



1. Son eucariotas y heterótrofos.
2. Comportamiento    saprófito --} alimento: materia orgánica muerta de animales y plantas.  
                              parásito --} alimento de huéspedes vivos.
3. Dos clases    hongos --} formando hifas (forma vegetativa del mofo). Pluricelular.  
                              levadura --} una única célula esférica.
4. Reproducción --} por esporas.      Sexual  

Asexual
5. No tienen clorofila
6. Pared celular con quitina y celulosa.
7. Muchos son dimorficos o pleomorficos --} pueden estar en la naturaleza en forma de levadura (37°C) o de mofo (25°C).
8. Talo --} estructura vegetativa, formado por hifas ramificadas.
9. Micelio: conjunto de hifas.

➤ **Pluricelularmente (mohos).** Se forman hifas que crecen formando micelios. Estas hifas crecen por elongación de sus extremos y con producción de ramas laterales (crecimiento apical). Este micelio puede ser:

- aéreo: crecimiento del hongo es hacia la superficie y si tiene esporas o células reproductoras se llamará micelio reproductor.
- micelio vegetativo: crecimiento del micelio hacia el interior en busca de nutrientes.

- *Heterótrofos y aerobios.*
- *Algunas especies*
  - obtienen su energía de procesos fermentativos
  - crecen en medios donde se usa nitrógeno
  - otras usan una fuente de carbono (glucosa, almidón, celulosa). También hierro, zinc, cobre...
- *Desarrollo entre 0-60°C, temperatura óptima entre 22-30°C y pH óptimo: 5'5.*
- *Necesitan humedad aunque muchos resisten en ambientes muy deshidratados por la presencia de esporas.*

- ✓ Algunas 2 tipos de conidias en un talo o hifa.
  - Microconidias : esféricas, ovales..
  - macroconidias : alargadas, pluricelulares..

- **Gemación.** En levaduras. Formación de una gema o yema en la célula madre, creciendo hacia fuera y aumentando de tamaño a partir de la célula madre. El núcleo de la célula madre se divide y uno de los núcleos pasa a la célula o yema hija; después se separan.

- **Fragmentación de las hifa.** Se fragmenta parte de una colonia y se implanta en medio. Origina un nuevo micelio. Usado para el cultivo de hongos en el laboratorio.
- **Sexual.** Reproducción de esporas previa fusión de dos núcleos haploides. Proceso: un núcleo haploide de una célula donante (el macho) penetra en el citoplasma de la célula receptora (la hembra) -- fase de plasmogamia. Ambos núcleos se fusionan y forman un cigoto diploide (fase de cariogamia). Este cigoto, por meiosis, origina 4 núcleos haploides (fase de reproducción cromatinica). Tipos:
  - **Cigosporas.** Grandes, por la fusión de los contenidos de dos hifas que se juntan.
  - **Ascosporas.** Por la fusión de dos hifas y posterior fecundación, originándose un asca. Cada asca tiene 8 esporas.
  - **Oosporas.** Por la fusión de 2 gametos distintos que están dentro de un oogonio.
  - **Basidiosporas.** Se forman de 4 en 4 en la pared terminal de una estructura en forma de clavo llamada basidio. Surgen por la unión de 2 núcleos de una hifa. A este tipo corresponde la formación de las setas.

**HONGOS HOLOMORFOS**  
(ambas formas)

ESTADO **TELEOMORFO** --) REPRODUCCIÓN SEXUAL (HONGOS PERFECTOS)  
ESTADO **ANAMORFO** --) REPRODUCCIÓN ASEJUAL (HONGOS IMPERFECTOS)

## CLASIFICACIÓN GRUPOS MÁS IMPORTANTES

Todos los hongos están incluidos en el phylum Mycota. Este phylum se divide en:

- **Grupo Myxomycota.** Mohos limosos verdaderos.
- **Grupo Eumycota.** Hongos verdaderos.
  - **Clase Basidiomycetes.** Característica: estructura llamada basidio donde están las esporas. Este basidio nace de la terminación distal de las hifas con dos núcleos, que tras meiosis se transforman en núcleos haploides. A esta clase pertenecen también las setas. Sin interés para el hombre.
  - **Clase Zygomycetes.** Hongos filamentosos no tabicados. Se caracteriza por formar esporas sexuales o cigosporas que se originan en los zigomicetos tras la copulación de los gametos. También se pueden formar esporas asexuales que son esporangioesporas inmóviles. Están: Mucor, Rhizopus.. responsables de fomicosis subcutánea y rinofomicosis.
  - **Clase Ascomycetes.** Se caracterizan por tener micelios septados. Se reproducen por ascosporas que se originan tras la reproducción sexual seguida de meiosis. Estas ascosporas se producen en ascas. Estos hongos, especialmente las levaduras, son importantes el: Penicillium, Aspergillus, Candida, Microsporum, Trichophyllum.. presentando gran interés clínico para el hombre por sus posibles efectos patógenos.
  - **Clase Deuteromycetes.** Hongos imperfectos (no se han descubierto formas sexuales como tales). Muchas son importantes en la industria y en la medicina. También muchas son responsables de micosis cutáneas superficiales (dermatomicosis) o infecciones fúngicas generalizadas. Son hongos filamentosos con hifas aunque también se presentan en formas levaduriformes.

## HONGOS OPORTUNISTAS CAUSANTES DE MICOSIS PROFUNDAS

- **Levaduras de importancia médica.**
  - **Candida.** Hongos levaduriformes, con morfología oval o cilíndrica, y se multiplican por gemación. La especie más virulenta y de mayor interés es la Candida albicans, que causa infecciones, particularmente en individuos inmunocomprometidos. Es causa frecuente de vaginitis en mujeres. Factores predisponentes: embarazo, diabetes.. Los pacientes enfermos de SIDA desarrollan candidiasis orofaríngea y esofagitis candidiásica. La erradicación de la mucosa oral es difícil y las reinfecciones son frecuentes. Las levaduras del género Candida se desarrollan rápidamente (24-48 horas) en medios de cultivo ordinarios, a 25 y 37°C. Candida albicans es un hongo pleomórfico, ya que en determinadas condiciones forma un verdadero micelio, con blastoconidias y clamidosporas en sus hifas que son características únicas de esta especie. Cuando C. albicans se mezcla con suero y se incuba a 37°C, forma en pocas horas hifas cortas muy típicas (tubos germinales) lo que permite identificar a esta especie con relativa rapidez (prueba de filamentosidad). La identificación del resto de las

especies requiere diversas pruebas bioquímicas, especialmente el estudio de su capacidad de asimilación de diversas fuentes de carbono (auxonograma). Infecciones por *Candida* más importantes:

- **Las aftas. Candidiasis orales.** Son placas blancas en la membrana de la mucosa de la boca y faringe. En individuos que tienen las defensas más bajas de lo normal o han estado sometidos a quimioterapia o antibióticos durante un período prolongado.
  - **Muguet.** Lengua blanquecina y lechosa por la formación de una pseudomembrana que recubre toda la lengua y paladar.
  - **Candidiasis vulvovaginal.** En mujeres con bajas defensas, en diabéticas o en mujeres sometidas a un tratamiento prolongado con antibióticos.
  - **Candidiasis superficiales.** Afecta a la piel y a las uñas.
  - **Candidiasis broncopulmonar.**
  - **Endocarditis.** Es muy rara y está asociada a drogadictos.
  - **Candidiasis mucocutánea crónica.** Afecta al tubo digestivo, vías respiratorias...
  - **Candidiasis sistémica.** Muy raras.
- **Cryptococcus.** *C. neoformans* es un hongo levaduriforme de distribución universal, que tiene una cápsula. Mezclando una suspensión de células con una gota de tinta china puede ponerse de manifiesto dicha cápsula (en el cultivo la cápsula se pierde). Crece bien en la mayoría de los medios de cultivo, entre 20 y 37°C. En medio de Sabouraud, a los 5-7 días las colonias adquieren un tono amarillo-marrón, por la producción de un pigmento difusible. *C. neoformans* es un hongo sensible a la cicloheximida (actidiona). La infección pulmonar es quizá la forma clínica más frecuente de criptococosis.
- **Otras levaduras.** A parte de *Candida* y *Cryptococcus*, hay otras que también pueden causar infección diseminada en los enfermos inmunocomprometidos.
- **Aspergillus.** De mayor interés médico: *A. fumigatus* y *A. flavus*. *A. niger*: principal agente causal de otomicosis. Las especies de *Aspergillus* se identifican por el aspecto macroscópico de sus colonias y por su morfología microscópica. La multiplicación asexual es muy característica. Los conidióforos terminan en una vesícula de cuya superficie nacen las filídes, donde se producen las colonias. Estas emergen a través del extremo libre de las filídes formando cadenas. Las conidias varían en forma, tamaño y color. Hay diferencias según el clima, la región y la época del año. Hay tres tipos de aspergilosis pulmonar.
  - **Zigomicetos.** Los de mayor interés clínico son: *Rhizopus*, *Abisidia* y *Mucor*. Tienen grandes hifas, sin tabiques, muy características. Producen esporas asexuadas (esporangiosporas) en el interior de esporangios. Crecen rápidamente en la mayoría de los medios de cultivo (aunque generalmente son sensibles a la cicloheximida) y con amplios márgenes de temperatura (25-55°C). Todas las especies que producen enfermedad en el hombre crecen a 37°C y se identifican por sus características microscópicas. Son agentes etiológicos de zigomicosis o mucormicosis, infecciones muy graves.
  - **Hongos filamentosos oportunistas.** Estas infecciones suelen estar asociadas con rotura de las barreras cutaneomucosas, cirugía, uso de catéteres intravenosos...
    - **Hongos causantes de hialofomicosis.** Con micelio hialino, no pigmentado. Destaca el *Fusarium*. Puede ser inhibido por la cicloheximida, pero en medio Sabouraud se desarrolla rápidamente. La identificación de las especies está basada en la morfología microscópica. Las macroconidias típicas son hialinas y con tabiques, en forma de semiluna. También tienen microconidias unicelulares. Otros géneros causante es el *Penicillium* y *Escopulariopsis*.
    - **Hongos causantes de faehifomicosis (dematiáceos).** Con hifas con pared pigmentada. Los agentes etiológicos son muy numerosos. Entre los géneros más frecuentes está la *Alternaria*.

## HONGOS PATÓGENOS VERDADEROS CAUSANTES DE MICOSIS PROFUNDAS

Se caracterizan por su dimorfismo. En la naturaleza están en fase filamentosa pero cambian en fase levaduriforme en su etapa parasitaria. Su distribución geográfica es restringida (micosis regionales o endémicas).

- **Histoplasma.** *H. capsulatum* crece como levadura en agar-sangre a 37°C, pero en agar Sabouraud con cicloheximida, incubado a 25°C, se presenta en forma de hongo filamentoso, que microscópicamente tiene muchas microconidias y macroconidias de pared gruesa. La histoplasmosis se produce por inhalación de esporas. Manifestaciones clínicas: pulmonar aguda, crónica y diseminada.
- **Blastomyces.** La forma parasitaria de *B. dermatitidis* es una levadura. La fase filamentosa crece rápidamente en agar-sangre con cicloheximida a 25°C. Una vez conseguido el crecimiento es necesario confirmar la identificación observando el dimorfismo, éste se logra tomando un fragmento del micelio, sembrándolo en una placa de agar-sangre sin cicloheximida e incubándolo varias semanas a 37°C. Las fases de levadura de *Blastomyces* y de *Histoplasma* son sensibles a la cicloheximida. La blastomicosis afecta primero al pulmón y después se disemina a otros órganos. Se adquiere por inhalación.

## HONGOS PRODUCTORES DE MICOSIS SUBCUTÁNEAS

- **Sporothrix.** *S. schenckii* es un hongo dimórfico. El cultivo en medio de Sabouraud a 25°C muestra colonias filamentosas. A 37°C en agar-sangre las colonias de levadura se desarrollan en 4-5 días. La forma clínica más común de la esporotricosis es la cutaneolinfática. *S. schenckii* vive como saprófito de numerosos vegetales y se suele introducir de forma traumática en la dermis. Por ello, la esporotricosis aparece en labradores, jardineros... Diagnóstico: por cultivo de biopsias de tejido o material purulento de las lesiones. Examen directo: negativo. Pruebas serológicas en formas extracutáneas de la enfermedad.

- **Hongos causantes de micetomas.** Los micetomas son infecciones crónicas que afectan a la piel, al tejido subcutáneo y al hueso. Pueden estar causados por bacterias del grupo de los actinomicetales o por hongos. En países de climas tropicales.
- **Hongos productores de cromomycosis (dermatitis verrugosa crónica).** Por hongos de colonias negras (dematiáceos).
- **Otros hongos productores de micosis subcutáneas.** Son zigomicetos.

## HONGOS PRODUCTORES DE MICOSIS CUTÁNEAS Y SUPERFICIALES

- **Dermatofitos.** Hongos causantes de infecciones en las porciones queratinizadas de la piel (estrato córneo, uñas, pelo) y que pertenecen a los géneros *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*.  
 Todos los dermatofitos tienen una morfología similar en su estado parasitario. Cuando se observan con KOH los pelos, uñas o escamas de la piel infectada, aparecen como filamentos ramificados, tabicados; cuando las hifas van envejeciendo, el número de tabiques se multiplican y pueden verse largas cadenas de arthroconidias que se desprenden.  
 Las muestras tratadas con KOH al 15-20% se disuelven con mayor rapidez que las estructuras fúngicas que puedan tener por la resistencia de la quitina de las paredes celulares de los hongos. El efecto de aclaramiento que así se consigue puede acelerarse incorporando ya la KOH (potasa). Técnica: una gota de KOH + DMSO en el porta y se pone con pinzas la escama o uña. Esperar de 10 a 15 minutos y visualizar al microscopio con un cubre.  
 Los cultivos en medio de Sabouraud incubados a 27-30°C permiten el aislamiento de las especies más comunes. Los dermatofitos son resistentes a la cicloheximida, por lo que este antifúngico se suele añadir, junto con antibacterianos, a los medios de aislamiento con fines selectivos. El DTM inhibe el crecimiento de muchas bacterias y hongos saprófitos que pueden hallarse en la piel y sus anexos, y además, tiene un indicador de pH (rojo fenol) que hace posible el viraje del amarillo al rojo cuando crecen los dermatofitos. Puede ser necesario usar otros medios de cultivo, por ejemplo medios escasos en nutrientes para favorecer la esporulación.  
 Salvo excepciones, la diferenciación entre los 3 géneros es morfológica, por el aspecto macroscópico de los cultivos (tipo de colonia, velocidad de desarrollo...) y por sus caracteres microscópicos.
  - **Microsporum.** Macroconidias de paredes gruesas, rugosas y tamaño grandes. Tienen septos. Las microconidias son escasas y pueden estar ausentes. *M. canis*: micelio aéreo corto, y de color amarillento en la periferia y blanquecino en el centro. El reverso es también amarillento al inicio y después anaranjado.
  - **Trichophyton.** Caracterizado por sus macroconidias claviformes. Paredes finas y tiene forma de "cigarro habano". El número de tabiques es inferior a 5. Las macroconidias son escasas o ausentes, las microconidias son abundantes, con forma esférica, claviforme o piriforme.
    - **T. mentagrophytes.** Crece en forma de colonias planas y de color blanquecino que, al envejecer se vuelve color crema. El reverso puede ser blanco, amarillento, anaranjado, rojo o marrón. Tienen hifas en espiral.
    - **T. rubrum.** Forma colonias vellosas, con el anverso de color blanco y el reverso blanco al inicio y al envejecer, rojo vino.
  - **Epidermophyton.** Tiene sólo macroconidias, claviformes o piriformes, de menor tamaño que la de los otros dos géneros. Su pared es fina. No tienen más de 4 tabiques, suelen estar agrupados en racimos. *E. floccosum* crece lentamente.
 Aunque muchas especies tienen su reservorio en el suelo, otras han evolucionado desarrollando un ciclo de vida casi parasitario, y, quizá, no tienen ya un reservorio telúrico (tierra). Algunas parecen estar adaptadas al hombre (antropofílicas), no son capaces de infectar animales y la infección humana se transmite por contacto directo o indirecto. Es el caso de *E. floccosum* y *T. mentagrophytes*. Otros como *M. canis* y *T. mentagrophytes* tienen como huéspedes naturales los animales, y de ellos pueden transmitirse accidentalmente al hombre (zoofílicos). Otros se contagian.  
 No todas las áreas de la piel ofrecen un hábitat favorable para el desarrollo de las especies de dermatofitos. *Trichophyton* puede invadir cualquier estructura cutánea, *Microsporum* rara vez invade pliegues o uñas, y *Epidermophyton* parasita sólo pies, ingles y axilas. Como hay especies que pueden invadir las mismas estructuras cutáneas, con cuadros clínicos similares, la dermatofitosis o tiñas (tinea) se describen con una base anatómica regional:
  - **Tinea corporis.** Infección de la piel glabra (sin pelo y sin glándulas).
  - **Tinea cruris.** Tiña inguinal.
  - **Tinea pedis.** Afecta al pie.
  - **Tinea capitis.** Afecta al cuero cabelludo, las cejas y las pestañas.
  - **Tinea barbae.** De la barba.
  - **Tinea unguium.** Tiña de las uñas.
  - **Tinea manum.** De las manos.
- **Trichosporon, Malassezia, Exophiala y Piedraia.**
  - **T. beigelii.** Levadura que produce infección superficial y asintomática, llamada "piedra blanca", caracterizada por nódulos blandos, adheridos al tallo del pelo de la barba, pestañas y pubis.
  - **M. furfur.** Levadura lipofílica que necesita para su desarrollo una fuente de lípidos. Es un hongo dimórfico, cuya fase levaduriforme se considera como residente normal de la piel, y la fase filamentososa como causante de la pitiriasis versicolor o Tinea versicolor, infección crónica caracterizada por máculas hipo/hiperpigmentadas, redondas, que están en el tronco.
  - **E. werneckii.** Causa la tiña negra, aparece lesiones blandas de color marrón, localizadas en las palmas de las manos y, a veces, en los pies.

- ***P. hortae***. Causa la piedra negra, que son nódulos en los tallos de los pelos.

## MORFOLOGÍA Y MICROCULTIVOS

- **Recoger una cantidad de muestra** en condiciones de asepsia de la zona afectada por el hongo sospechoso, haciendo antes un examen directo. Después se aislará en medios de cultivo generales y específicos. Para hacer esto se tiene en cuenta:
  - El paciente no tiene que estar sometido a ningún tratamiento con antifúngico y si lo está se suprimiría 2-3 días antes de la recogida de muestra.
  - Material estéril.
  - Toma de muestra de cabellos: cortar con tijeras los que tienen aspecto de estar parasitados, o con pinzas de depilación se recogen los pelos y porciones de la piel que pueda haber.
  - Si se recoge de las uñas: la toma correcta es difícil ya que el hongo suele estar en la zona media e interna de éstas. Se debe raspar con un bisturí fino en la zona, que nos permita recoger las escamas dérmicas por debajo de la uña hasta llegar a una zona dolorosa.
  - De abcesos con pus: se hará una punción en condiciones asépticas siguiendo la técnica habitual.
  - De exudados: con raspado con el borde romo del bisturí. Si hay cavidades, con hisopo estéril.
  - De un esputo: tomar la primera de la mañana con expectoración energética y directa sobre un recipiente estéril.
  - El resto de las muestras se hacen con los métodos convencionales.
- **Examen directo.** Colocar la muestra entre porta y cubre y observar al microscopio. Se pueden mejorar sus características morfológicas con tinciones. Las tinciones más importantes son:
  - **Examen en fresco con colorantes.** Añadir a una cantidad de muestra unas gotas de lactofenol. Poner un cubre y ver al microscopio. Se pretende mejorar la visualización del microorganismo.
  - **Examen en fresco con aclarantes.** El uso de aclarantes se debe a la necesidad de disolver la queratina de los pelos, escamas dérmicas... y ver las células fúngicas que hay en la muestra.
  - **Hay métodos análogos al anterior**, pero más severos ya que en ocasiones el toluol no es suficiente para disolver la queratina. En estos casos, cuando partimos de escamas muy gruesas, la digestión de ésta se hace con potasa al 20%.
  - **Otras técnicas** incluyen tinciones Zhiel-Nielsen, Gram, nigrosina... siguiendo los métodos convencionales.
- **Medios de cultivo.** El aislar los microorganismos problema en medio de cultivo con la determinación de pruebas bioquímicas son la base para establecer el diagnóstico etiológico de las micosis. Medios:
  - **Agar glucosa Sabouraud.**
  - **Agar miel cloranfenicol actidiona** (para el aislamiento de candidas).
  - **Agar patatas zanahorias** (favorece la esporulación de los hongos).

Los cultivos ya sembrados, se incuban a 28°C si las muestras proceden de micosis superficiales, y a 37°C si son profundas. A veces se suele incuban a ambas temperaturas. A partir de 24-48 horas se observan los cultivos. Dos formas distintas de crecimiento:

  - **Crecimiento levaduriforme.** Forma colonias que se asemejan a las bacterias aunque suelen ser más grandes, cremosas, brillantes.. Salvo excepciones, el crecimiento de las levaduras suele ser más lento que el de las bacterias. Su visualización al microscopio nos saca de dudas.
  - **Crecimiento micelar o filamentoso.** Forma un micelio aéreo constituido por muchas hifas. Muchos hongos tienen coloración y la visualización de este pigmento aporta información taxonómica importante. La morfología de cualquier colonia depende del tipo de medio donde se desarrolle, de la temperatura, del pH, de la presencia de ciertos azúcares...
- **Estudios morfológicos.**
  - **Morfología macroscópica de sus colonias.** Aspecto de las colonias, que puede ser algodonoso o aterciopelado para hongos con crecimiento micelar o cremoso, mucoso o céreo para las levaduras. Para saber el tamaño se mide el diámetro de las colonias. Se observa también su forma y grosor, el color, su superficie en general y sus bordes.
  - **Morfología microscópica.** Para una identificación fúngica. Hay 3 grupos:
    - **Hongos filamentosos.** Forman hifas, que con aspecto filamentoso y entrelazado a modo de red dan lugar al micelio. Las hifas pueden estar tabicadas por septos transversales. La mayoría de los hongos que afectan al hombre tienen estas características. Pueden que las hifas no estén tabicadas --} ficomicetos. Suele tratarse de hongos saprófitos del suelo, cuya reproducción es asexual.
    - **Blastomicetos o levaduras.** Células eucariotas, esféricas u ovaladas, que originan brotes únicos o múltiples de blastosporas. A veces pueden formar pseudohifas, dando lugar a filamentos cortos originados por el alargamiento de una blastospora que crece a partir de la levadura. Hay algunas especies que pueden afectar al hombre.

- **Actinomicetes.** Microorganismos situados más próximos a las levaduras. Filamentosos, a veces tabicados, que tienden a fragmentarse. En otras ocasiones pueden tener muchas ramificaciones, pero sin formación de septos. Son bacterias filamentosas.
- **Microcultivos.** Permiten observar el desarrollo y crecimiento de las microcolonias y la formación de sus estructuras esporíferas. La técnica más usada es:
  - **Técnica del cuadradito de agar.** En la placa de Petri, se pone de forma estéril una varilla en forma de U sobre el papel de filtro. Sobre la varilla se pone el porta. Con una microespátula recortar un cuadradito del medio de cultivo elegido y se pasa al porta situado encima de la varilla. Se inocula el cuadradito con el hongo problema, se pone un cubre estéril y se añade agua estéril hasta que empape la base (papel de filtro), se cierra la placa para que no se deseeque. Se incuba 48 horas como mínimo, se añade agua si es necesario. Tras este tiempo, se separa el cubre del porta, desechando el cuadradito del medio. El micelio queda adherido al porta y al cubre. A partir de aquí se fija y se tiñe con las técnicas convencionales y se visualiza al microscopio.

## ESTUDIOS BIOQUÍMICOS DE HONGOS Y LEVADURAS

Para la identificación de levaduras y no de hongos filamentosos. Para estudiar su metabolismo con dos pruebas:

- **Auxonograma de levaduras (asimilación de carbono y nitrógeno).** Prueba de asimilación. Consiste en una batería de pruebas bioquímicas que se pueden presentar en pocillos con medios específicos. La levadura problema se siembra en caldo de Sabouraud con antibiótico para evitar bacterias contaminantes. Tras formarse el inóculo, se siembra en los pocillos que tienen el medio base, unos sin nutrientes y otros con ellos (distintas bases de carbono y/o bases de nitrógeno). Tras inocular, se incuba a 28°C y tras 2-4 días se procede a la lectura.
- **Zimogramas de levaduras (para estudiar la fermentación de azúcares).** Sigue los mismos criterios que en bacterias. Consiste en la capacidad o no de poder usar por fermentación los azúcares y alcoholes con la formación de ácidos y gases. En la actualidad, se hace por bacterias comerciales, con una serie de pocillos con medio base que tienen los distintos azúcares. Tras siembra e incubación se hace el revelado, que permite conocer sus características reductoras o fermentadoras sobre distintos azúcares.
- **Otras pruebas importantes.** Las más importantes son la prueba de la ureasa, cuyo fundamento es análogo al utilizado en bacteriología; necesidades vitamínicas. Este tipo de estudios permite conocer qué vitamina es necesaria para su crecimiento microbial, dato usado para su determinación taxonómica.

Estas técnicas no suelen llevarse a cabo en estos casos salvo que se trate de una afección de carácter sistémico o cuando el diagnóstico directo sea negativo o dudoso.

- Características macroscópicas del cultivo primario (color, aspecto, bordes, tamaño..).
- Características microscópicas. Visualización de la muestra por microscopio. Si es necesario se recurre a técnicas de tinción.
- Se harán subcultivos de identificación en sueros o caldos específicos para que crezcan más deprisa o en medios sólidos como agar harina de cereales o agar harina glucosa..., con el fin de permitir el crecimiento específico de alguno de sus componentes.
- Se estudia las propiedades fisiológicas con pruebas de asimilación de carbono y/o nitrógeno (auxonogramas) así como pruebas que hacen conocer la capacidad de fermentación a azúcares por parte de la levadura problema (zimograma). Se estudiará los requerimientos nutritivos y vitamínicos y se hará determinadas pruebas, como la de la ureasa.
- Determinar el poder patógeno experimental con animales sólo en los casos más graves o en estudios de investigación.

Mismos puntos a excepción de los estudios de morfología microscópica, donde es necesario siempre recurrir a microcultivos y de pruebas de asimilación (auxonograma) y fermentación (zimograma) que en el caso de los hongos filamentosos no son necesarias.

Tienen que tener nutrientes suficientes para el desarrollo de los hongos (carbono, nitrógeno..). El pH debe ser ligeramente ácido para facilitar el crecimiento e inhibir el desarrollo de otros microorganismos. Se añaden antibióticos antibacterianos para inhibir el crecimiento de bacterias saprofitas. Los más usados: Cloranfenicol y Gentamicina. Se añade actidiona (Cicloheximida) que inhibe el desarrollo de hongos saprofitos ambientales.

**Medios en placas.** Ventaja: gran superficie para aislamiento pero para soportar la deshidratación durante la incubación (1mes o más), han de tener una gruesa capa de medio (25 a 40 ml). Más peligrosos al manipular y fáciles de contaminar. **Medios en tubo:** superficie de trabajo más pequeña, pero con más seguridad en manipulación y buena resistencia a la deshidratación y a la contaminación.

Si la muestra es de zonas presuntamente contaminadas, incluir junto a los medios normales, medios con sustancias inhibidoras de bacterias y hongos saprofitos (cloranfenicol, gentamicina, cicloheximida).

Las placas se precintan con cinta de Parafilm y se hace un par de aberturas, y los tubos se dejan con el tapón de rosca a medio cerrar (para mantener la aerobiosis).

### MEDIOS PARA AISLAMIENTO PRIMARIOS

- **Medio Sabouraud dextrosa (SAB).** Para observar la morfología típica de los hongos, pero no es el medio ideal de crecimiento o para estudiar la esporulación. En placa o tubo.
- **Medio Sabouraud con Cloranfenicol y Gentamicina (SAB G+C/ SABHI G+C).** Permite el crecimiento de casi todos los hongos filamentosos y levaduras mientras inhiben a muchas bacterias. En tubo o placa.

### MEDIOS PARA AISLAMIENTO ESPECIALES

- **Medio de patata.** Patata como base y, al ser un medio pobre, se usa para estimular el desarrollo in vitro de las estructuras de reproducción sexual de los hongos. También estimula la producción de pigmentos en hongos (ejemplo: *T. rubrum*).
- **Medio de arroz.** Medio a base de granos de arroz blanco que se usa para diferenciar *Microsporium audouinii* de otras especies de *Microsporium canis*.

### DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE LAS MICOSIS SUPERFICIALES

Ante la sospecha clínica de micosis superficial se hace la detección del organismo en el tejido, aislamiento del patógeno en el cultivo y reconocimiento de la respuesta inmune específica. Importante que el laboratorio reciba las muestras bien identificadas y con datos de interés clínico y epidemiológico, ya que pueden enfocar el diagnóstico hacia un determinado grupo de hongos. Para el aislamiento del agente etiológico se requiere:

- **Toma de muestras de micosis superficiales.** Piel, pelo y uñas. Otros procesos que afectan a las capas más superficiales de la piel, como el eritema, se han estudiado dentro de la micología médica (producido por bacterias). Adecuada toma de muestras de micosis superficiales:
  - **Examinar las lesiones de la piel** (sospechosa de pitiriasis versicolor o eritema) y **cuero cabelludo** (dermatofitosis) en una habitación oscura bajo luz de Wood (luz ultravioleta). La piel normal muestra un color azul, en infecciones bacterianas (como el eritema) emite fluorescencia roja, y en micosis (como la pitiriasis), las áreas afectadas emiten una fluorescencia amarillenta. En tinea capitis por *Microsporium*, dan fluorescencia característica.
  - **Limpieza de piel, pelos y uñas con alcohol de 70%** para eliminar flora bacteriana.
  - **Recolección del material.**
    - **Piel.** En las lesiones descamativas se recoge las escamas de las zonas afectadas con fluorescencia positiva o negativa, raspando su borde activo con un escalpo desechable, ya que dicho borde es el que más probablemente tenga elementos fúngicos. El material obtenido se recoge en placa de Petri. En pitiriasis parcialmente tratada, la descamación es escasa, y se recomienda hacer la toma con la técnica del papel celo, aplicando la zona adherente de la cinta sobre la piel a estudiar.

Técnica complementaria o alternativa para la recogida de las escamas:: método del cuadrado de moqueta de Mariat y Adán-Campos: frotar 5 veces con un cuadrado de alfombra de lana estéril la superficie a examinar. La moqueta se puede guardar en un sobre de papel. Inconveniente: no se hace la observación directa, solo el cultivo.
    - **Pelos.**
      - ✓ **En la Piedra blanca o la Piedra negra**, ambas confinadas a la vaina del pelo, se deben cortar la porción suprafolicular de dichos pelos enfermos.
      - ✓ **En las tiñas del cuero cabelludo o de la barba:** importante recoger los pelos parasitados arrancándolos con la raíz intacta. Muchas veces los pelos parasitados tienen una fluorescencia positiva. Descubrimiento de Margat: los pelos infectados por ciertos dermatofitos producen una fluorescencia característica bajo la luz ultravioleta de la lámpara de Wood. El crecimiento del hongo, en el medio de cultivo o de forma "in vitro" en el pelo, no fluoresce, por lo que la fluorescencia se atribuye a alguna sustancia producida por la interacción del crecimiento del hongo y el del pelo. Pero solo algunos dermatofitos que invaden el pelo producen fluorescencia:
        - ★ **Microsporium**, (*M.canis* y *M.audouinii*) dan fluorescencia verde.
- **Uñas.** En las onicomicosis, la toma de muestras varía según el tipo de lesión clínica.
- **Transporte de la muestra.** Las muestras superficiales de pitiriasis versicolor y dermatofitos son transportadas en un contenedor seco, pero, en las que se sospeche la presencia de *Candida* y se vaya a producir una demora en su procesamiento, se deberá usar, para preservar su viabilidad, un medio de transporte como el de Stuart. Almacenaje de muestras dermatológicas a temperatura ambiente.
- **Tratamiento de muestras.** El material recibe tratamiento previo al examen directo y al cultivo. Se usa:
  - **Inoculación directa:** material, pelo y escamas -} se procesan directamente.

- **Homogeneización previa:** las uñas con el fin de aumentar la superficie de contacto del espécimen con el medio de cultivo y posibilitar el aislamiento del agente infectante, se someten a fragmentación en condiciones asépticas con alicates en piezas de 1mm.
- **Diagnóstico micológico en micosis superficiales.**
  - **Diagnóstico directo.** Permite un diagnóstico presuntivo rápido de micosis y poner un tratamiento precoz, sin tener que esperar a los cultivos que suelen ser lentos. Se hace en fresco, con el uso de sustancias que favorecen la disgregación de la queratina y aclaran la preparación. El hidróxido de potasio (KOH) se mejora añadiendo dimetil sulfoxido (DMSO). La adición de estas sustancias, como el DMSO, permite el examen directo inmediato sin que sea necesario el calentamiento. Evita la ruptura de portas, aparición de artefactos.. y permite el examen microscópico pasadas 24 o 48 horas, siempre que se conserve la preparación en una cámara húmeda. Se requiere cierta experiencia para no confundir con artefactos.
    - **Pelos.**
      - ✓ **En las piedras:** examen directo de pelos parasitados permite 1 diagnóstico.
      - ✓ **En la tinea capitis:** examen microscópico del pelo permite 1 diagnóstico de tiña y sospechar del agente causal.
    - **Uñas.** En fresco con KOH + DMSO. El examen directo orienta del agente etiológico.
  - **Cultivo.** Procedimiento de diagnóstico lento, pero específico y permite establecer con certeza el diagnóstico etiológico a nivel de género y especie, teniendo importancia epidemiológica.
    - **Técnica y medios a usar.** Procesar muestras rápidamente. Escamas, pelos y uñas, se siembran en tubo en pico de flauta (resiste a desecación). Cuadrado de moqueta y cepillo: poner en la superficie del agar en placas Petri (selladas evitando desecación).  
Medio habitual para aislamiento de hongos: agar glucosado de Sabouraud al que puede añadirse antibióticos (cloranfenicol, Gentamicina) para reducir contaminación bacteriana o cicloheximida (reduce crecimiento de saprofitos). Cuando se presuponen infecciones por levaduras, se recomienda añadir un medio con sustrato cromogénico como: Albicans ID medio (bioMerieux) o CHROMagar Candida (Becton & Dickinson) en los que las colonias de C.albicans se ven azul en el 1º y verde en el 2º. Elección del medio: depende de muestra y patógeno causal, a veces orientado por examen directo. En uñas se puede usar Sabouraud con cloranfenicol sin/con actidiona.
    - **Condiciones de incubación: temperatura y tiempo.** Entre 25-30°C en dermatofitos. Tiempos de incubación depende de especie: dermatofitos entre 7-28 días y otros (Aspergillus y levaduras), crecen +rápido y pueden ser identificados en 1semana.
    - **El significado del aislamiento.**
      - ✓ **Valor del aislamiento de Candida en la piel.** El saprofito de Candida se corresponde con 1concentración baja de levaduras, y el estado parasitario o infección con 1concentración alta de las mismas. Es imprescindible correlacionar: observación directa y cultivos con situación clínica.
      - ✓ **Valor del aislamiento de dermatofito.**
        - ★ **Piel.** Hay situaciones de contactos familiares y escolares de niños con tinea capitis, en los que sin clínica y con examen directo negativo, tienen aislamiento de dermatofito. Estos casos son catalogados como portadores asintomáticos. La evolución de estos depende de la especie infectante: si es zoofílica (M.canis) tiende a desaparecer en el tiempo sin tratamiento; si corresponde a especies antropofílicas (T.rubrum o T.mentagrophytes) el hongo queda acantonado con periodos de recrudescencia hablandose, por ejemplo, de los portadores crónicos.
        - ★ **Pelos.** Puede existir la figura del portador asintomático en cuero cabelludo de dermatofito.

El diagnóstico micológico correcto en las micosis superficiales exige:

1. Obtención de muestras correctas.
2. Transporte adecuado.
3. Rigor en la interpretación del examen directo.
4. Elección de medios de cultivo adecuados.
5. Identificación de la especie fúngica.
6. Valoración/interpretación correctas de los cultivos positivos.