

## Tema 9 Hongos. II.

### 1. Los hongos



La micología es la rama de la biología que tiene por objetivo el estudio de los hongos.

#### **Morfología.**

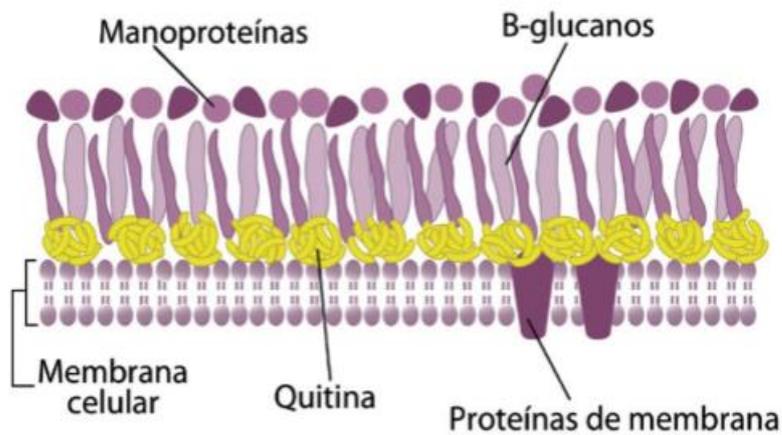
Los hongos patógenos incluyen especies unicelulares y pluricelulares.

Las células fúngicas son eucariotas; es decir, presentan un núcleo definido rodeado de una membrana nuclear, citoesqueleto y distintos tipos de orgánulos..

Tienen pared celular, formada por capas constituidas por:

Polímeros fibrilares, principalmente quitina. Cara exterior de la membrana.

Estructuras amorfas, como glucanos y mananos.



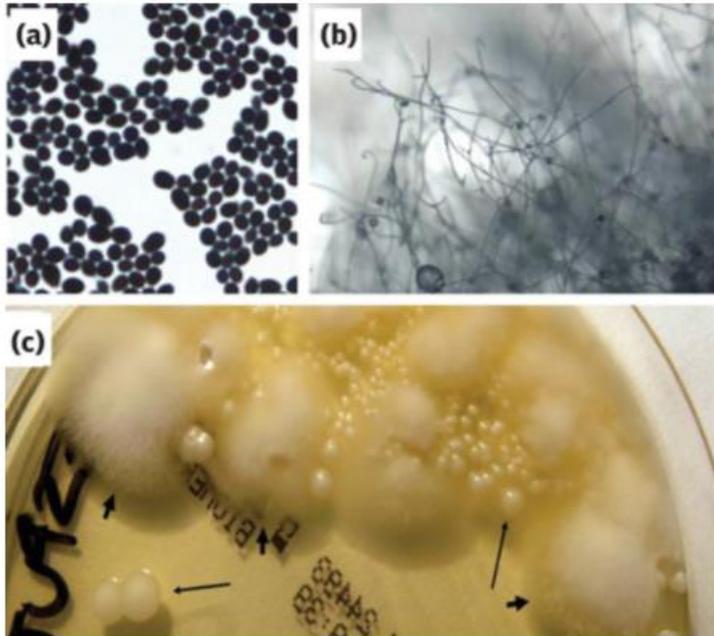


Fig.:A.- Células de levaduras, unicelular. B.-Micelio de Hongo pluricelular. C.- Colonias de hongos filamentosos (flecha pequeña y gruesa y de levaduras, flechas larga y fina)

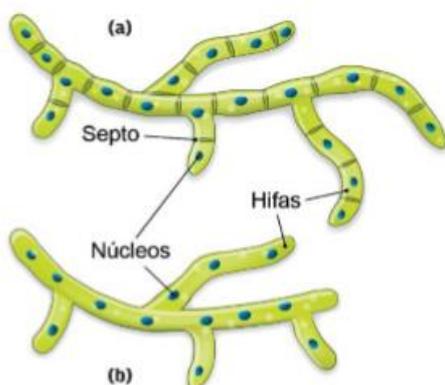
Las unidades de crecimiento y anatómicas: las células levaduriformes de los hongos unicelulares o levaduras, y el micelio de los hongos pluricelulares, formados por un conjunto de hifas. Hay otros denominados dismórficos.

Las células levaduriformes. Las levaduras son hongos unicelulares.

El micelio y las hifas.( H. pluricelulares). Los hongos filamentosos o mohos están constituidos por células alargadas y forman filamentos denominados hifas. Pueden ser:

- Tabicadas. Poseen septos que compartimentan la hifa. Suelen ser multinucleados.
- Cenocíticas. No tienen septos el citoplasma es continuo en toda la hifa.

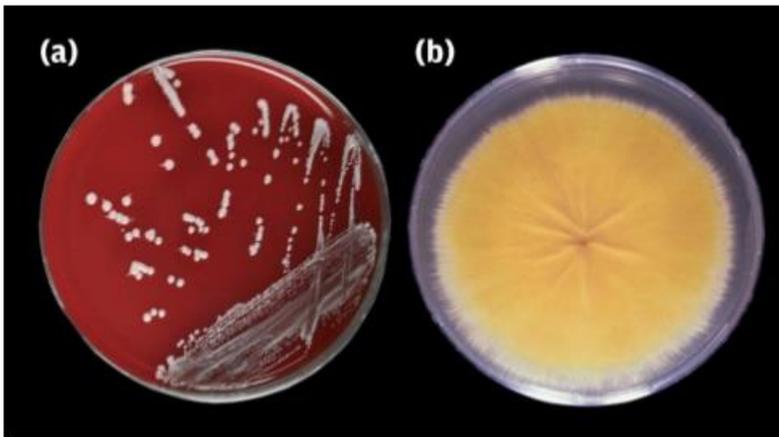
El conjunto de hifas se denomina micelio.



Los hongos dismórficos son los que pueden crecer como levaduras unicelulares y como micelios pluricelulares.

Las colonias macroscópicamente:

- Levaduras pocas elevadas ,húmedas, opacas cremosas.
- H. Filamentosos. Algodonosa y elevadas según crecen las hifas.



*Fig: Colonias de levaduras (a), hongos filamentosos (b).*

## 2. Enfermedades causadas por hongos.

Pueden ser, infecciones, reacciones de hipersensibilidad e intoxicaciones.

A). Infecciones. Se denominan micosis.

B). Reacciones de hipersensibilidad, frente alérgenos (esporas o fragmentos de hifas)

Pueden ser cutáneas o gástricas, pero las más comunes respiratorias.

C). Intoxicaciones.

Por alimentos contaminados o por la ingestión de setas.

### 2.1. Micosis Superficiales

Afectan a la capa cornea de la piel y parte suprafolicular del pelo.. No afecta a células vivas.

La más frecuente es la pitiriasis versicolor, originada por especies del género de la *Malassezia*. Estas también pueden causar dermatitis seborreica y caspa y Foliculitis.

### 2.2. Micosis cutáneas.

Distinguimos Dermatofitosis y Candidiasis cutaneomucosas.

**A). Dermatofitosis.** Se conocen con el nombre genérico de Tiñas. La producen los géneros, Epidermophyton, Microsporium y Trichophyton.

La clínica es local se presentan como placas rojizas, zonas de descamación y de decoloración.

**B). Candidiasis cutaneomucosas.**

Infecciones producidas por Cándida, especialmente Cándida Albicans.. La mayoría se producen en la piel y mucosas. También pueden llegar a producir micosis sistémicas.

1.- Candidiasis cutánea. La zona más afectada son los pliegues cutáneos, donde la humedad crea un hábitat adecuado. Axilas, ingles y surco intergluteo. Candidiasis del pañal y onicomicosis candidiasica.

2.- Candidiasis de mucosas.. La más habitual la vulvovaginitis. Tambien mucosas oral.

### **2.3. Micosis subcutáneas.**

Son infecciones crónicas en la dermis o tejido celular subcutáneo que entraron por una lesión penetrante.(pinchazos)

Frecuente en regiones tropicales, personas que andan en sandalias o descalzas, se infectan por pinchazos, el principal síntoma son lesiones en el pie.

Las más frecuentes son:

- a.-Esporotricosis. Sporothrix schenckii.
- b.- Cromomicosis
- c.-Micetomas causadas por Madurella mycetomatis.

### **2.4 Micosis Profundas.**

Infecciones por hongos que invaden tejidos profundos e incluso vísceras.

a.- Criptococosis. Cryptococcus neoformans. Hongo de capsula gruesa, provoca infecciones pulmonares y meníngeas.

b.- Blastomicosis. Blastomyces dermatitidis.

c.-Histoplasmosis. Histoplasma capsulatum. Infecciones pulmonares.

Se contraen por inhalación.

## 2.5. Micosis sistémicas.

Micosis invasoras o que afectan a dos o más órganos no adyacentes producidas por especies patógenas oportunistas..

El agente etiológico puede ser cualquier órgano capaz de crecer a 37º C. se observan en situaciones de inmunodepresión.

Las más frecuentes son:

.-Candidiasis, la más frecuente la Albicans.

.-Aspergilosis. Aspergillus.

## 3.- Observación y cultivo de las muestras.

### 3.1.- Observación microscópica:

El diagnóstico definitivo de las infecciones por hongos se basa en el aislamiento e identificación del hongo a partir de un cultivo, lo cual suele requerir varios días o semanas.. Para obtener de forma más rápida un diagnóstico se realiza una observación al microscopio.

Examen en fresco. Este examen es útil en muestras de piel y material ungüeal. Se deposita una pequeña cantidad de muestra sobre un porta objeto y se adicionan unas gotas de una solución de hidróxido potásico (KOH) al 10%. Se cubre con cubreobjetos y se observa al microscopio..

El KOH disuelve la queratina y facilita la visualización de las estructuras fúngicas (hifas y esporas).

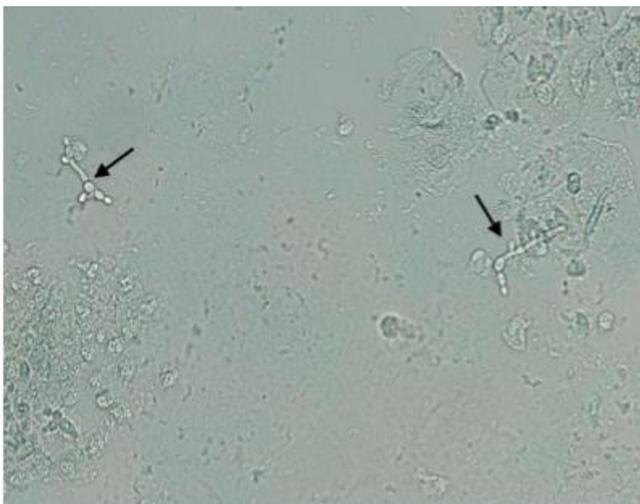


Fig.:: Exudado vaginal tratado con KOH.

### 3.2.- Cultivo de las muestras.

Las muestras obtenidas se siembran. El tiempo de incubación es mucho más largo que el que necesita las bacterias, hasta tres semanas.

En los medios de cultivo para el aislamiento de hongos, suelen incorporar agentes antimicrobianos para inhibir tanto el crecimiento bacteriano como el de otros hongos ambientales.

Los medios más utilizados:

*SDA con antimicrobianos*. Es un Agar dextrosa Sabouraud al que se añade antimicrobianos, generalmente cloranfenicol.

*BHIA (Agar infusión cerebro corazón)*. Este Agar está indicado para el aislamiento de una gran variedad de patógenos, incluyendo levaduras.

*Agar Trichophyton*. Para identificar *Trichophyton*.

*DTM*. Test para dermatofitos.

La incubación tiene una temperatura óptima de crecimiento de la mayoría de los hongos patógenos, los que infectan la piel, es de 30°C y algunos otros patógenos es de 37°C

### 3.3.- Tinciones.

Las tinciones que se utilizan dependen del tipo de muestra .

#### **a.- Muestras de tejidos.**

.- Giemsa. Las hifas se tiñen de púrpura. Es muy útil cuando se sospecha micosis cutáneas con exudado o pus.

.- PAS.

#### **b.- Muestras líquidas.**

Como el esputo o LCR, se pueden teñir con tinciones clásicas como las Gram o Giemsa.

Una tinción que permite detectar esporas y levaduras encapsuladas es la tinción de tinta china o nigrosina, útil para *Cryptococcus neoformans*



Fig: Cryptococcus neoformans rodeados de un halo claro, la capsula.

## 4. La identificación de levaduras.

### 4.1 Criterios morfológicos.

#### *a.- Observación macroscópica.*

En un cultivo de SDA, las colonias suelen ser planas o algo convexas, de consistencia cremosa, lisa o rugosa. Lo más habitual que sea blanquecinas.



Fig.: Levaduras en SDA y Rhodotorula rubra.

Algunas características pueden orientar a la identificación.

.- Se puede observar un micelio aéreo, típico del Trichosporon, o bien es de un hongo dismórficos.

.-Si las colonias tienen aspecto mucoso, quizás se deba a la formación de capsulas Cryptococcus neoformans.

.- Si las colonias tienen color rojo-anaranjado o naranja se tratará de levaduras ricas en carotinoides Rhodotorula.

### ***b.- Observación microscópica.***

Examen en fresco y tinción de Gram.

## **4.2. Identificación mediante criterios bioquímicos.**

La mayoría se basan en la identificación de enzimas características de algún género o especie.

Las dos levaduras que más se identifican son : Cándida y Cryptococcus.

## **A.-Identificación de la Cándida.**

**a.- La Cándida** es un género muy extendido de gran interés. Provoca diversos tipos de micosis cutaneomucosas bastante frecuentes y además es la responsable de muchas sistémicas, que pueden comprometer la vida de pacientes inmunodeprimidos..

**b.- Tinciones la más habitual es la de Gram**, con la que las levaduras suelen comportarse como Gram +.

### **c.- Prueba del tubo germinal o filamentación precoz.**

El tubo germinal es una extensión filamentosa de la levadura.

Solamente la candida albicans es capaz de producir tubos germinales.

Para estimular la formación de tubos germinales se puede aplicar el siguiente procedimiento básico.

.-1 En un tubo con 0,5 ml de suero humano o de conejo se incorpora una porción de colonia aislada y se mezcla bien.

.-2 Se incuba el tubo a 35°C durante dos horas.

.-3 Se deposita una gota sobre un portaobjetos, se tapa con un cubre y se observa al microscopio.

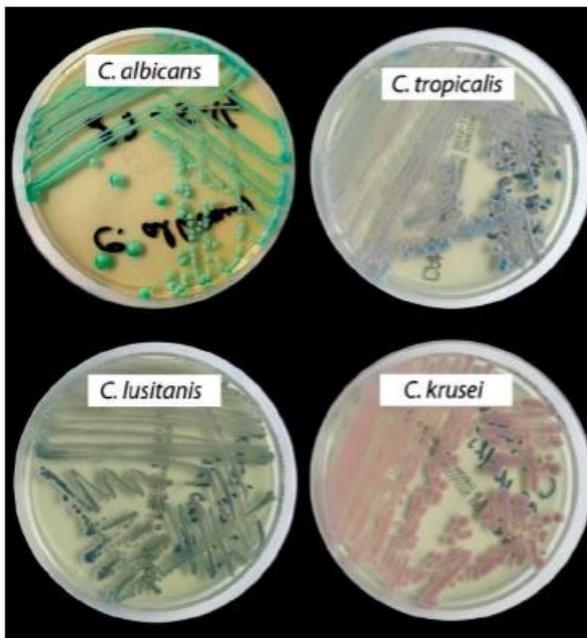
La prueba es positiva si se visualizan tubos germinales.

#### **d.- Medios cromogenicos.**

Un sustrato cromogénico y un indicador enzimático hacen que las levaduras sembrada en el medio forme colonias de un color u otro dependiendo de cuál sea su actividad enzimática.

Uno de los más conocidos es el medio CHROMagar Cándida, en el cual las colonias serán de color verde esmeralda.

Se utilizan también un componente en el medio que al ser hidrolizado por una enzima produce un metabolito fluorescente.



#### **e.- Sistemas de identificación rápidos.**

Uno de los más usados es la Bactocard cándida que proporciona en pocos minutos una identificación presuntiva de *Cándida albicans*.

El Kit consta de una tarjeta con dos círculos rotulados como Pro y Mugal son dos sustratos específicos de las enzimas L-prolina aminopeptidasa y beta galactosaminidasa.

Su uso es muy sencillo.

- 1.- Se toma una gota de fluido rehidratante en cada uno de los dos círculos.
- 2.- Se inocula una pequeña porción de colonia aislada en cada círculo.
- 3.- Se incuba a temp ambiente 5 min.

4.- Se añade una gota del revelador correspondiente en el círculo PRO. Se deja 30" y se observa el color.

**Color rojo positivo a la enzima PRO.**

**Sin cambio de color: negativo a la enzima PRO.**

5.- Se añade una gota del revelador correspondiente en el círculo Mugal y se observa el color del círculo en la oscuridad con una lámpara de ultravioleta.

**Color azul brillante fluorescente brillante: positivo a la enzima Mugal.**

**Sin fluorescencia: negativo en la enzima Mugal.**

Si el resultado de los test es positivo, el hongo presente es *Cándida Albicans*, es la única especie que presenta estas dos enzimas.

## B.-Identificación de *Cryptococcus Neoformans*.

Es un hongo que provoca infecciones pulmonares y meníngeas. Se trata de una levadura que tiene una gruesa capsula que se ve bien mediante tinción con tinta china al microscopio.

Para la confirmación utilizamos pruebas basadas en métodos enzimáticos.

Prueba Ureasa (+)

Prueba de nitrato reductasa o prueba de los nitratos (+).

El auxograma es una prueba que permite determinar la capacidad de una levadura para asimilar nutrientes, con diferentes carbohidratos.

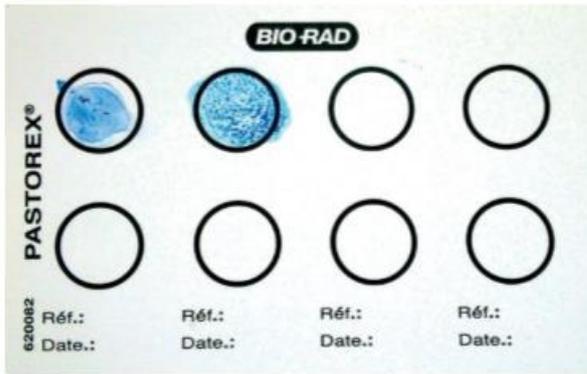
Sistema de identificación rápida API.

### 4.3 Identificación mediante criterios inmunológicos.

#### **a.- Aglutinación de partículas de látex.**

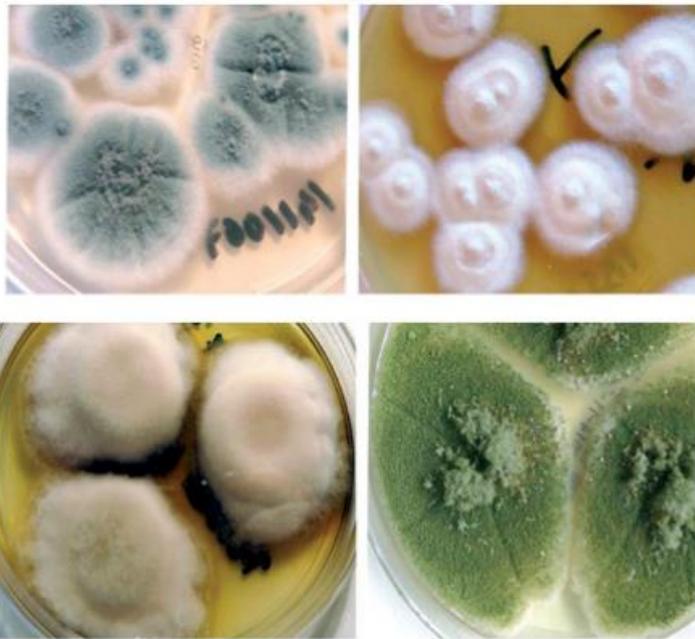
Consiste en mezclar sobre una superficie lisa una colonia sospechosa con unas gotas de una suspensión de partículas de látex recubiertas con un anticuerpo específico. Si el antígeno sospechoso está presente las partículas de latex aglutinan.

**b.- Técnica de Elisa** es útil detectar en el suero de los paciente el antígeno manano, un componente de la pared celular de la *Cándida*. Se realiza mediante la técnica Elisa con un anticuerpo específico antimanano.



#### 4.4 Identificación mediante espectrometría.

Comparando la huella peptídica del microorganismo con las huellas conocidas.



*Fig.: Especie de dematofitos crecidas en SDA.*