos correspondientes para cada estudio micológico (ver denominación del material patológico, capítulo III), y, que el laboratorista se coloque guantes de cirujano para iniciar la toma.

Para empezar la obtención de muestras es necesario que el laboratorista acomode al paciente de una manera práctica y cómoda de acuerdo a la zona afectada donde se realizará la toma de los productos patológicos; se limpiará muy bien la zona afectada con algún pedazo de algodón o gasa que contenga alcohol al 70%, solución de benzalconio al 1% u otro tipo de solución para impedir contaminaciones innecesarias. Para conseguir un material infeccioso adecuado se recomienda, en primer lugar, cerciorarse si efectivamente se lo está extrayendo de las lesiones infectadas.

MICOSIS SUPERFICIALES

+ ESCAMAS

En los casos en que las lesiones sean cutáneas secas, se tomarán escamas de la periferia de las lesiones que generalmente son circulares, ya que las lesiones de la piel causadas por dermatofitos son usualmente circinadas, con borde eritematoso, descamativo, una zona central aparentemente curada y con

una reacción inflamatoria ligera. (7). Las escamas se raspan con la ayuda del borde del extremo mas corto de un portaobjetos o con cureta y se van recolectando al caer en una caja de Petri estéril.

En caso de que se trate de lesiones cutáneas húmedas como por ejemplo las causadas por Candida que produce además nódulos, se tomará la muestra con un hisopo estéril humedecido en solución salina estéril. Cuando la lesión está semiseca se puede intentar un raspado para extraer escamas y además exudados de la dermis.

En caso de Pitiriasis versicolor en la que el hongo se encuentra localizado en las células epidérmicas superficiales, se aplica sobre la lesión un fragmento de cinta "scotch" (7,14), se adhiere muy bien y después de un momento se tira enérgicamente para a continuación adherir la cinta a un portaobjetos limpio y desengrasado.

+ UÑAS

Se elige la zona afectada de la uña donde se realizará la toma; en la base de las uñas en caso de onixis por Cándida o en la extremidad libre en caso de onicomycosis por dermatofitos.

Se coloca la yema del dedo afectado sobre el borde de una de las dos partes de una caja de Petri estéril (con el fin de recolectar las escamas o fragmentos de uña), y se procede a realizar el raspado con el borde del extremo mas corto de un portaobjetos, también es recomendable cortar algunos fragmentos finos en capa de las uñas afectadas, con tijeras. (1)

En casos de lesiones periungueales (perionixis), se deberá recolectar las escamas de los pliegues o surcos periungueales y en el caso de que estas lesiones sean supurativas se extraerá el pus mediante presión y se recoge este material con pipeta Pasteur o con hisopo humedecido en algún caldo de cultivo, ambos estériles.

+ CABELLOS, PELOS

Primeramente se debe de examinar la piel cabelluda del paciente para observar las lesiones que presenta, además de examinar pelos y/o cabellos enfermos o parasitados, los cuales se distinguen por estar rotos o contorneados. (5).

Se hace un raspado cuidadoso en las partes en las que se presenta la lesión en la piel cabelluda y al mismo tiempo se extraen los pelos que se observen enfermos o parasitados. Los pelos o cabellos que no son fáciles de remover se deben arrancar con unas pinzas. finas. El material extraído se recoge en

una caja de Petri estéril o entre dos portaobjetos flameados.

Existe la técnica de la cinta "scotch" sobre las lesiones de la piel cabelluda, adhiriendo la cinta en las lesiones y arrancándola enérgicamente, quedando los cabellos parasitados y/o escamas adheridas a la cinta (7), en seguida se coloca en un portaobjetos que contenga una gota de hidróxido de potasio al 10 ó 20%.

MICOSIS SUBCUTANEAS

En este tipo de infecciones se pueden utilizar los siguientes tipos de materiales clínicos: (5, 7, 14, 27).

- + Obtener el pus de abscesos abiertos mediante pipeta Pasteur, curetaje, con hisopos estériles o jeringa estéril.
- + Exudado de tractos sinuosos drenantes.
- + Material aspirado mediante una jeringa estéril de abscesos subcutáneos y tractos sinuosos cerrados.
- + Tejidos tomados por biopsia.

Este material debe ser inmediatamente cultivado o examinado al microscopio, si no puede ser procesado inmediatamente debe de ser colocado en tubos estériles con solución salina que contengan antibióticos antibacterianos (excepto si se sospecha de actinomicetos) y enviados al laboratorio para ser examinados cultivados y/o tratados con cortes histológicos, según lo requiera el caso.

MICOSIS SISTEMICAS

Los materiales patológicos para el diagnóstico en estas enfermedades sistémicas son obtenidos de varias fuentes orgánicas: (5, 7, 14,27)

- | | |
|---------------------------------|------------------------------------|
| + Sangre | + Raspado de úlcera |
| + Esputo | + Aspirado de abscesos subcutáneos |
| + Líquido cefalorraquídeo (LCR) | + Toma de biopsias |
| | + Exudado de abscesos |
| + Médula esternal | |

Las tomas de todo este tipo de material biológico deben ser realizadas en condiciones estériles como de una pequeña cirugía.

+ EXUDADOS DE LAS MUCOSAS

La toma a nivel de mucosas afectadas se efectúan con la ayuda de hisopos o escobillones estériles, si el examen no se realiza inmediatamente es necesario agregar en un tubo de ensayo, suero fisiológico adicionado de penicilina (500 u/ml), estreptomycin (500 mg/ml), o aún mejor cloranfenicol (500 mg/ml) con el fin de evitar el desecamiento y desarrollo bacteriano. Si se sospecha de actinomicetos no se deberá adicionar los antibióticos.

El envío de hisopos a distancia es poco recomendable,

es mejor enviar frotis de los exudados y los medios de Sabou -
raud ya sembrados con el material obtenido, enviando además los
datos correspondientes del estudio micológico del paciente (ver
denominación del material patológico, pág. 58).

+ PUS Y LIQUIDOS PATOLOGICOS (Líquido pleural, cefalorraquídeo,
orína, etc.)

El pus de las lesiones supurativas (gomas esporotricó -
sicas, abscesos por Candida o Histoplasma, micetomas actinomicó -
sicos o maduromicósicos), debe realizarse la toma lo mas esté -
rilmente posible, de preferencia mediante punción de un absceso
no fistulizado, efectuando frotis.

En las lesiones granulomatosas y fistulizadas de los
micetomas, deberá recolectarse el material por medio de una cu -
charilla de odontólogo, raspando las paredes de la lesión y co -
locando el material en tubos con solución salina estéril y ade -
más porciones de exudado y tejido entre porta y cubreobjetos
con solución lugol, para observación de granos y filamentos de
actinomicetos o maduromicetos.

En el caso de líquidos, realizar la toma lo mas esté -
rilmente en frascos también estériles.

Este material debe de ser inmediatamente cultivado y

examinado al microscopio.

+ MUESTRAS BRONQUIALES

El diagnóstico de las micosis pulmonares (Aspergilo - sis, Criptococosis, Candidosis, Histoplasmosis, etc.), es prefe rible utilizar técnicas para la obtención de las muestras por broncoaspiración, previo aseo de la cavidad bucal y de la faringe con antisépticos como el cloruro de benzalconio. Las mues - tras obtenidas por broncoscopía son mas recomendables que las de expectoración, ya que es una técnica que nos evita el contac to de la muestra con otro tipo de microorganismos que nos pue - den contaminar nuestros cultivos y alterar los resultados.

La broncoscopía permite además efectuar biopsias cuyo estudio es fundamental para el diagnóstico de este tipo de mico - sis.

+ EXPECTORACION

Para evitar contaminaciones con los hongos saprófitos de la cavidad oral, antes de recoger la expectoración se debe - rá realizar limpieza de la boca y usar un desinfectante local. El esputo será colocado en un recipiente estéril. Se recomienda practicar el examen y la siembra en forma inmediata o en caso de imposibilidad, conservar en la nevera del refrigerador (máxi - mo 4 horas).

+ HECES FECALES

El material es obtenido en un recipiente estéril. En caso de utilizarse un escobillón, se añade eventualmente al tubo que lo contiene 1 a 2 ml. de solución antibacteriana.

De ser necesario, solo se tomará una muestra por medio de un hisopo húmedo con solución salina estéril o caldo de cultivo, introduciéndolo en el recto para obtener material fecal suficiente, esta técnica es recomendable para niños menores de edad.

El material recolectado se estudia en general para investigación de Candida y Geotrichum.

+ SANGRE

Para el serodiagnóstico, se extraen de 10 a 20 ml. de sangre en tubos estériles. La sangre para hemocultivos deberá ser citratada (septicemia por Candida), heparinizada o desfibrinada con perlas de cristal. (5, 7)

+ BIOPSIAS DE TEJIDOS O DE ORGANOS

Las piezas de biopsia o de necropsia deberán ser divididas en dos fragmentos; uno se coloca en fijador histológico (Bouin) y el otro destinado a ser cultivado, introduciéndolo a un tubo estéril.

En caso de envío a distancia, la biopsia debe recubrirse con suero fisiológico o agua glicerinada al 25%, agregando antibióticos antibacterianos (excepto si se sospecha en actinomicetos).

La biopsia es el procedimiento mas seguro para el diagnóstico de las micosis subcutáneas y sistémicas.

B- PROCESAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Antes de iniciar el procesamiento de las muestras, es necesario encender el mechero bunsen y colocar bajo éste papel de estraza, con el objeto de que el material que se nos pueda tirar caiga sobre éste, además de tener todo el material, reactivos y medios de cultivo que vamos a necesitar en el procesamiento, a la mano.

+ ESCAMAS, PELOS Y UÑAS

Se colocan los fragmentos de escamas, pelos o uñas en un portaobjetos y con la ayuda de un cubreobjetos se juntan hacia el centro, se añaden una o dos gotas de hidróxido de potasio al 10 ó 20%, se coloca el cubreobjetos y se calienta levemente la preparación pasándola a través del mechero dos o tres veces, procurando no quemar la muestra, con el fin de que la potasa acelere el proceso de aclaramiento.

Para identificar el agente causal es necesario efectuar un cultivo, utilizando para este tipo de muestras generalmente medios como el Sabouraud y Sabouraud modificado con antibióticos. Tomando con el asa algunos fragmentos de las muestras obtenidas cerca del mechero (para evitar contaminaciones) y sembrar los fragmentos de las muestras, primero por picadura y en seguida por estriación en los tubos que contengan los medios de cultivo.

Frecuentemente se siembran dos tubos; uno con Sabouraud y otro con Sabouraud modificado con antibióticos y se dejan a temperatura ambiente.

Cuando en los medios de cultivo sembrados se ha desarrollado alguna colonia fúngica (5-20 días generalmente), se deben realizar dos observaciones; una observar características macroscópicas de la colonia (anotándolas) y otra, observar las características microscópicas, las cuales se observan por medio de dos técnicas:

- a). Examen microscópico directo de la colonia. Se realiza con la ayuda de un asa, se remueven fragmentos de la colonia y se colocan en un portaobjetos, se le agrega una o dos gotas de azul lactofenol, se coloca un cubreobjetos y se observa al microscopio las características microscópicas de la colonia; es recomendable dibujar las estructuras observadas y

compararlas con las estructuras que nos presente un texto especializado en micología.

- b). Técnica de los cultivos en portaobjetos (microcultivos).
Nos sirve para llegar a la diferenciación mas exacta del agente etiológico que nos está causando la afección micótica, la cual se describe mas adelante. (Pág. 51)

Cuando no se ha llegado a la diferenciación de las especies cultivadas, un paso importante para la determinación es la aplicación de las pruebas bioquímicas.

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA LA OBSERVACION DE POSIBLES GRANULOS DE ACTINOMICETOS O MADUROMICETOS

Colocar el espécimen biológico obtenido en un portaobjetos, agregarle lugol o potasa al 10% y colocar un cubreobjetos. Observar al microscopio inmediatamente con objetivo seco débil (X-10) primero y seco fuerte (X-40) después.

La preparación de gránulos para inoculaciones a animales o siembra a medios de cultivo se realiza pasando la muestra del producto patológico obtenido con una pipeta Pasteur estéril a tubos de ensayo (por lo general dos), que contengan solución salina estéril para lavado por centrifugación 3 veces de los gránulos, en seguida los vamos a transferir con otra pipeta Pasteur o asa bacteriológica, estériles ambas, a los medios de culttivo.

PROCEDIMIENTO CON MATERIAL DE BIOPSIA

Cortar el tejido en fragmentos con pinzas o tijeras estériles. Si el tejido presenta material purulento o caseoso, sembrar este material directamente al medio de cultivo, 2 ó 3 ml. de Sabouraud líquido. Pueden sembrarse tejidos afectados en tubos con medio BHI.

Es recomendable efectuar varios frotis para teñir con Gram, Wright, PAS y Zielh Neelsen; si es necesario se realizará un examen en fresco con lugol u otro colorante, además de practicar improntas.

+ LAVADO GASTRICO

Centrifugar la muestra a 2,500 rpm. durante 30 minutos. Decantar el sobrenadante y distribuir el sedimento en dos tubos, uno de ellos con antibióticos antibacterianos para cultivo de hongos y el otro sin los antibióticos, para búsqueda de actinomicetos. Poner 0.1 ml. de sedimento a cada una de las cajas o tubos con el medio que se va a utilizar.

Una porción del sedimento debe examinarse en una preparación con potasa y otra una tinción de PAS.

+ CULTIVO DE MEDULA OSEA

Colectar 0.25 a 3 ml. de médula ósea con una jeringa

heparinizada. La muestra se siembra en varias cajas o tubos con medio de cultivo.

Deben separarse algunas porciones para la preparación de frotis. Después de la siembra, la jeringa se lava aséptica - mente en medi BHI y este caldo se incuba para aislamiento o cul - tivo de hongos.

Todos los cultivos son incubados a temperatura ambien - te y a 37°C.

NOTA:- Esta técnica es útil para todos los especime - nes obtenidos por punción o líquidos patológi - cos.

+ MUESTRA OBTENIDA DE VAGINA

De lavados o de barridos de la mucosa vaginal con hi - sopos estériles, el material así obtenido debe de sembrarse en medios de cultivo con Sabouraud que contenga cloranfenicol y la siembra se realiza por estriación.

Del material obtenido por el lavado o barrido se ela - boran frotis con potasa al 10 ó 20%, la preparación debe exami - narse cuidadosamente.

Los cultivos se dejan a temperatura ambiente de 7 a 15 días antes de descartar como negativos.

PROCESAMIENTO DE ESPUTO Y LAVADO BRONQUIAL

Las muestras deben de ser de los bronquios pulmonares la saliva y la secreción nasal pueden contener bacterias y levaduras, pero usualmente no contiene organismos significativos.

El material debe ser enviado al laboratorio inmediatamente de obtenerlo del paciente. Por ejemplo, Histoplasma capsulatum muere fácilmente en el material clínico que se deja varias horas en el hospital sin ser procesado. (5). Si por algún motivo la muestra no es procesada inmediatamente, ésta debe ponerse en el refrigerador o congelador (un máximo de 4 horas), pero debe ser procesada en ese término.

a)- PROCESO PARA AISLAMIENTO DE HONGOS

Examinar la muestra para buscar sangre, material caseoso o purulento (ver material de biopsia). Inocular al medio de cultivo porciones de ese material, la muestra restante puede ser concentrada por el método de Reap y Laplan de la manera siguiente (no debe de ser concentrada para buscar Histoplasma):

- Poner volúmenes iguales de digestor

N-acetyl-l-Cisteína o Dithiothocitol sin NaOH, en tubos de centrífuga graduados de 50 ml. preferentemente con tapón.

- Mezclar en un Vortex de 5 a 10 segundos, añadir solución salina con buffer de fosfato para completar un volumen de 50 ml.
- Centrifugar a 2,100 rpm. durante 15 minutos, decantar el sobrenadante.
- Añadir cloranfenicol para obtener una concentración final de 0.1 mg/ml.
- Usando una pipeta Pasteur sembrar el sedimento a tubos con medio de cultivo y extender con el asa bacteriológica.
- Colocar una gota del sedimento en un portaobjetos para cada una de las preparaciones que se efectuarán.

NOTA: Si se va a realizar cultivos para actinomicetos se debe quitar una porción del sedimento antes de añadir el cloranfenicol u otro antibiótico antibacteriano.

b)- PROCESO PARA BUSCAR HISTOPLASMA CAPSULATUM

Se realizan siembras directamente de las porciones purulentas o caseosas a medios de cultivo, la muestra restante se homogeniza añadiendo 2-3 ml. de caldo mezclando bien con una jeringa o pipeta Pasteur estériles, cada caja o tubo con medio se siembra con 0.5-1 ml. del homogenizado.

Generalmente las células de Histoplasma capsulatum se encuentran numéricamente pocas y éstas células con frecuencia son suprimidas por el crecimiento rápido y abundante de otros organismos presentes en nuestras muestras (por esta razón no se

recomienda las concentraciones de la muestra), si es posible es recomendable inocular algunos ratones con sedimento por vía intraperitoneal para demostrar la presencia de H. capsulatum al sacrificar los ratones al cabo de 3 a 4 semanas.

+ ORINA

Se requiere una muestra recogida en recipientes estériles, para estudios micológicos, una muestra recogida por aspiración de vejiga es buena.

Es necesario tomar en cuenta que viven levaduras en el tracto urinario como saprófitas, entre las cuales se encuentra la Candida y Torulopsis y la abundancia en la que se hallen nos indica un estado infeccioso o normal del paciente. (14).

Procedimiento.- Centrifugar la muestra a 2,000 rpm. durante 15 minutos, decantar el sobrenadante y hacer preparaciones directas del sedimento, incluyendo la técnica de tinta china y una con PAS, examinándolas cuidadosamente.

Añadir cloranfenicol a una concentración final de 0.1 mg/ml. y pasar 0.1 ml. a cada tubo o caja con medio de cultivo.

NOTA:- La presencia de pseudomicelios, blastosporas y/o clamidosporas en el sedimento urinario indica Candidosis, aun

que frecuentemente dá una úlcera benigna de vejiga. Una muestra de orina puede revelar Criptococcus neoformans en pacientes con criptococosis diseminada.

+ SUERO

Para las reacciones de fijación del complemento se utiliza el suero obtenido después de la retracción del coágulo. La adición de algunas gotas de merthiolate al 1% o de nitruro de sodio al 5% evitará contaminaciones bacterianas. (5).

C A P I T U L O I I I

METODOS DE DIAGNOSTICO EN MICOLOGIA MEDICA

Basados en:

- 1). Observación del parásito en las lesiones
- 2). Aislamiento del hongo sea directamente por medio de cultivos o indirectamente a través de inoculaciones en animales
- 3). Identificación del hongo
- 4). Reacciones inmunológicas

1- OBSERVACION DEL PARASITO EN LAS LESIONES

Se realiza efectuando los siguientes exámenes al producto patológico que se obtiene de los pacientes, previo tratamiento para observar al microscopio.

a). Exámenes directos, con tinción o aclarantes.- La investigación de los hongos en los productos patológicos (escamas, pus, líquidos patológicos, etc.), por medio del examen directo al microscopio, constituye la etapa mas importante del estudio micológico, ya que es donde se descubre el parasitismo en las muestras biológicas, aunque no se diagnostique el agente etiológico.

Las estructuras de los hongos varían de 2 a 20 micras por lo que son mas grandes que las estructuras bacterianas, ade

más las estructuras micóticas se encuentran limitadas por una membrana neta que se puede observar al microscopio con aumentos seco débil (x-10) y seco fuerte (x-40), al estado fresco previo tratamiento con potasa al 10 ó 20%.

El número de elementos fúngicos en una lesión es importante para algunos hongos como Candida que son saprófitos de las mucosas, ya que su abundancia es la que tiene significado patológico y el número siempre es inferior al encontrado en infecciones bacterianas. (13).

b). Cortes histológicos.- El diagnóstico histopatológico es con frecuencia un elemento orientador y en ocasiones por sí mismo decisivo e indispensable para probar el papel patógeno de los hongos. (5).

La técnica de Hotchkiss-MacManus (PAS), tiñe con gran intensidad la membrana polisacárida de los hongos y permite así un diagnóstico rápido, evitando en esta forma errores de interpretación.

Las micosis presentan a menudo el aspecto de una inflamación aguda, subaguda o crónica inespecífica, no obstante algunas lesiones micóticas como las de los micetomas (inflamación nodular pseudotumoral) son sumamente evocadoras en sí.

2- AISLAMIENTO DEL HONGO SEA DIRECTAMENTE POR MEDIO DE CULTIVOS
O INDIRECTAMENTE A TRAVES DE INOCULACIONES EN ANIMALES.

Después de haberse efectuado el examen directo, las muestras se siembran en diversos medios de cultivo (con el fin de separar el parásito de los gérmenes asociados y tener cultivos puros). El medio de Sabouraud y Sabouraud modificado con ant antibióticos antibacterianos son los medios clásicos de aislamiento.

Algunos hongos necesitan factores de crecimiento (vitaminas) o medios especiales (con sangre, huevo u otros elementos) para obtener su fase levaduriforme. (16).

La temperatura es fundamental para el crecimiento y desarrollo de los hongos y en ocasiones nos determina las diferencias de algunos hongos saprófitos de los patógenos, ya que crecen a temperaturas diferentes. El tiempo en que se desarrollan los hongos varía según el medio en que se siembren, la temperatura, los factores de crecimiento agregados al medio, etc. Los dermatofitos y la mayor parte de los hongos patógenos se desarrollan de 5 a 20 días generalmente, las levaduras de 24 a 48 hrs. y los mohos del tipo *Aspergillus*, *Mucor* y *Penicillium* de 2 a 4 días.

Los antibióticos antibacterianos, al ser agregados al

medio de cultivo, inhiben el crecimiento bacteriano, ya que los hongos no son sensibles a éstos. La actidiona (ciclohexamida) es un antibiótico fungistático que inhibe el crecimiento de algunos hongos saprófitos sin alterar el desarrollo de la mayoría de los hongos patógenos.

Quando se tenga una muestra en la que se sospeche de una micosis de tipo sistémico (Histoplasmosis, Blastomicosis, etc.), es recomendable inocular si es posible directamente un animal sensible (ratón o Hamster), que será sacrificado a las 3 ó 4 semanas y el cultivo de los órganos de este animal permitirá obtener cultivos mas puros del parásito. (27).

a). TECNICA DE CULTIVOS EN PORTAOBJETOS (MICROCULTIVOS)

Primeramente es necesario esterilizar para cada microcultivo, una caja de Petri que contenga: Una gasa, una varilla de vidrio doblada en "V", un porta y cubreobjetos.

Técnica.- Se corta un bloque de agar (+ 15 x 15 mm.) de Sabouraud o dextrosa de papa, previamente vertido en una caja de Petri con un espesor de 2 a 4 mm. Esto puede realizarse usando una hoja de bisturí o una espátula con borde cortante.

Con un asa estéril se coloca el bloque de agar (+ 15 x 15 mm.) en la superficie del portaobjetos que se encuentra en la caja de Petri previamente esterilizada.

Con el asa estéril se remueven porciones pequeñas de la colonia del hongo que se desea identificar y el cultivo se realiza sembrando los 4 ángulos y cuadrantes del bloque de agar. Después de la siembra se coloca el cubreobjetos que esterilizamos en la caja de Petri y con una jeringa estéril agregamos agua o solución salina estériles sobre la gasa que se encuentra también dentro de la caja de Petri, con el objeto de mantener húmedo nuestro microcultivo.

El microcultivo se deja a temperatura ambiente o a 37°C., según lo requiera el caso.

NOTA:- Es importante señalar que para llevar a cabo la técnica y evitar contaminaciones innecesarias se recomienda tomar las mayores precauciones de esterilidad, llevando la técnica junto al mechero.

Cuando el microcultivo se ha desarrollado (1-2 semanas), se sigue una técnica sencilla de tinción que a continuación se describe:

- Se destapa la caja de Petri y se le agregan al microcultivo unas gotas de metanol durante 20 minutos.
- Se lava con alcohol por 25 minutos.
- Separamos cubre de portaobjetos y quitamos el agar que se encuentre en el portaobjetos.

- Dejamos secar y teñimos con colorante deseado (verde brillante, azul de algodón, safranina, etc.) durante 25 minutos.
- Lavamos con agua y quitamos el exceso de colorante con alcohol.
- Montar en bálsamo y colocar cubreobjetos

3- IDENTIFICACION DEL HONGO

Obtenido el cultivo del parásito los estudios de los caracteres macro y microscópicos así como las propiedades bioquímicas en medios especiales, permitirán determinar el género y la especie del agente patógeno.

a). Caracteres macroscópicos de la colonia

- Velocidad de crecimiento
- Temperatura en que crece
- Tamaño y aspecto de la colonia
- Color
- Pigmentación (micelios aéreo y vegetativo).
- Consistencia (cremosa, algodonosa, aterciopelada, etc.)
- Variaciones morfológicas en diferentes medios de cultivo

Se recomienda tomar nota de estas características para familiarizarnos poco a poco con cada especie estudiada.

b). Caracteres microscópicos de la colonia

- Micelio (septado, cenocítico, ancho, filamentoso).
- Esporas (grandes, pequeñas, piriformes, esféricas, sesiles, etc.)
- Conidioforos (acrotecas, cabezuelas, phialides, etc.)
- Esterigmas
- Vesículas
- Etc.

Estas características pueden observarse por medio de las técnicas de los microcultivos (Pág. 51) y/o por medio del examen microscópico directo de la colonia (Pág. 48).

c). Propiedades bioquímicas de las especies cultivadas

Estas pruebas son necesarias cuando alguna especie cultivada se dificulta en su identificación por los métodos descritos. Este tipo de estudios son preponderantes en el caso de levaduras y nocardias para llegar a la determinación de su especie.

Estos métodos se basan en las propiedades fisiológicas de los hongos y son importantes para ampliar la morfología de los mismos. (5, 7, 13, 27, 32)

4- REACCIONES INMUNOLOGICAS

Algunos hongos patógenos provocan reacciones de tipo inmunológico en el huésped que permiten hacer el diagnóstico de esa micosis. Estas reacciones son: a) Prueba de la sensibilidad cutánea frente a los antígenos (extractos o filtrados de cultivo), b) reacciones serológicas de aglutinación, precipitación y desviación del complemento. (27).

a). Prueba de la sensibilidad cutánea frente a los antígenos

Se efectúa por medio de inyecciones intradérmicas de 0.1-0.2 ml. del producto por investigar. Para esto se utiliza una jeringa graduada. Hay que inyectar el antígeno de tal forma que al hacerlo se forme una pequeña pápula intradérmica. La lectura de la reacción se lee a las 24 y 48 hrs. después de la inyección. Se medirá en centímetros el diámetro de la superficie indurada y eritematosa (la induración se palpa y puede ser visible). En la práctica las reacciones se clasifican en:

- + Reacción positiva - Induración mínima de 5 mm. de diámetro
- + Reacción dudosa - Induración de menos de 5 mm. de diámetro
con o sin eritema, exclusivamente midiendo
más de 5 mm. de diámetro
- + Reacción negativa - Ausencia de induración y eritema de menos
de 5 mm. de diámetro

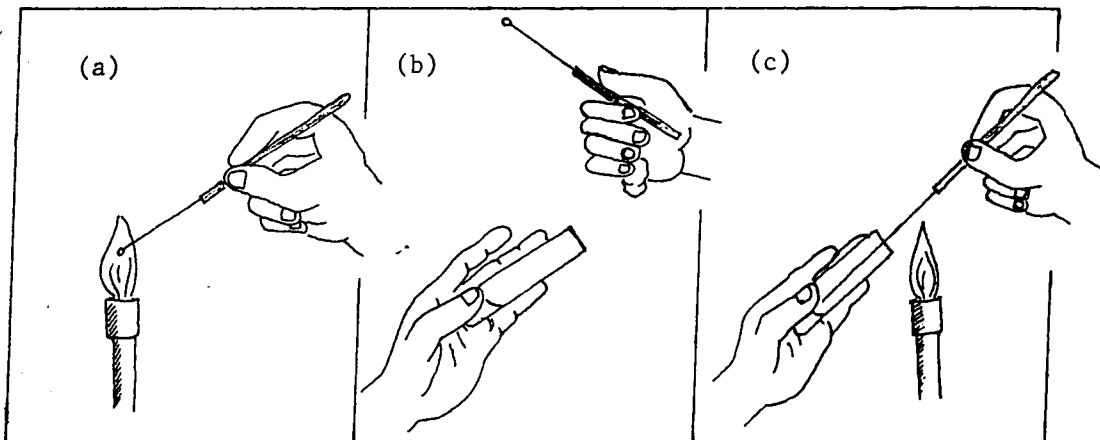
Las micosis para las cuales la prueba de la sensibilidad cutánea es frecuentemente utilizada como diagnóstico son: Histoplasmosis, Coccidioidomicosis, Blastomicosis, Esporotricosis y otras menos específicas como las Dermatomicosis y la Candidosis.

b) Reacciones serológicas

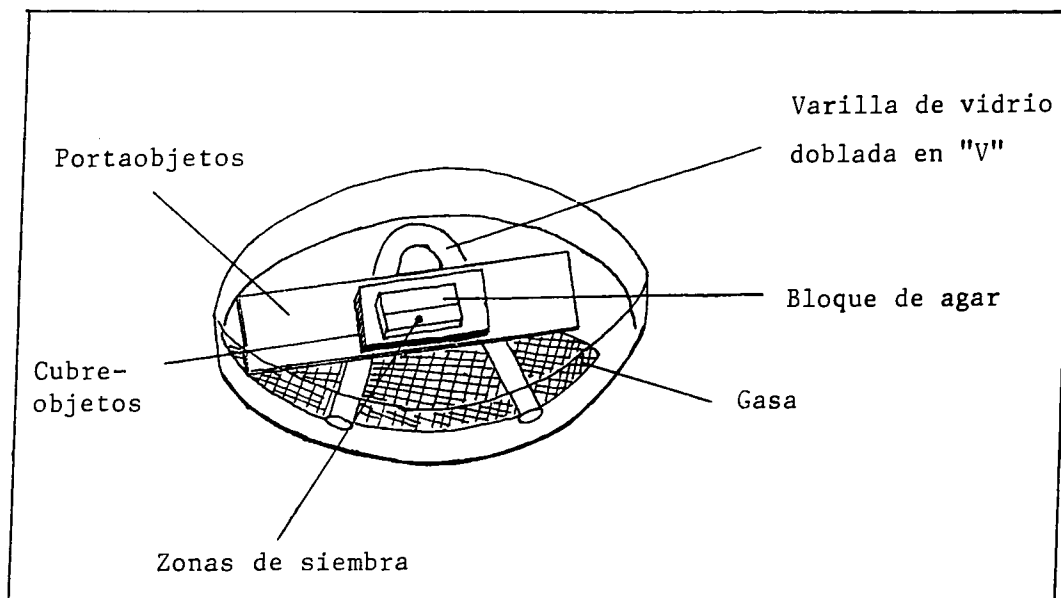
Estas pruebas ponen en evidencia la prueba de anticuerpos y se practican solo en algunas micosis sistémicas como por ejemplo: Histoplasmosis, Coccidioidomicosis, Blastomicosis, Aspergilosis pulmonar en las cuales se descubren durante la fase activa de la enfermedad en el suero de los pacientes:

- + Anticuerpos que aglutinan partículas de coloidón sensibilizadas con los antígenos respectivos.
- + Anticuerpos precipitadores (precipitinas) con los extractos de los hongos correspondientes.
- + Anticuerpos fijadores del complemento

TECNICA DE SEMBRADO



- a). Esterilización del asa y se enfría en un tubo con agar
 b). Forma de destapar el tubo que contiene el medio de cultivo estéril, nótase el tapón y el asa en la misma mano.
 c). Sembrado junto al mechero



Microcultivo

DENOMINACION DEL MATERIAL PATOLOGICO

Los productos patológicos deberán ser empleados con cuidado en caso de envío a distancia o en caso de que sean procesados y diagnosticados en el mismo lugar de la obtención de los productos patológicos, deberán contener para ambos casos una ficha de datos correspondientes al estudio micológico. (14)

Los datos fundamentales que deberá contener cada ficha son como el modelo siguiente (tomado del modelo de ficha que se realiza en el Instituto Dermatológico de Guadalajara y del laboratorio del Dr. J. Jesús Mayorga Loera).

- Fecha de la toma del material patológico
- Clave o número que se designa al estudio
- Nombre, edad, sexo y ocupación del paciente
- Lugar de origen del paciente
- Diagnóstico presuntivo del médico
- Topografía de la zona afectada
- Evolución de la afección
- Terapéutica empleada antes del estudio micológico
- Pruebas intradérmicas
- Localidad en donde se inició la micosis
- Como supone el paciente que se originó la enfermedad
- Fecha de resultados (directo, cultivo y/o reacción intradérmica).
- Nombre y dirección del médico o laboratorio remitente

C A P I T U L O I V

LAS MICOSIS Y SUS AGENTES ETIOLOGICOS

Los hongos pueden causar enfermedades en diversos tejidos y partes del cuerpo y de acuerdo a esto es como se clasifican las enfermedades que nos producen (micosis).

En el capítulo I se mencionó que los agentes etiológicos se clasifican desde el punto de vista epidemiológico en endógenos cuando se encuentran dentro del hombre como saprofitos y bajo ciertas condiciones se vuelven patógenos y exógenos son los que se encuentran difundidos en la naturaleza y diversos artefactos.

Podemos mencionar que existen factores determinantes que inhiben o desarrollan una micosis, los cuales clasificaremos en orgánicos y externos. Los orgánicos son todas aquellas barreras mecánicas de la piel y las membranas mucosas, secreciones superficiales (ácidos grasos, sudor y material sebáceo), trampas anatómicas (por ejemplo la cavidad nasal) y la acción mecánica limpiadora de los cilios en los conductos respiratorios. Los agentes etiológicos de las diversas micosis que penetran estas barreras estimulan una respuesta inflamatoria y son sujetos de fagocitosis por la circulación y las células fagocíticas fi-

jas en los tejidos, existe pues una respuesta celular y otra humoral. (9).

Los factores externos van a ser todos aquellos que estimulen o participen en la aparición de una enfermedad micótica como por ejemplo: los factores climáticos, diversos artefactos, la vegetación, etc.

El adulto sano posee un alto nivel de inmunidad natural a infecciones por hongos. Esta resistencia natural es de tipo no específico y depende tanto de factores genéticos como de la edad, el sexo, la nutrición y el balance hormonal. (28).

MICOSIS SUPERFICIALES

Son infecciones que involucran a la piel, el cabello o las uñas.

a). DERMATOFITOSIS

Son infecciones producidas por un grupo de hongos conocidos como dermatofitos (dermatofitosis o tiñas), son hongos parásitos de la epidermis y sus anexos, este grupo requieren de queratina (queratinófilos), para su crecimiento y desarrollo. (4, 25, 22).

Los dermatofitos en el hombre pueden tener tres orígenes

nes: de los animales (zoofílicos), del suelo (geofílicos) o de otros humanos (antropoílicos). (31).

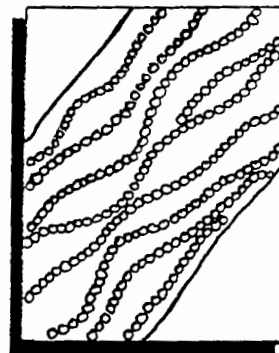
Los dermatofitos se describen usualmente con el término latino de tinea (tiña), seguido por la designación latina de la topografía afectada, por lo tanto tinea corporis es la dermatofitosis de la piel lampiña, tinea capitis es una infección dermatofítica de la cabeza y así sucesivamente. (28).

Emmons agrupó a los dermatofitos en tres géneros basándose en los caracteres morfológicos tanto macro como microscópicos de los cultivos, los géneros son: Trichophyton, Microsporum y Epidermophyton con diversas especies cada uno de ellos, excepto el género Epidermophyton el cual consta de una sola especie. Los 3 géneros al examen directo se van a observar de la misma forma, como hifas tabicadas, que pueden o no estar ramificadas.

Dentro de los dermatofitos que afectan el pelo (género Trichophyton y Microsporum con varias especies), existen dos formas de parasitación dependiendo de la localización de las esporas, si se encuentran dentro del pelo es de tipo endothrix y si están fuera es de tipo ectothrix, pudiendo encontrar en algunas especies un tipo ecto-endothrix. (25, 32).

+ Trichophyton tonsurans, Malmsten, 1845.

Su distribución es mundial, infecta la piel, uñas y pelos, en las cuales destaca su fragilidad por romperse dejando cortos fragmentos oscuros que resaltan de las partes alopecias escamosas. Las infecciones son de origen antropofílico. En el pelo existe una parasitación endothrix aunque al principio la invasión de las esporas están parcialmente externos (formación ecto-endothrix). También se pueden observar filamentos.



Cultivo

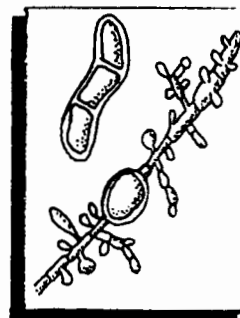
a). Características macroscópicas

Esta especie exhibe toda una gama de variaciones. Al principio dá una pequeña colonia blanca, aterciopelada que se va tornando amarilla de un color azufrado y suavemente pulverulenta, después al octavo día, aparecen una serie de surcos y la colonia toma una dureza como de cartón. Los pliegues mas o menos abultados que se van originando son los que forman las variedades. De un cultivo monocelular de cualquier cepa de T. tonsurans dá lugar a las diferentes variedades. El reverso es usualmente rojo-café difundiéndose el pigmento en el medio.

b). Características microscópicas

Microconidias piriformes, hialinas, pequeñas cuando envejecen los cultivos éstas se deforman y son mas grandes, aparecen además clamidosporas.

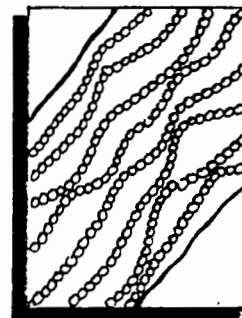
Las macroconidias son raras y cuando existen son muy irregulares en forma y en tamaño



NOTA.- T. tonsurans requiere de tiamina para desarrollarse mas rápido.

+ Trichophyton rubrum (Castellani), Sabouraud, 1911.

Infecta la piel y las uñas, menos frecuente en pelos y cuero cabelludo. Es la especie mas común de los dermatofitos que infecta al hombre. En el pelo forma cadenas de esporas y una parasitación de tipo endotrix.



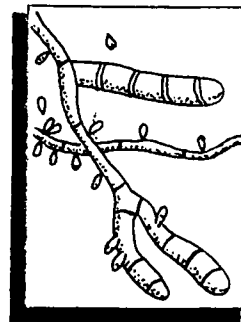
Cultivo

a). Características macroscópicas

En el medio glucosado de Sabouraud suele producir una colonia algodonosa o aterciopelada blanca. A medida que la colonia envejece se produce un color característico rojo vino o púrpura que pasa los bordes marginales en su reverso.

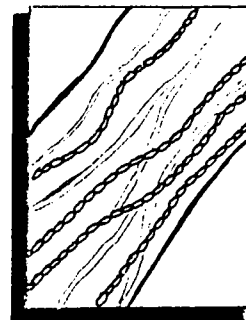
b). Características microscópicas

A lo largo de la hifa están adheridas muchas microconidias piriformes o en racimos. Las macroconidias son alargadas (3-8 septos) en forma de "lápiz o salchicha". Otras estructuras son hifas en raqueta, en espiral y clamidosporas



+ Trichophyton schoenleinii (Lebert); Langeron y Milochevitch, 1930.

Es el agente que usualmente causa la tiña favosa, origina costras amarillentas y alopecia permanente. El contagio es interhumano, en el pelo produce una parasitación tipo endothrix filamentoso, produce en facículo de tubos micelianos longitudinales, ramificados, dicotómicos y aisladamente cadenas de artrosporas.



Cultivo

a). Características macroscópicas

En el medio de Sabouraud, la colonia es de aspecto blanco correoso, la cual se pliega profundamente formándose hendiduras, cuando envejece la colonia se hace mas irregular y aterciopelada. El reverso es de un color amarillo naranja o tostado

b). Características microscópicas

No produce macroconidias y las microconidias son raras, su micelio es muy irregular y se caracteriza por los denominados "candeleros fávicos" en forma de asta de reno, produce además clamidosporas intercalares o terminales.



NOTA:- Se pueden obtener microconidias a partir de medios que contengan arroz.

+ Trichophyton mentagrophytes(Robin), Blanchard, 1896

Productor de tiñas en la piel, pelos y uñas, es el agente común que produce el "pie de atleta". La infección es de origen humano y animal. En el pelo produce una parasitación ectothrix microspórica

Cultivo

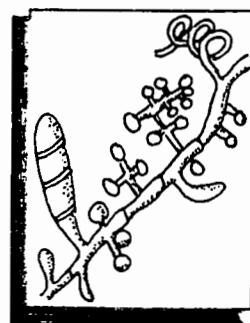
a). Características macroscópicas

1). Variedad algodonosa.- Forma colonias discoides aplanadas (frecuentemente con un borde en el centro), algodonosas y blancas. En cultivos viejos muestra una fina pulverización y produce un pigmento amarillo. El reverso puede dar un color rojo marrón con la periferia mas clara.

2). Variedad granular.- Superficie granulosa de color amarillo-parduzco, se produce el crecimiento a partir de muchos focos. El reverso de la colonia va desde un pardo a un rojo profundo. En ciertas cepas la periferia presenta una corona de rayos superficiales, ligeramente granulosa (sub-var. asteroides)

b). Características microscópicas

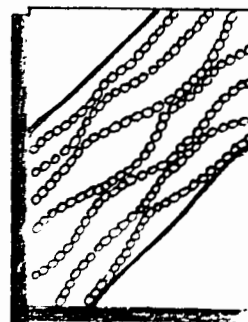
Las macroconidias son poco frecuentes y cuando existen son claviformes sostenidas por un corto pedículo, lisas, de paredes delgadas y de 2-6 septos. El aspecto granuloso de la colonia en la variedad granular es consecuencia de sus numerosas microconidias esféricas, dispuestas en racimos. Presenta hifas en espiral y cuerpos nodulares.



NOTA.- Suele confundirse con otras especies de *Trichophyton* como *T. tonsurans* y otras, la incógnita se dilucida mediante la técnica de crecimiento de pelos in vitro (31 y 32). En la cual *T. mentagrophytes* produce una penetración en el pelo en forma de cuña.

+ *Trichophyton violaceum*, Bodin, 1902.

Infecta el cuero cabelludo, piel y uñas causante de uña tiña faviforme. En el pelo presenta una parasitación tipo endothrix con cadenas de esporas.



Cultivo

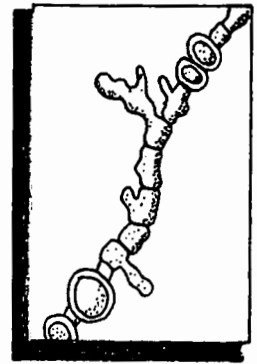
a). Características macroscópicas

En el medio de Sabouraud la colonia crece lentamente al principio es lisa, brillante, compacta, de aspecto levaduriforme y color céreo, luego le aparecen surcos y se vuelve aterciopelada y adquiere un color púrpura del cual deriva el nombre. Algunas cepas dan un pigmento amarillo-grisáceo o pardo.

b). Características microscópicas

En el medio de Sabouraud se observan únicamente un micelio irregular y clamidosporas.

En el medio caseína-tiamina se producen numerosas microconidias, también aparecen macroconidias hialinas, de paredes lisas, delgadas, alargadas y claviformes.



NOTA.- Esta especie es un ejemplo de que el aspecto de la colonia depende del medio de cultivo. Los medios mas recomendables son el agar extracto de malta y medio de caseína-tiamina.

+ Trichophyton verrucosum, Bodin, 1902.

Infecta el cuero cabelludo, barba, uñas, piel y otras partes del cuerpo. El contagio humano se produce entre aquellas personas que tienen contacto con animales. Produce en el pelo parasitación tipo ectothrix megasporica.



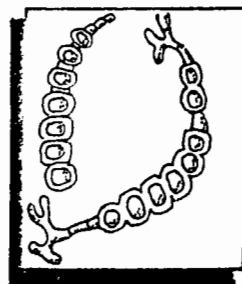
Cultivo

a). Características macroscópicas

Crece muy lentamente, al principio las colonias son serosas, posteriormente se vuelven blancas, elevadas y plegadas profunda e irregularmente. Esta especie contiene 3 variedades.

b). Características microscópicas

Micelio de forma irregular y clamidosporas, las micro y macroconidias son raras y se obtienen a partir de medios enriquecidos.



NOTA:- El crecimiento de la colonia se acelera con el agregado de inositol y tiamina.

+ Microsporium canis, Bodin, 1902

Se encuentra distribuido en todo el mundo, es el agente mas común de la tiña microspórica en el hombre; afecta la cabeza, barba, piel lampiña y las uñas. La infección proviene generalmente de anima - les domésticos (perros, gatos), la propaga ción es posteriormente interhumana. Se ca - racteriza por un tipo de parasitación ectothrix microspórica, formando un mosaico de pequeñas esporas (2-3 micrones).



Cultivo

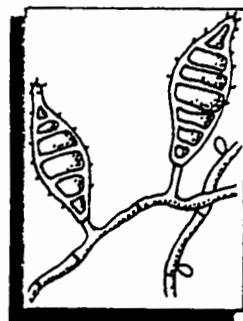
a). Características macroscópicas

Su desarrollo es fácil, su crecimiento produce un mi - celio algodonoso blanco pero al poco tiempo se vuelve amarillen to-cafesoso. El reverso del medio dá un color anaranjado cafeso so y el reverso de la colonia es pardo-rojizo.

b). Características microscópicas

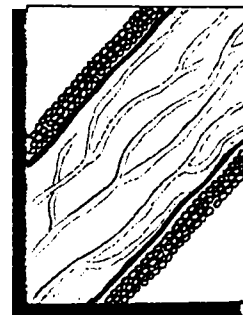
Macroconidias abundantes alarga das, fusiformes con extremos afilados y paredes verrucosas, multiseptadas (4-12 septos). Microconidias piriformes y usual mente sésiles a lo largo de la hifa.

Otras estructuras son hifas en raqueta, pectinadas, cuerpos nodulares y clamidosporas



+ Microsporum audouinii, Gruby, 1843.

Agente productor de tiña en la cabeza y la piel lampiña, su distribución es mundial. Produce en el pelo una parasitación tipo ectothrix microspórica, las esporas se hallan formando un mosaico en el pelo.



Cultivo

a). Características macroscópicas

En el medio de Sabouraud produce una colonia de micelio plano con superficie aterciopelada, de crecimiento radial lento. El color es blanco al principio y después se torna bronceado a un café-ahumado o parduzco. El reverso es naranja o café-rojizo.

b). Características microscópicas

Macroconidias raras y cuando existen son defomadas e irregulares, de paredes delgadas. Posee hifas en raqueta, pectinadas, cuerpos nodulares y clamidosporas. Las microconidias son raras y se encuentran cuando existen en los filamentos micelianos



NOTA:- El M. audouinii se asemeja a M. canis excepto por su escaso crecimiento en medios preparados con arroz. Para obtener macroconidias y otras formas microscópicas se debe agregar al medio extractos de levadura.

+ Microsporum gypseum (Bodin), Guiart y Grigorakis, 1928.

Se encuentra en el suelo y es un parásito frecuente en los animales, rara vez del hombre al cual le produce tiñas mas o menos inflamatorias de la cabeza, piel lampiña, pies y de la región inguinal. Su distribución es mundial y presenta en el pelo una parasitación tipo ectothrix megaspórica, las esporas constituídas en cadenas o en masas irregulares. Cuando se encuentra en el cráneo produce un tipo de tiña faviforme.



Cultivo

a). Características macroscópicas

Colonias de rápido crecimiento aplanadas de consistencia lanosa y después pulvulentas o granular, de color castaño canela o cafésoso. La pared central de la colonia forma una prominencia algodonosa de color blanco. El reverso es de un color amarillo pálido o tostado, ocasionalmente el medio se torna rojo.

b). Características microscópicas

Macroconidias abundantes elipsoidales con extremos redondos (no como las puntas de M. canis), de 4 a 6 septos, las microconidias son en forma de clava y usualmente sésiles a lo largo de la hifa, pueden existir hifas en raqueta y cuerpos nodulares



+ Epidermophyton floccosum (Harz), Langeron y Milochevitch, 1930

Produce infección en la piel y en las uñas, es una especie antropofílica con distribución mundial.

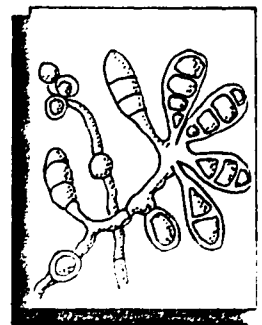
Cultivo

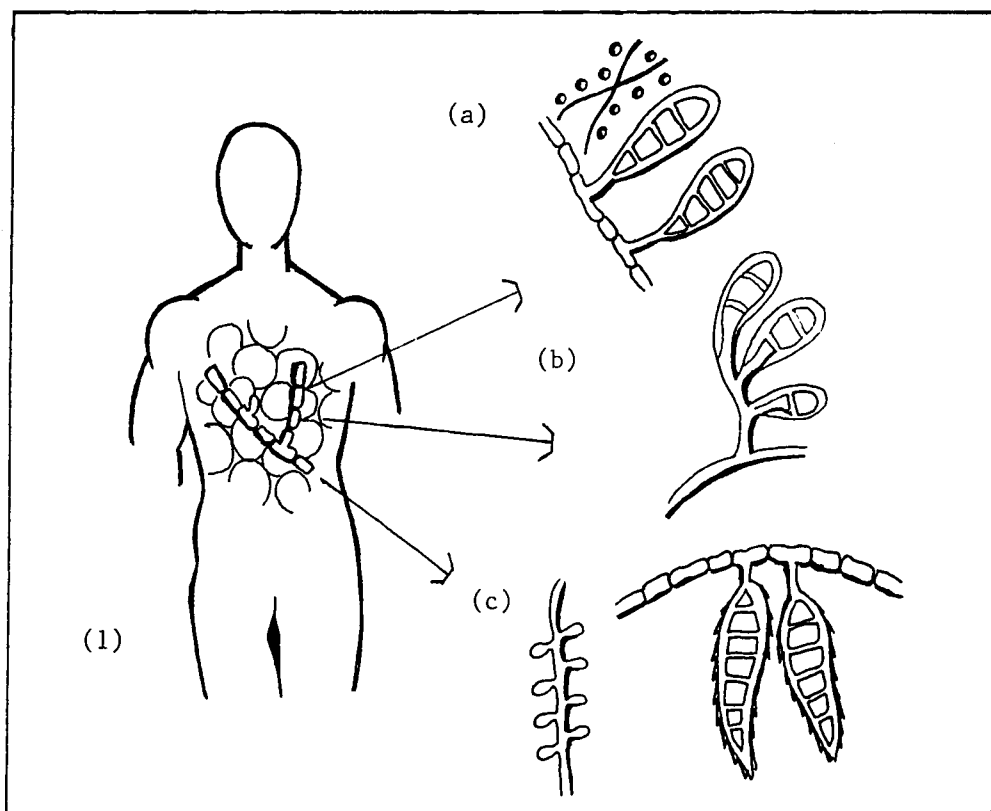
a). Características macroscópicas

La colonia joven es delgada y plana, de color amarillo verdoso que puede verse tanto en el anverso como el reverso. Posteriormente la colonia se pliega y el pigmento se vuelve naranja, formando un micelio blanco pleomórfico. El reverso es anaranjado-café con bordes amarillos.

b). Características microscópicas

Se reconoce por sus macroconidias fusiformes, elipsoidales, ovales, multiseptados. Las microconidias son raras. En cultivos viejos aparecen clamidosporas terminales y/o intercalares a lo





Etiología de los dermatofitos: (1) Parasitación en piel, se presentan como filamentos artosporados. En cultivo producen 3 ti - pos de esporas por lo que se distinguen; a) Trichophyton, b) Epidermophyton y c) Microsporum (33).

b). PITIRIASIS VERSICOLOR

+ Malassezia furfur (Robin), Baillon, 1889.

Produce una enfermedad asintomática (Pitiriasis versi color), que se caracteriza por la presencia de manchas irregula res descamativas de color café u ocre que aparecen en tronco, cuello o brazos. Es una enfermedad cosmopolita con predominan - cia en climas tropicales. (16, 33).

Cultivo

a). Características macroscópicas

Por lo general este hongo no es cultivable y las escamas son directamente tratadas con potasa o lactofenol o tomadas con la técnica de cinta "scotch". Cuando se cultiva es un hongo que produce colonias de tipo levaduriforme y requiere de aceite de olivo estéril para su desarrollo.

b). Características microscópicas

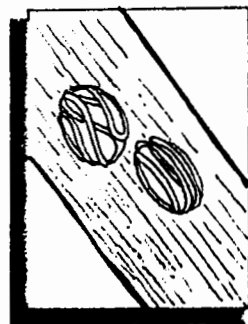
Constituído por células esféricas (levaduras), provistas de una gruesa membrana algunas en gemación agrupadas en forma de racimos de uva, provistas de filamentos cortos y gruesos.



c). PIEDRA NEGRA

+ Piedraia hortae (Brumpt), Fonseca y Leão, 1928

Afecta el pelo y se manifiesta por la presencia de nódulos duros firmemente adheridos al tallo del pelo. En el estado parasitario en pelo se observan concreciones negras o pardo oscuras, tratadas con potasa (20%) mostrarán numerosos ascos cada uno con 8 ascosporos fusiformes (16, 32 y 33).



Cultivo

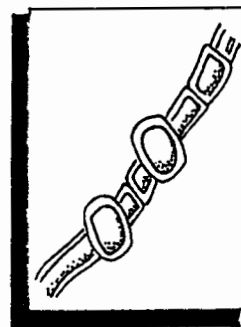
a). Características macroscópicas

En el medio glucosado de Sabouraud se obtienen colonias adherentes, compactas, lisas y glabras al principio verde negruzcas y después se tornan completamente negras y cerebriformes.

b). Características microscópicas

Se observan filamentos oscuros de paredes gruesas y clamidosporas

NOTA:- En medio agar zanahoria se pueden observar ascos similares a los observados en el estado parasitario en pelo.



d). PIEDRA BLANCA

+ Trichosporum beigelii (Rabenhorst), Vuillemin, 1902.

Es una afección del cabello, barba y bigotes de tipo cosmopolita que se caracteriza por la presencia de nódulos duros grisáceos y ocres adheridos firmemente a todo lo largo del tallo piloso.



Cultivo

a). Caracteres macroscópicos

Produce colonias de tipo membranosas, plegadas y de un color como la cera.

b). Características microscópicas

Posee largas cadenas de artros poros cada una capaz de dar por gemación un blastosporo por lo que el aspecto microscópico del cultivo cambia



e). TINEA NIGRA

+ Exophiala (Cladosporium) werneckii, Horta, 1921.

Agente productor de una afección asintomática (tinea nigra) en la palma de las manos y rara vez en otras partes del cuerpo. Las lesiones consisten en manchas cafés o negras; al examen directo se presenta un micelio de 1.5 a 3 micrones color pardo oscuro o clamidosporas

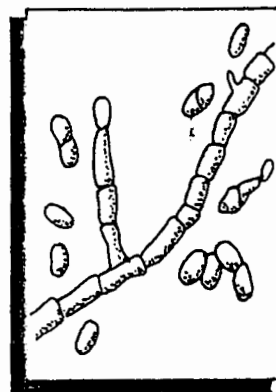
Cultivo

a). Características macroscópicas

Dá colonias con una superficie de aspecto levaduriforme de color olivo brillante, pero después su micelio aéreo se torna de un color gris-verduzco y el centro de este pierde el brillo. El reverso es de un color negro.

b). Características microscópicas

Al principio de los cultivos se observan blastoporos hialinos de paredes delgadas que nacen lateralmente de las hifas vegetativas y de pigmentación parda. En cultivos viejos la hifa está septada, oscura, encorvada y lateralmente produce conidias ovals.



MICOSIS SUBCUTANEAS

Son infecciones causadas por los agentes de esporotricosis, micetomas, cromomicosis y quistes faeomicóticos, rinosporidiasis y entomophthoramicosis que pueden afectar tanto tejidos tegumentarios como órganos profundos y algunas veces dar formas diseminadas.

Todos los agentes etiológicos de este tipo de micosis son saprofitos del suelo o vegetación (excepto Rhinosporidium seeberi, agente productor de rinosporidiosis y cuya existencia saprofita no ha sido encontrada. (9)). Se ha observado que en climas templados este tipo de infecciones se presentan con mayor incidencia que en otro tipo de climas. Las infecciones se adquieren por implantación traumática del agente etiológico, usualmente los padecimientos son crónicos y permanecen localizados mas sin embargo pueden extenderse a los tejidos adyacentes o a tra -

vés de los canales linfáticos.

Se describirán en este apartado los principales agentes etiológicos de las micosis subcutáneas mas frecuentes (Esporotricosis, cromomicosis y micetomas), y sus principales características.

a). ESPOROTRICOSIS

+ Sporothrix schenckii, Hektoen y Perkins, 1900

Hongo dimórfico, causante de la esporotricosis, la cual es una infección crónica frecuentemente benigna, con lesiones cutáneas y tejidos subcutáneos que involucran a los nódulos y vasos linfáticos. (4). Se caracteriza por lesiones granulomatosas (gomas esporotricósicas), que exudan un pus denso y ligeramente mucoso (el cultivo de este pus es el mejor método de diagnóstico). Por lo general la infección afecta vasos y nódulos linfáticos pero puede ser fija y rara vez diseminada a otros órganos. (18). El hongo existe en la naturaleza como saprofito de plantas, maderas y en el suelo y mediante traumatismo se permite la vía de entrada o bien puede ingresar por vías respiratorias y ocasionar esporotricosis pulmonar. (32). Al examen directo del material infeccioso es muy di-



fácil de observar la forma parasitaria del hongo que se presenta como unas células fusiformes en "forma de cigarro" y otras redondas u ovoides.

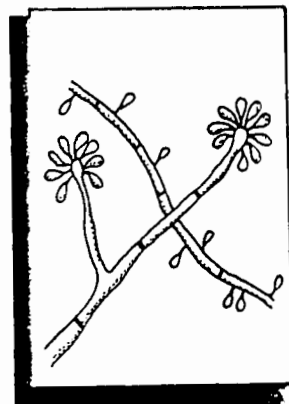
Cultivo

a). Características macroscópicas

Las colonias al principio son blancas, húmedas, brillantes y lisas, pronto desarrollan pliegues radiados que van del centro a la periferia de color negro. En cultivos viejos la colonia se vuelve membranosa y resistente, desarrolla áreas marrón oscuras. Los surcos radiales se han profundizado y el centro se ha plegado en forma irregular. Se obtiene su fase levaduriforme en medios como agar, sangre e infusión cerebro corazón (BHI) a 37°C. ambos medios

b). Características microscópicas

A 25-30°C. se obtiene la forma filamentosa que consta de conidios en roseta, ovales o piriformes en los extremos y a veces en los lados de conidioforos delgados; a 35-37°C. se obtiene la forma levaduriforme, ya descrita al describir la aplicación del examen directo. Cabe señalar que esta forma levaduriforme en inoculaciones a animales o en me -



dios especiales es mas fácil de observar que la forma parasitaria que se presenta en el humano.

NOTA:- La conversión de la forma micelial a la levaduriforme es esencial para la identificación del hongo. Para el estudio micológico de la esporotricosis se realizan 2 métodos esenciales: 1- La aplicación de reacción intradérmica y 2- El cultivo del material infeccioso.

b). CROMOMICOSIS

Es una micosis de tipo verrucoso crónico de una evolución lenta, las lesiones patológicas se localizan preferentemente en los miembros inferiores (muslos y piernas) y en los superiores (brazos y manos). (4, 29).

Se forman proliferaciones verrucosas y papilomatosas que se cubren de costras. Las cromomicosis se encuentran casi exclusivamente en los países tropicales y subtropicales, aunque en 1981 K. Piatkin y Yu Krivoshein han encontrado casos de este tipo de micosis en zonas templadas e incluso en las regiones septentrionales de la U.R.S.S. (24).

Contribuyen a la aparición de la infección los traumatismos causados por material vegetal u otros sustratos de las plantas donde el hongo vive en su estado saprofítico. El individuo enfermo no es contagioso. Esta enfermedad es producida por

cinco especies de hongos negros pertenecientes al grupo de los dematiáceos, los cuales son: (7).

- 1- Fonsecaea pedrosoi
- 2- Phialophora verrucosa
- 3- Cladosporium carrionii
- 4- Fonsecaea compacta
- 5- Exophiola dermatitidis (Fonsecaea dermatitidis).

Esta última especie algunos autores la ubican como agente productor de phaeohyphomycosis y otros dentro de las cromomycosis, entre estos últimos Ricardo Zapater en 1982 menciona que la mayoría de los casos de E. dermatitidis han sido aislados del Japón, y escasamente en otras partes de oriente. En 1988 en Guadalajara, Jal., Méx., el Dr. J. Jesús Mayorga L. aisló e identificó este hongo en un paciente con cromomycosis.

Cualquiera de las cinco especies que producen cromomycosis presentan al examen directo la misma morfología: Células fúngicas parduzcas mas o menos redondas, de paredes gruesas, que miden de 6 a 12 micras de diámetro que pueden estar libres o aisladas y se multiplican por división, son denominadas células fumagoides (esclerotes de Medlar). (32).



Cultivo

a). Características macroscópicas

Todos los agentes etiológicos productores de cromomycosis nos producen colonias aterciopeladas pardo-oscuro, pardo-verduzcas o negras. Por lo que su identificación no es posible por los caracteres macroscópicos de las colonias y se lleva a cabo solo por la aplicación de técnicas de microcultivos que nos muestren con claridad los caracteres microscópicos de cada especie para su identificación. (5).

Algunas colonias presentan, después de varios días de haber sido cultivadas, pleomorfismos (el cual es un fenómeno que consiste en un cambio de forma y consistencia de las colonias).

b). Características microscópicas

Para la diferenciación de las diversas especies nos basamos en las formas de reproducción que pertenecen a tres géneros, lo cual complica su taxonomía. El tipo *Phialophora*, el *Cladosporium* (*Hermodendrum*) y el tipo *Acrotheca* (*Rhinocladiella*)

Algunas especies presentan los tres tipos de reproducción (fructificaciones) y se determina el género dependiendo del tipo de fructificación que se presenta en mayor abundancia.

Solo se mencionan las características microscópicas de las tres principales especies mas frecuentemente reportadas en los casos de cromomicosis.

+ Phialophora verrucosa, Thaxter, 1915.

Presenta hifas caféas, septadas, ramificadas, los conidioforos son en forma de fialide (forma de botella), que nacen lateralmente aislados o en grupos. Los esporos son delgados y de paredes delgadas.

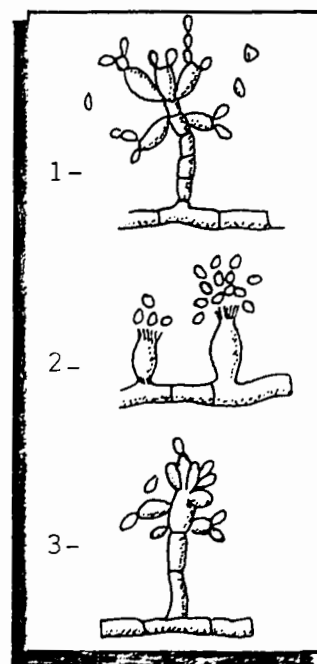


+ Fonsecaea pedrosoi, Negroni, 1936.

Presenta hifas septadas, ramificadas y caféas. Esta especie se determina por la presencia de sus dos o de sus tres tipos de formaciones de fructificación.

1- Tipo Cladosporium (Hormodendrum). Conidias ramificadas, unicelulares, ovoides, de paredes gruesas y lisas. La primera conidia está separada del conidioforo por un grueso tabique.

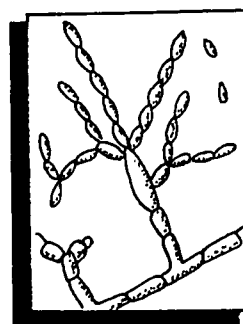
2- Tipo Phialophora. Conidioforo en forma de botella, ancho en su base, luego continúa una parte mas estrecha o "cuello" y arriba de éste se encuentran aglomeradas las conidias.



3- Tipo Acrotheca (Rhinocladiella). Conidioforos anchos, tabicados, muy pigmentados; se pueden encontrar en las partes terminales o laterales de la hifa. Los conidioforos con superficie total o parcialmente verrucosa en cuyas prominencias se insertan las conidias.

+ Cladosporim carrionii, Trejos, 1954.

Presenta hifas septadas, oscuras, con conidioforos laterales y terminales, solo se produce el tipo Cladosporium de cadenas largas.



FORMAS FUNGICAS CARACTERISTICAS DE LOS AGENTES PRODUCTORES DE CROMOMICOSIS

Género y especie	Forma Phialide	Forma Acrotheca	(Cladosporium) Cadena corta	Hormodendrum Cadena larga
<u>Phialopora verrucosa</u>	+	0	0	0
<u>Fonsecaea pedrosoi</u>	Rara	+	+	Rara, atípica.
<u>Cladosporium carrionii</u>	0	0	0	+

c). MICETOMAS

Es un proceso inflamatorio crónico, un síndrome anatómico, producido por varias especies de actinomicetos (bacterias) y hongos (Eumycetos), que se manifiestan por la formación de nódulos de consistencia dura, leñosa (seudotumores), polifistulizados y con presencia de granos parasitarios en el pus que exuda por las fístulas. Estos granos son según las especies de diferentes tamaños, forma, textura y color. (15, 20).

El micetoma se presenta por lo común en una región anatómica y su topografía habitual es el pie, aunque puede presentarse en otras partes del cuerpo (rodilla, hombro, pared abdominal, etc.). El desarrollo de la infección tiene relación directa con el punto de inoculación. (33).

Las variaciones clínicas con que se presentan van a depender ya sea del agente etiológico (con su mayor o menor grado de invadir el hueso), de la localización y de la evolución de las lesiones.

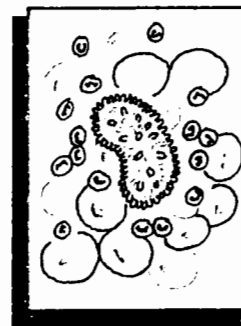
El 95% de los micetomas encontrados en México corresponden a los actinomicetos y el resto a eumycetos. (3).

Los micetomas son cosmopolitas pero se presentan con mayor incidencia en las regiones tropicales y subtropicales.

1- Actinomycetos

Incluye a un grupo de bacterias del orden actinomyce-
tales que se caracterizan por formar "granos" (que son un apelo-
tonamiento de filamentos bacterianos, menores de 1 micra de
diámetro), que pueden o no presentar una corona de clavav.

Algunos agentes etiológicos viven de una
manera saprofítica en las encías o en
las amígdalas, por lo que su mecanismo
de acción es de una manera endógena y la
mayor parte de ellos viven en el suelo y
vegetación, siendo su mecanismo de ac --
ción de tipo exógeno. (15).



Existen 6 actinomycetos aerobios productores de mico-
tomos y 4 de tipo anaerobio: (de los cuales 3 no son patógenos)

Actinomycetos aerobios

- Actinomadura madurae
- A. pelletieri
- Nocardia brasiliensis
- N. asteroides
- N. cavie
- Streptomyces somaliensis (17).

Actinomycetos anaerobios

- Actinomyces israelii
- A. naeslundii (no patógeno)
- A. propionicus (no patógeno)
- A. erikonsii (no patógeno)

Mencionaré solo las especies mas frecuentes con sus
principales características:

+ Actinomyces israelii (Harz), Kruse, 1896.

Se encuentra viviendo saprofiticamente en las caries, sarro dental, en las amígdalas y el ápice ileocecal. Bajo ciertas circunstancias se vuelve patógeno produciendo una actinomicosis, que se formará preferentemente en las regiones cervicefacial, pulmonar y abdominal. Los granos son blanco-amarillentos y lobulados.

Cultivo

a). Características macroscópicas

Es necesario lavar los granos y cultivarlos en un medio anaerobio de agar blando. Las colonias que produce son blancas y aparecen a los 5 ó 6 días en la parte media o en el fondo del tubo que contiene el medio.

b). Características microscópicas

Está constituido por filamentos delgados, ramificados que no pasan el micrón de diámetro. En un frotis se observan cocos difteroides gram positivos.

+ Actinomadura madurae (Vincent), Lechevalier y Lechevalier, 1970.

Es un agente frecuente de micetomas, ataca los huesos con gran intensidad. Posee los mayores granos de todos los actinomicetos (1 a 3 mm.)

Cultivo

a). Características macroscópicas

Dá colonias pequeñas, arrugadas o cerebriformes entre rojo-amarillo y naranja, de consistencia membranosa.

b). Características microscópicas

Los filamentos no están fragmentados.

+ Nocardia brasiliensis (Lidenberg), Castellani y Chalmers, 1913

Principal agente productor de micetoma actinomicótico en América; en México se presenta en un 85% en los casos de micetomas (3). Los granos son irregularmente esféricos, lobulados y en ocasiones con clavos.

Cultivo

a). Características macroscópicas

Dá colonias pequeñas, arrugadas o cerebriformes, de color entre rojo-amarillo y naranja, de consistencia membranosa.

b). Características microscópicas

Las hifas se fragmentan en formas bacilares

NOTA:- La N. brasiliensis licúa la gelatina, la caseína y coagula la leche.

+ Nocardia asteroides (Eppinger), Blanchard, 1895.

Agente productor de nocardiosis. Generalmente produce

una lesión primaria en el pulmón, ya que la lesión se produce por inhalación de polvo contaminado. Tiene especial predilección por el sistema nervioso central al cual llega por vía hematógena, ocasionando metástasis cerebral. Se caracteriza por poseer granos blanco-amarillentos y son los mas pequeños de los actinomicetos (0.1 mm.), además poseen clavav.

Cultivo

a). Características macroscópicas

La colonia es de un color amarillo-naranja, glabra, granulosa y con numerosos pliegues.

b). Características microscópicas

Posee micelio con filamentos de 1 micra de diámetro, se dividen en formas bacilares o cocoides de diferentes tamaños
NOTA:- La N. asteroides a diferencia de N. brasiliensis no licúa la gelatina, la caseína y no coagula la leche.

2- Eumycetos

Son un grupo de hongos verdaderos que producen micetomas, los cuales se caracterizan por sus "granos" que están constituidos por hifas que miden de 2 a 4 micras. Estos hongos viven como saprófitos en la naturaleza, en el suelo y en las plantas y se introducen a la piel del hombre a través de algún traumatismo. Su mecanismo de acción es por lo tanto de tipo exógeno

Ricardo C. Zapter (33) describe a 13 especies de hongos como productores de micetomas. Los cuales son:

- Madurella mycetomi.
- M. grisea.
- Monosporium apiospermum y su forma sexuada Petrillidium
(Allescheria) boydii.
- Phialophora jeanselmi.
- Acremonium (Cephalosporium) recifei.
- A. granulomatis
- A. falciforme.
- Leptosphaeria senegalensis.
- Neotestudina rosatii
- Curvularia lunata.
- C. geniculata.
- Aspergillus nidulans.
- Fusarium solani.

Debido a que los micetomas por hongos son poco frecuentes en México, no se tratarán sus características en este trabajo.

MICOSIS SISTEMICAS

A) POR PATOGENOS PRIMARIOS

Los agentes etiológicos que provocan estas micosis, habitan en la naturaleza como saprófitos y viven en áreas ecológicas restringidas.

La infección por estos organismos resulta usualmente por la inhalación de esporas y a menudo no causa ningún síntoma esta aspiración. Una vez establecida la enfermedad se involucra el pulmón, la piel y otras partes del cuerpo. (9).

a). HISTOPLASMOSIS

Es una micosis muy infecciosa que afecta el sistema retículo endotelial. Se conocen dos tipos de Histoplasmosis en humanos, que se diferencian por el cuadro clínico, la morfología de los parásitos en el organismo (formas parasitarias) y su distribución geográfica, pero en el cultivo (forma vegetativa), presentan caracteres macro y microscópicos idénticos. (32).

Las cuales son:

- a). Histoplasmosis americana, cuyo agente etiológico es el Histoplasma capsulatum.
- b). Histoplasmosis africana, producida por el H. duboisii.

Solo describo la Histoplasmosis americana por ser la que se presenta únicamente en México. (19).

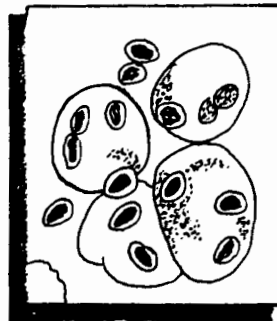
+ Histoplasma capsulatum, Darling, 1900

Es el agente responsable de la Histoplasmosis americana. Los humanos se infectan inhalando las esporas del hongo que se desarrollan en las excretas de diversas aves, en donde es fácil el desarrollo del Histoplasma; se han descrito también infecciones en espacios cerrados y húmedos en donde abundan las deyecciones de murciélagos. (9, 29).

Clínicamente se presenta la enfermedad bajo tres fases: 1- El de la infección primaria, 2- El residual de la fase primaria y 3- El de la enfermedad progresiva; también presenta dos tipos clínicos, el agudo y el crónico. (10).

El período de incubación oscila entre 5 y 20 días después de la inhalación de las esporas.

Al examen directo de tejidos infectados y coloreados adecuadamente se presentan en las células del sistema retículo-endotelial, en los macrófagos y en las células gigantes como corpúsculos redondos u ovoides, que miden de 1 a 5 μ m. de diámetro, que solo excepcionalmente producen brotes.



La Histoplasmosis americana se presenta geográficamente en los Estados Unidos de Norteamérica (Valle del Misisipi), en América del Sur, Central, en México y en algunas regiones de Asia y Africa del Sur.

Cultivo

a). Características macroscópicas

A 25-30°C. en Sabouraud dextrosa agar dá colonias filamentosas de color blanco a café rosado muy fino, con una textura algodonosa densa. El reverso es blanco, algunas veces amarillo o naranja tostado.

A 35-37°C. en agar cerebro-corazón (BHI), nos produce colonias de tipo levaduriforme, húmedas y blancas, su crecimiento puede ser inhibido por la ciclohexamida.

b). Características microscópicas

A 25-30°C., sobre los medios tradicionales se observan hifas septadas y ocasionalmente microconidias redondas, macroconidias lisas, redondas o piriformes y las características macroconidias de tipo verrugosas o clamidosporas tuberculadas.



NOTA:- La conversión de la forma micelial a la levaduriforme se

requiere para su identificación. Se realiza por la inocu-
lación de animales.

b). COCCIDIOIDOMICOSIS

Coccidioides immitis, Rixford y Gilchrist, 1896.

Hongo dimórfico productor de la Coccidioidomycosis, la cual es adquirida por la inhalación de artrosporas del hongo que reside en el suelo y sobre todo en aquellas tierras secas de zonas semidesérticas. Esta enfermedad es propia del continen-
te Americano (26), predominando en el sur de los Estados Uni-
dos de Norteamérica (California, Arizona, Nuevo México y Texas) en México en los estados de la zona norte y en América del Sur (Venezuela y Argentina).

Después de un período de incubación generalmente asin-
tomático aproximadamente de 1 a 2 semanas según la carga infec-
tante, el paciente empieza a mostrar signos respiratorios (tos
seca, dolor torácico), anorexia, fiebre, sudoración nocturna,
pérdida de peso, artralgias y faringitis discreta. (29, 30).

La enfermedad se caracteriza por presentar dos fases:

- a). La Coccidioidomycosis primaria pulmonar a menudo asintomáti-
ca que se acompaña en ocasiones con manifestaciones alérgi-
cas de tipo eritema nodoso.
- b). La Coccidioidomycosis secundaria que se manifiesta por la
presencia de granulomas superficiales cutáneos, subcutáneos

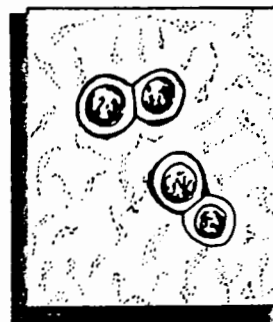
c). BLASTOMICOSIS

Blastomyces dermatitidis, Gilchrist y Stokes, 1898.

Es un hongo dimórfico productor de la Blastomycosis norteamericana. La cual es una micosis crónica, primariamente respiratoria que suele diseminarse principalmente en pulmones, huesos, piel, tracto urinario, próstata y cerebro. (28). A diferencia de la Paracoccidioidomycosis casi nunca se disemina a intestinos. (29).

La fuente de infección al parecer es del suelo, donde ha sido encontrado en pocas ocasiones el hongo. (9).

Existen nódulos diseminados superficialmente que se ulceran, presentando bordes elevados. Al examen directo el hongo lo vamos a observar como una levadura única o gemante de pared gruesa y retráctil, de 8 a 15 micras de diámetro. La enfermedad se localiza principalmente en Estados Unidos de Norteamérica y Canadá y con excepción se han reportado casos en Inglaterra y México. (4).



Cultivo

a). Características macroscópicas

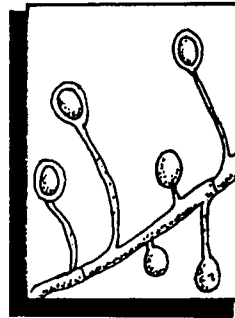
En cultivos ordinarios a temperatura ambiente predomina la fase micelial, formándose una colonia blanca, algodonosa

que con el tiempo se vuelve de un color ante o café. (23).

A 37°C. en agar glucosa, sangre-cisteína produce su fase levaduriforme con colonias elevadas y muestran irregularidades en su superficie.

b). Características microscópicas

En la fase micelial presenta conidios redondos o piriformes, algunos son sesiles, pero la mayoría surgen al extremo de conidioforos simples cortos. En su fase levaduriforme produce células grandes de paredes gruesas que producen yemas de base ancha muy similares a algunas células ya descritas en la observación del examen directo.



NOTA:- La inoculación de animales de laboratorio (ratones y cobayos), ofrece una valiosa ayuda diagnóstica.

d). PARACOCCIDIOIDOMICOSIS

Paracoccidioides brasiliensis (Splendore, 1912), Almeida, 1930.

Agente productor de la Paracoccidioidomicosis o Blastomicosis sudamericana, la cual es una micosis crónica, severa, que involucra al pulmón primeramente, los intestinos y otras vísceras, así como la piel y las mucosas.

Con frecuencia produce grandes lesiones destructivas e inclusive la muerte. El polimorfismo de las lesiones mucocutáneas no permite una descripción exacta. (28).

Los vasos linfáticos se encuentran constantemente com prometidos a menudo con adenopatías marcadas.

El habitat natural de este hongo no ha sido establecido satisfactoriamente, se cree que la fuente de infección se dá del suelo y algunos materiales vegetales. (9, 29).

Al examen directo vamos a observar las típicas células esféricas de 10 a 60 micras con varios pequeños brotes de 2 a 10 micras producidos por gemación que quedan adheridos a la membrana dando una forma que mencionan algunos autores como de "timón de barco".



La enfermedad se presenta en América del sur, siendo endémica del Brasil, se observan casos esporádicos en México, Guatemala, Costa Rica y se ha informado 1 solo caso en E.U. y otro en Italia. (4).

Cultivo

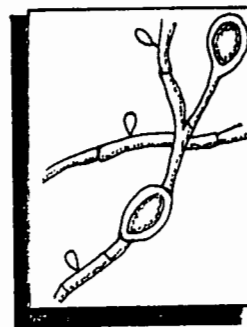
a). Características macroscópicas

En agar Sabouraud dextrosa a 25-30°C. nos produce colonias blancas, compactas, usualmente lisas o un corto micelio aéreo blanco que con el tiempo puede cambiar a café.

A 35-37°C. en BHI agar produce colonias cremosas de color tostado que pueden ser de una consistencia encerada y tiene por lo general un crecimiento lento.

b). Características microscópicas

A 25-30°C. en agar Sabouraud dextrosa agar usualmente solo produce hifas septadas con abundantes clamidosporos intercalares y terminales, pudiendo observar microconidias a lo largo de la hifa.



A 35-37°C. en BHI agar se observan células semejantes a las vistas en su forma parasitaria (timón de barco) ya descritas.

NOTA:- La colonia de este hongo nunca crece en las paredes del tubo que contiene el medio de cultivo.

B) POR OPORTUNISTAS

Oportunistas es el nombre que se les dá a los hongos que normalmente son saprofitos pero pueden ser patógenos bajo condiciones especiales. (11).

En el concepto médico de oportunismo quedan englobadas enfermedades producidas no solo por hongos, sino también por bacterias, protozoarios y virus. (19).

Entre las condiciones especiales o factores que predisponen al hùésped para que pueda ser parasitado por este tipo de hongos se encuentran:

- Los traumatismos (procedimientos quirúrgicos, quemaduras, etc.)
- Tratamientos prolongados con corticosteroides y antibióticos de amplio espectro.
- Drogadicción
- Especialmente los estados de inmunidad primaria o adquirida (29).

Debido a la amplitud de este tema solo mencionaré las micosis por oportunistas mas frecuentes en nuestro medio.

a). CANDIDOSIS

Candida albicans (Robin), Berkhout, 1923.

Especie productora de candidosis pero existen otras especies del mismo género que pueden provocar esta infección; se manifiesta con una gran variedad de cuadros clínicos.

Puede ser una enfermedad superficial (piel, uñas), de las mucosas (vagina, lengua, ano, etc.), atacar órganos profundos (pulmones, bronquios, etc.), además de cursar formas crónicas, agudas e incluso causar la muerte (candidemia). (29).

Esta especie no se encuentra en la naturaleza, existe viviendo como saprofito natural en el intestino y algunas mucosas y bajo condiciones especiales produce infecciones en el hombre, siendo de esta forma su epidemiología de tipo endógeno. (4, 32).

La Candidosis se presenta en todas las edades, razas y ambos sexos, siendo además su distribución geográfica a nivel mundial. (4).

Al examen directo es de importancia la presencia y abundancia de células levaduriformes gemantes y filamentos pseudomiceliales de *Candida* ya que tienen significado patológico. (27).



Se van a observar levaduras de 2 a 4 micras ovaladas o redondas, gemantes con pared delgada, acompañadas o no de pseudofilamentos (pseudomicelio), que mide de 3 a 5 micras de ancho

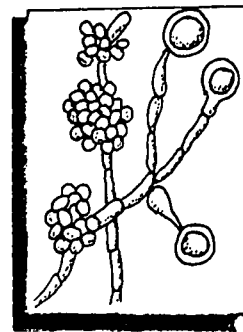
Cultivo

a). Características macroscópicas

En agar Sabouraud crece de 4 a 7 días presentándose como colonias cremosas de aspecto mate o húmedo de color blanco o blanco-amarillentas, de superficie lisa y bordes enteros. Se desarrolla a temperatura ambiente pero a 37°C. se desarrolla mas abundante y rápidamente.

b). Características microscópicas

Candida albicans en agar glucosado de Sabouraud se muestra como una levadura brotante inespecífica. Para identificar la especie albicans es necesario observar el pseudomicelio y especialmente los clamidosporos que la diferencian e identifican de otras especies.



NOTA:- Candida albicans en medios como agar arroz, corn meal agar y agar papa-zanahoria bilis (PZB), produce pseudomicelio y clamidosporos.

Cultivada en 0.5 ml. de suero humano o animal a 37-42°C. produce C. albicans en 2 horas un corto tubo germinal.

B). CRYPTOCCOSIS

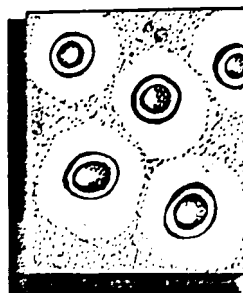
Cryptococcus neoformans (Sanfelice), Vuillemin, 1901.

Es el agente productor de la Cryptococosis que es una micosis que afecta primariamente los pulmones, produce una enfermedad de curso generalmente asintomático, pudiendo afectar la piel, huesos y generalizándose a cualquier órgano particularmente tiene un acentuado tropismo por el cerebro. (29, 32).

Es una infección subaguda o crónica del SNC y de las meninges, pudiendo presentar lesiones cutáneas secundarias con aspecto acneiforme de nódulos o ulceraciones. (27). La vía de entrada es por el aparato respiratorio, algunos creen que puede entrar por el aparato digestivo. (29).

Este género se encuentra muy difundido en la naturaleza y se ha aislado del suelo, de frutas deterioradas, de la leche, de diferentes animales (en especial el ganado vacuno), sobre todo de los lugares donde existen nidos de aves y lugares en donde viven palomas. (27, 29, 32), desarrollándose el hongo en las excretas de éstas.

Al examen directo se observan células esféricas que miden 3 a 10 micras con una gruesa cápsula gelatinosa, polisacárida de tamaño variable (8 a 20 micras). Se reprodu -



Cultivo

a). Características macroscópicas

En agar Sabouraud crece de 7 a 10 días produciendo colonias elevadas, lisas, brillantes y de consistencia mucóide de color blanco cremoso y a veces café pálido. El tubo de cultivo dejándolo en posición vertical tiende la colonia a deslizarse escurriendo al fondo con cierta semejanza a la cera fundida.

La ciclohexamida inhibe el crecimiento de este hongo.

b). Características microscópicas

Se muestra como una levadura redonda brotante de 3 a 8 micras con una cápsula que va creciendo a medida que el cultivo se torna mucóide. En ocasiones se pueden observar cortos tubos germinales como pseudofilamentos.



NOTA:- Existe una variedad de Cryptococcus, el C. neoformans var. innocuoos que es morfológicamente idéntica pero es inofensiva; se diferencia del C. neoformans por su incapacidad de crecer a 37°C.

* El examen directo con tinta china diluída facilita la observación de la cápsula.

c). FICOMICOSIS

Son enfermedades cutáneas, pulmonares o cerebrales producidas por hongos con filamentos sin tabiques (sifonados), pertenecientes a la clase phycomycetos. Los géneros responsables son: Mucor, Absidia, Rhizopus, Mortierella, Basidiobolus, Hy-phomyces y Entomophtora son hongos que por lo general tienen propiedades alergógenas. (8, 27, 32).

Las infecciones se presentan siempre de una manera secundaria a un estado de deficiencia del organismo (diabetes en general). El cuadro clínico depende de la localización de la enfermedad. (7).

Clark desde el punto de vista patogénico divide las ficomicosis en:

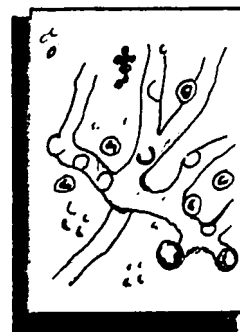
+ Mucormicosis.- Son infecciones producidas por hongos del orden Mucorales, (géneros como Absidia, Rhizopus por ejemplo), que producen lesiones cutáneas, pulmonares o cerebrales.

+ Entomophtoramicosis.- Es una micosis primaria de los tejidos subcutáneos y de las mucosas nasales, producida por hongos de los géneros Entomophtora y Basidiobolus, algunos autores no los consideran como oportunistas. (29).

Los phycomycetes son hongos ubicuos, se consideran contaminantes y se encuentran muy difundidos en la naturaleza (suelo, frutas, estiércol, etc.), donde las esporas son transportadas por el aire y por inhalación se introducen a nuestro organismo. En las ficomicosis intestinales la enfermedad se contrae probablemente por la ingestión de alimentos contaminados. (32).

Su distribución geográfica es cosmopolita, se presenta en ambos sexos y no requieren ningún factor ocupacional especial. (29).

El diagnóstico es a menudo un descubrimiento de autopsia y sobre cortes histológicos, el hongo responsable puede reconocerse como un ficomiceto, pero no puede identificarse ya que todos estos hongos presentan filamentos verdaderos no septados, con hifas que miden de 6 a 50 mm. de diámetro.



Cultivo

Es difícil obtener el agente etiológico en cultivo y cuando produce alguna colonia se trata de especies y aún de géneros diferentes. Como los ficomicetos son hongos contaminantes

es conveniente adoptar cuidados en el diagnóstico biológico como por ejemplo:

- + Hacer varios exámenes directos a partir de varias muestras, en días sucesivos
- + Hacer varios cultivos de la misma muestra y obtener siempre el mismo hongo
- + Tener seguridad del papel patógeno del agente etiológico responsable (lesiones con presencia del hongo en el corte histológico).

a). Características macroscópicas

Por lo general las colonias que producen los ficomicetos son de tipo algodonoso de filamentos muy largos de colores blancos a grisáceos que rellenan a menudo el tubo que contiene el medio de cultivo.

b). Características microscópicas

Producen filamentos gruesos tubulares no septados de 10 a 20 mm. con diferentes tipos de esporangios para cada género y aún para las especies. (Las características de los esporangios nos dan claves para identificar el agente etiológico).

C A P I T U L O V

R E S U L T A D O S

El resultado estadístico de incidencia de micosis, comprendido de enero de 1986 a diciembre de 1988, se obtuvo utilizando la libreta de registro empleada en el laboratorio de Mi co lo g í a del Instituto Dermatológico de Guadalajara y del l a b o r a t o r i o particular del Dr. J. Jesús Mayorga Loera. Anotando los siguientes datos:

- 1- Número o clave del estudio
- 2- Edad y sexo del paciente
- 3- Topografía
- 4- Resultado del examen directo
- 5- Resultado del cultivo

Con los datos anteriores se obtuvieron los resultados de un estudio de tipo retrospectivo que comprendió los dos años antes mencionados, obteniendo de este modo el número total de casos en las 2 instituciones mencionadas, los casos en el que fue aislado e identificada la etiología micótica, los casos negativos, la distribución por sexo y la incidencia de micosis en este período de tiempo.

Los resultados de ambas instituciones se observan en

el cuadro No. 1, en el cuadro No. 2 se anotan los resultados de la investigación casuística del Instituto Dermatológico de Guadalajara, y el cuadro No. 3 nos muestra la investigación casuística del laboratorio particular del Dr. J. Jesús Mayorga Loera.

Anotando además en los cuadros 2 y 3 los agentes etiológicos mas frecuentes, su topografía y la frecuencia encontrada en cada uno de ellos.

C U A D R O 1

RESULTADOS DE LA INVESTIGACION CASUISTICA DE LOS PACIENTES ENVIADOS A ESTUDIO LABORATORIAL PARA EL DIAGNOSTICO DE MICOSIS; EN EL PERIODO COMPRENDIDO DE ENERO DE 1986 A DICIEMBRE DE 1988; EN EL LABORATORIO PARTICULAR DEL DR. MAYORGA LOERA Y EN EL INSTITUTO DERMATOLOGICO DE GUADALAJARA.

Casos estudiados: 7,219 pacientes con diagnóstico de posible micosis.

Casos en el que fue aislado e identificada la etiología micótica

2814 casos = 38.9%

Casos negativos

4,405 casos = 61.1%

Distribución por sexo: Masculino - 1,314 = 46.6%

Femenino - 1,500 - 53.3%

MICOSIS SUPERFICIALES - 1,727 = 61.3%

a). Dermatofitosis	1,605 = 57%
b). Pitiriasis versicolor	119 = 4.2%
c). Tinea nigra palmaris	2 = 0.07%
d). Piedra negra	1 = 0.03%

MICOSIS SUBCUTANEAS - 173 = 6.1%

a). Esporotricosis	105 = 3.7%
b). Micetomas	57 = 2 %
c). Cromomycosis	11 = 0.3%

MICOSIS SISTEMICAS

I- Por patógenos primarios 2 = 0.07%

a). Histoplasmosis	2 = 0.07%
--------------------	-----------

II- Por Oportunistas - 912 = 32.4%

a). Candidosis	909 = 32.3%
b). Aspergilosis	3 = 0.1%

C U A D R O 2

RESULTADOS DE LA INVESTIGACION CASUISTICA DE LOS PACIENTES EN -
VIADOS A ESTUDIO LABORATORIAL PARA EL DIAGNOSTICO DE MICOSIS;
EN EL PERIODO COMPRENDIDO DE ENERO DE 1986 A DICIEMBRE DE 1988
EN EL INSTITUTO DERMATOLOGICO DE GUADALAJARA

Casos estudiados - 6,405 pacientes con diagnósticos de posible
micosis.

Casos en el que fue aislado e
identificada la etiología mi-
cótica

Casos negativos

2,487 casos = 38.8%

3,918 casos = 61.1%

Distribución por sexo: Masculino - 1,126 = 45.2%

Femenino - 1,361 = 54.7%

MICOSIS SUPERFICIALES - 1,512 = 60.7%

a). Dermatofitosis - 1,406 = 56.5%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Frecuencia</u>	<u>Topografía encontrada</u>
<u>Trichophyton</u> <u>rubrum</u>	917 cepas	Ingles, piel lampiña, uñas, ma nos, cabeza y pies.
<u>T. tonsurans</u>	96 cepas	Piel lampiña, cabeza y pies
<u>T. mentagrophytes</u>	98 cepas	Pies, uñas, ingles, piel lampi ña y cabeza.
<u>T. violaceum</u>	2 cepas	Ingles y cabeza
<u>T. terrestre</u>	3 cepas	Ingles, pies y piel lampiña

<u>Agente etiológico</u>	<u>Frecuencia</u>	<u>Topografía encontrada</u>
<u>Microsporum canis</u>	241 cepas	Piel lampiña, cabeza, pies y uñas.
<u>M. gypseum</u>	14 cepas	Ingles y piel lampiña
<u>M. audouinii</u>	4 cepas	Cabeza y piel lampiña
<u>Epidermophyton floccosum</u>	31 cepas	Ingles, piel lampiña, pies, manos y uñas.

FRECUENCIA DE LOCALIZACION DE LOS DERMATOFITOS

Tiña pedis	543 casos
Tiña ungueum	175 "
Tiña corporis	229 "
Tiña capitis	251 "
Tiña inguinal	158 "
Tiña manum	50 "

b). Pitiriasis versicolor - 103 = 4.1%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>
<u>Malassezia furfur</u>	103	Tronco 82
		Ingle 4
		Cuello 11
		Cara 2
		Extremidad superior 4

c). Tinea nigra palmaris - 2 = 0.08%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>
<u>Cladosporium werneckii</u>	2	Palmas 2

d). Piedra negra - 1 = 0.04%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>
<u>Piedrae hortae</u>	1	Cabeza

MICOSIS SUBCUTANEAS - 126 = 5%

a). Esporotricosis - 89 = 3.5%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>
<u>Sporothrix schenckii</u>	89	Extremidades superiores 42
		Extremidades inferiores 22
		Tronco 8
		Cara 16
		Cuello 1

b). Micetomas - 31 = 1.2%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>
<u>Nocardia Sp.</u>	21	Extremidades inferiores 15
		Tronco 6
<u>Nocardia brasiliensis</u>	7	Extremidades inferiores 4
		Tronco 3
<u>Actinomadurae madurae</u>	2	Pie 2
<u>Madurella mycetomi</u>	1	Pie 1

c). Cromomicosis - 6 = 0.2%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>	
<u>Fonsecae pedrosoii</u>	4	Extremidades superiores	3
		Extremidades inferiores	1
<u>F. compacta</u>	2	Extremidades superiores	2

MICOSIS SISTEMICAS

I- POR PATOGENOS PRIMARIOS - 2 = 0.08

a). Histoplasmosis - 2 = 0.08

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>	
<u>Histoplasma capsulatum</u>	2	Antebrazo	1
		Abdomen	1

II- POR OPORTUNISTAS - 847 = 34%

a). Candidosis - 845 = 33.9%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>	
<u>Candida sp.</u>	735	Uñas	247
		Pies	194
		Ingles	79
		Manos	135
		Pene	16
		Vagina	23
		Ano	8
		Mamas	13
		Cara	2

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>	
		Axila	10
		Tórax	4
		Cuello	1
		Boca	1
		Cabeza	2
<u>Candida albicans</u>	110	Uñas	40
		Mamas	3
		Ingles	11
		Vagina	9
		Cabeza	2
		Tronco	1
		Pies	19
		Manos	15
		Pene	6
		Boca	2
		Ano	1
		Axila	1

b). Aspergilosis - 2 = 0.08%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>	
<u>Aspergillus sp.</u>	2	Conducto nasal	2

C U A D R O 3

RESULTADOS DE LA INVESTIGACION CASUISTICA DE LOS PACIENTES EN -
VIADOS A ESTUDIO LABORATORIAL PARA EL DIAGNOSTICO DE MICOSIS;
EN EL PERIODO COMPRENDIDO DE ENERO DE 1986 A DICIEMBRE DE 1988,
EN EL LABORATORIO PARTICULAR DEL DR. J. JESUS MAYORGA LOERA.

Casos estudiados - 814 pacientes con diagnósticos de posible mi
cosis.

Casos en el que fue aislado e
identificada la etiología mi-
cótica

Casos negativos

327 casos = 40.1%

487 casos = 59.8%

Distribución por sexo: Masculino - 188 = 57.4%

Femenino - 139 = 42.5%

MICOSIS SUPERFICIALES - 215 = 65.7%

a). Dermatofitosis - 199 = 60.8%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Frecuencia</u>	<u>Topografía encontrada</u>
<u>Trichophyton sp.</u>	115 cepas	Piel lampiña, pies, ingles, <u>ca</u> beza y uñas
<u>T. rubrum</u>	55 cepas	Piel lampiña, pies, ingles, <u>ca</u> beza y uñas.
<u>T. tonsurans</u>	10 cepas	Cabeza, piel lampiña, pies y uñas.
<u>T. mentagrophytes</u>	2 cepas	Piel lampiña

<u>Agente etiológico</u>	<u>Frecuencia</u>	<u>Topografía encontrada</u>
<u>Trichophyton verrucosum</u>	1 cepa	Cabeza
<u>Microsporium canis</u>	12 cepas	Piel lampiña y cabeza
<u>M. gypseum</u>	2 cepas	Piel lampiña
<u>Epidermophyton floccosum</u>	2 cepas	Ingles y piel lampiña

FRECUENCIA DE LOCALIZACION DE LOS DERMATOFITOS

Tiña pedis	71 casos
Tiña unguem	49 "
Tiña corporis	41 "
Tiña capitis	15 "
Tiña inguinal	23 "

b). Pitiriasis versicolor - 16 - 4.8%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>
<u>Malassezia furfur</u>	16	Tronco 14
		Axila 1
		Cuello 1

MICOSIS SUBCUTANEAS - 47 = 14.3%

a). Esporotricosis - 16 = 4.8%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>
<u>Sporothrix schenckii</u>	16	Extremidad superior 10
		Extremidad inferior 4
		Cara 2

b). Micetomas - 26 = 7.9%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>	
<u>Nocardia sp.</u>	4	Extremidad inferior	4
<u>N. brasiliensis</u>	22	Extremidad superior	4
		Extremidad inferior	15
		Tronco	3

c). Cromomicosis - 5 = 1.5%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>	
<u>Fonsecae pedrosoii</u>	2	Extremidad inferior	1
		Tronco	1
<u>Phialophora verrucosa</u>	1	Extremidad inferior	1
<u>Ph. dermatitidis</u>	2	Extremidad superior	2

MICOSIS SISTEMICAS

II- POR OPORTUNISTAS - 65 = 19.8%

a). Candidosis - 64 = 19.5%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>	
<u>Candida sp.</u>	4	Pie	1
		Uñas	1
		Glande	1
		Mano	1

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>	
<u>Candida albicans</u>	60	Uñas	21
		Pies	9
		Ingles	13
		Tórax	1
		Manos	8
		Axila	3
		Pulmón	2
		Lengua	1
		Boca	1
		Cabeza	1

b). Aspergilosis - 1 = 0.3%

<u>Agente etiológico</u>	<u>Casos positivos</u>	<u>Topografía</u>	
<u>Aspergillus niger</u>	1	Oído	1

C O N C L U S I O N E S

Del análisis de la investigación casuística (estudio retrospectivo) practicada podemos concluir:

1). La incidencia de casos por micosis humanas en nuestro medio son muy frecuentes, de 7,219 pacientes estudiados con diagnóstico de probable micosis se encontraron positivos 2,814 casos (38.9%). (Gráfica 1).

2). La mayor incidencia correspondió a las micosis superficiales con 1,727 casos (61.3%). De las cuales las Dermato-fitosis fueron las mas abundantes con 1,605 casos (57%). (Gráfica 2).

3). Las micosis subcutáneas representaron el 6.1% con 173 casos, la mas frecuente de estas enfermedades fue la esporotricosis con 105 casos (3.7%). (Gráfica 2).

4). Las micosis sistémicas por patógenos primarios 0.07% con 2 casos de Histoplasmosis.

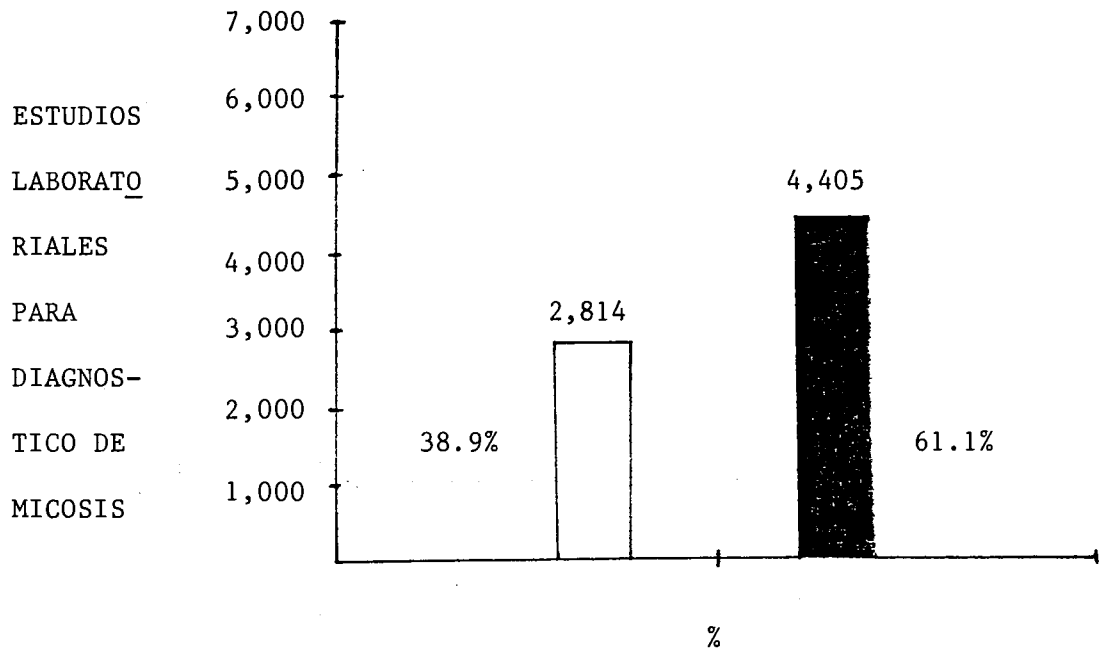
5). Las micosis sistémicas por oportunistas fueron 912 casos (32.4%), ocupando el primer lugar como agente etiologico el género Candida con 909 casos (32.3%).

6). Las micosis revisadas se observaron tanto en lugares rurales como en zonas metropolitanas (Guadalajara, Morelia, Zamora, Cd. Guzmán, etc.).

7). Con relación a la incidencia de casos por sexo, hubo un ligero dominio del sexo femenino, con 1,500 casos (53.3%), sobre el masculino con 1,314 casos (46.6%). (Gráfica 3).

8). Estas conclusiones nos llevan a considerar que da da la frecuencia de las micosis en nuestro medio es de extraordinaria importancia capacitar personal académico para el estudio, aislamiento e identificación de los hongos patógenos humanos.

GRAFICA No. 1.- Representación de la incidencia de casos de los pacientes enviados a estudio laboratorial para el diagnóstico de micosis en el período comprendido de Enero de 1986 a Diciembre de 1988 en el Instituto Dermatológico de Guadalajara y el laboratorio particular del Dr. J. Jesús Mayorga Loera.

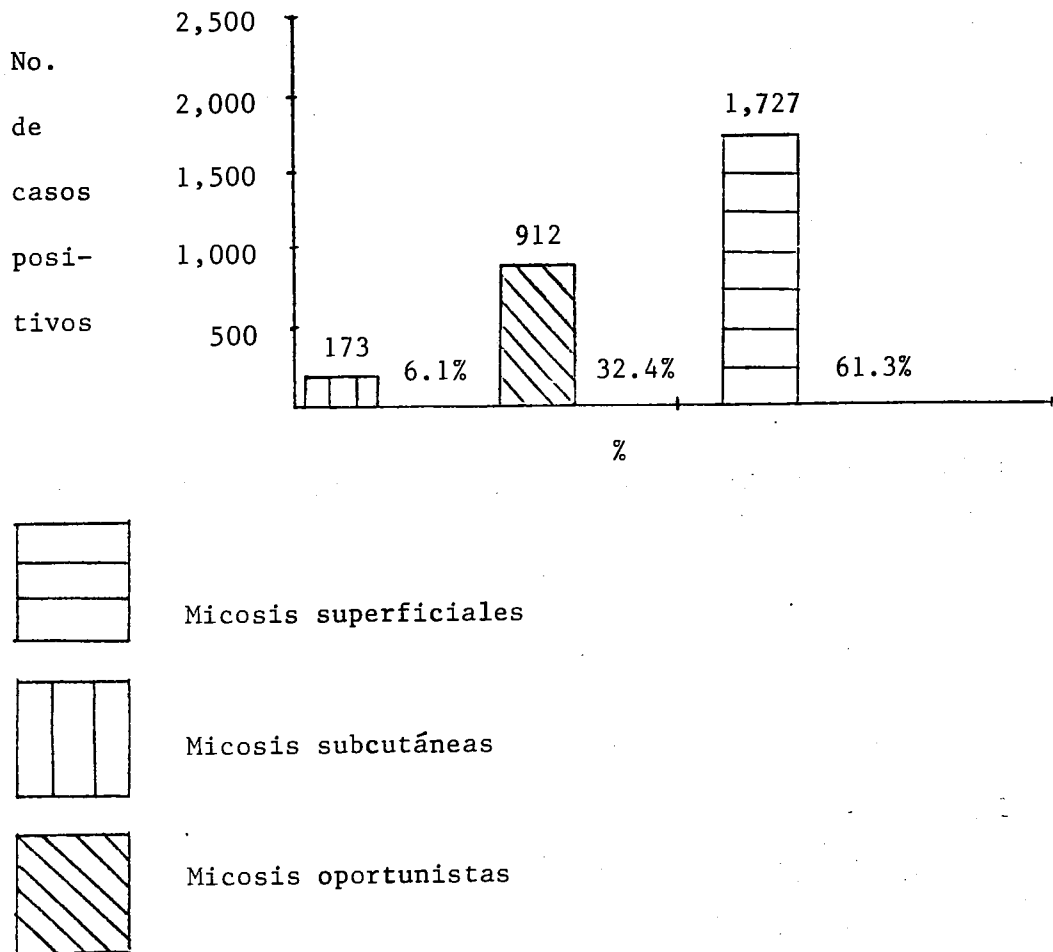


Casos con diagnóstico positivo de micosis

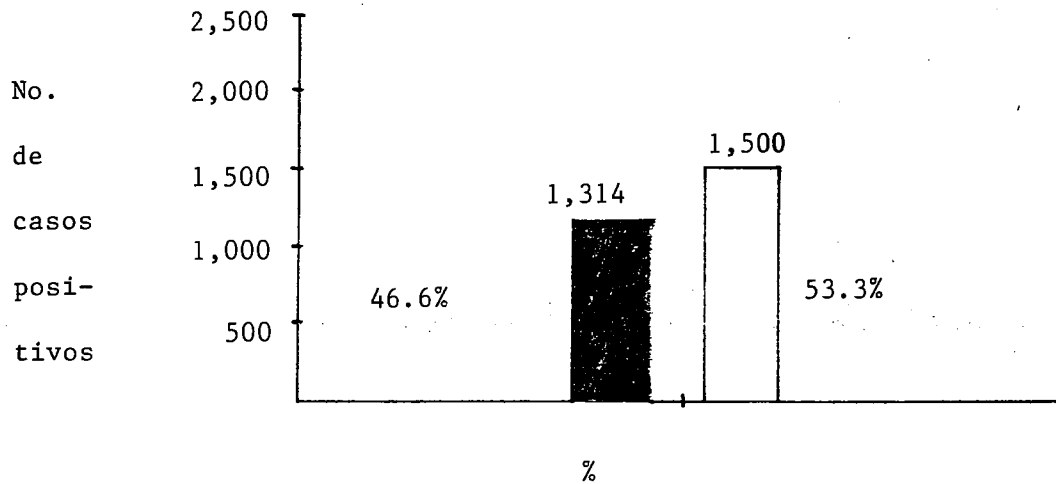


Casos negativos

GRAFICA No. 2.- Representación de la frecuencia de los tipos de micosis en nuestro medio.



GRAFICA No. 3.- Representación de la distribución por sexo en los casos positivos de las micosis encontradas en los laboratorios del Instituto Dermatológico de Guadalajara y del Dr. J. Jesús Mayorga L.



Incidencia del sexo masculino



Incidencia del sexo femenino

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

1. André J.M., Achten M.D., "Onychomycosis". Journal of Dermatology (26): 481-490, 1987.
2. Alexopoulos J.C., Mims W.C., "Introducción a la micología", Ed. Omega, 3-41, Barcelona, 1985.
3. Bonifaz A., "Aspectos micológicos de las micosis mas frecuentes en México", Tratado de medicina práctica 2a. (I), 35: 95-106, México, D.F., 1987.
4. Conant N.F., Smith T.D., Baker N.R., Callaway L.J., "Micología" 3era., Interamericana, 1979.
5. Cuevas P.C., "Manual de Microbiología y Parasitología", Fac. de Medicina, Universidad de Guadalajara, 1987
6. Christensen M.C., "Los hongos y el hombre", Ed. Interamericana: 109-126, México, 1964.
7. Drouhet E., Segretain G., Mariat F., "Micología médica", Exámenes de Laboratorio y Técnicas en parasitología y micología, JIMS: 311-391, 1977.
8. Emmons W.Ch., Binford H. Ch., Utz P.J., Kwon-Chung K.J., "Medical Micology", 3era., Lea and Febinger, Philadelphia, 1977
9. Frey D., Oldfiel R.J., Bridger R.C., "A colour Atlas of pathogenic fungi", 3era., Smeets-Weest, Holand, 1985.
10. González O. A., "Peculiaridades de la Histoplasmosis en México", Desarrollo y estado actual de la micología médica en México, Simposio Syntex, Ed. Instituto Syntex: 139-149, 1979

11. Grigoriv D., Delacrétaz J., Borelli D., "Medical Mycology", Ed. ROCHE: 351-352, Basle, Switzerland, 1987.
12. Grover S., "Micosis superficiales", (Tesis), Bachillerato Tecnológico: 3-15, Zapopan, 1982.
13. Jawetz E., Melnick L.J., Adelberg A.E., "Manual de microbiología médica", 8a., Manual moderno: 305-347, México, 1970.
14. Koneman E.W., Roberts G.D., "Micología Práctica de Laboratorio", 3era., Panamericana: 207-218, Buenos Aires, 1987.
15. Latapí F., Micología médica para graduados, "Micetoma" (Revista Sociedad Mexicana de Dermatología), 4(I): 3-9, 1983.
16. Larone H.D., "Medically important fungi a guide to identification", 2a. Elsevier Science: 86-117, New York, 1987.
17. Lavalle P., "Micetomas por Streptomyces en América", Dermatología Ibero-Latino-Americana; (XIV)3: 379-389, Lisboa, 1972.
18. Lavalle P., Micología médica para graduados, "Esporo-trico-sis" (Revista Sociedad Mexicana de Dermatología), 5(I): 3-6 1983.
19. Mariat F., "El hombre y los hongos", Desarrollo y estado actual de la micología médica en México, Ed. Syntex: 9-16, 1979.
20. Márquez M.J. de D., "Epidemiología de los micetomas en Jalisco", (Tesis). Centro Dermatológico Pascua, México, 1979-1981.

21. Negroni P., "Micosis cutáneas y viscerales", 4a., Ed. López Libreros: 1-11, Buenos Aires, 1969.
22. Neugebauer J., "Atlas de enfermedades infecciosas", Ed. ROCHE: 11-17, 65-70, Basilea, 1983.
23. Olds J.R., "Atlas de microbiología", Ed. Científica-médica
24. Piatkin K., Krivoshein Yu., "Microbiología", MIR, 2da.: 518-538, 1981.
25. Rebell G., Taplin D., Blank H., "Dermatophytes", Their recognition and identification, Depart. of Dermatology, U. of Miami, School of medicine, 1964.
26. Rodríguez M.A., "La Coccidioidomycosis", Desarrollo y estado actual de la micología médica en México, Ed. Syntex: 63-70, 1979.
27. Segretain G., Drohuet E., Mariat F., "Diagnóstico de Laboratorio en micología médica", Prensa médica Mexicana: 4-28, México, 1966.
28. Vanbreuseghem R., "Introducción a las micosis cutáneas", Micosis superficiales, Biomedical Topics: 7-41, Milano, 1984.
29. Velasco C.O., Tay Z.J., "Introducción a la micología médica", Ed. Méndez Cervantes, México, 1986.
30. Welsh L.O., "Micología médica para graduados, "Coccidioidomycosis", (Revista de la Sociedad Mexicana de Dermatología), 5(I): 7-9, 1983.
31. Zapater C.R., "Introducción a la micología médica", 2a., El Ateneo, Buenos Aires, 1970.

32. Zapater C.R., "Micología médica", El Ateneo: 1-40, Buenos Aires, 1981.
33. Zapater C.R., "Atlas de diagnóstico micológico" 3era., El Ateneo: 50-77, Barcelona, 1973.

SR. JORGE A. MAYORGA RODRIGUEZ
P R E S E N T E . -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido ---
aprobado el tema de Tesis "METODOLOGIA PARA EL ESTUDIO E IDEN
TIFICACION DE LOS MICROMICETOS QUE AFECTAN AL HUMANO", para ob
tener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido acep
tada como Directora de dicha Tesis la M.en C. Ma. del Refugio
Mora Navarro.



A T E N T A M E N T E
"AÑO ENRIQUE DIAZ DE LEON"
"PIENSA Y TRABAJA"
Guadalajara, Jal., Mayo 11 de 1988

El Director

Dr. Carlos Astengo Osuna

FACULTAD DE CIENCIAS

El Secretario

Dr. José Manuel Copeland Gurdiel,

c.c.p. La M.en C.Ma.del Refugio Mora Navarro, Directora de Tesis.-Pte
c.c.p. El expediente del alumno

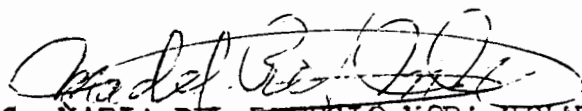
'mjsd

M. en C. ADOLFO ESPINOZA DE LOS MONTERO CARDENAS
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
PRESENTE.

Por medio de este conducto me permito informar a usted, que fué revisada y corregida la tesis titulada: "Metodología para el estudio e identificación de los micro-
micetos que afectan al humano", presentada por el C. pasante en Biología Jorge A. Mayorga Rodríguez., no tengo inconveniente que dicha tesis se imprima y ruego a usted tramitar a quien corresponda el exámen respectivo.

Sin otro particular aprovecho la ocasión para reiterarle mis saludos.

ATENTAMENTE


M. en C. MARIA DEL REFUGIO MORA NAVARRO
DIRECTORA DE TESIS.